

УДК 615.2

Л. Б. Бондаренко, *д-р біол. наук, ст. н. с.*,
І. С. Блажчук, *канд. біол. наук, ст. н. с.*,
В. М. Коваленко, *д-р біол. наук, проф.*

ВПЛИВ МІЛДРОНАТУ ТА ТІАТРИАЗОЛІНУ НА ПЕЧІНКУ ЗА УМОВ ЕТАНОЛ-ІНДУКОВАНОГО ГЕПАТИТУ

*Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», Київ*

За останнє десятиріччя стрімко зростає попит на препарати, здатні підвищувати захисні сили організму в умовах стресу, високих фізичних і емоційних навантажень, забруднення навколишнього середовища та хронічного споживання токсичних сполук. Особливо популярним серед таких препаратів є мелдоніум — фармакологічний засіб метаболічної дії, здатний забезпечувати захист та енергозбереження різних клітин організму в умовах ішемії, стресу та підвищених навантажень [1–3]. Даний препарат широко застосовується спортсменами для відновлення після виснажливих тренувань, а також у складі комплексної терапії хворих на алкоголізм [1–3]. Однак вплив мелдоніуму на основні показники стану печінки суттєво різнився за різних умов експериментів [4–7], тому наразі актуальним є остаточне з'ясування ефекту його терапевтичних доз на основні показники стану печінки не тільки в нормі, але і на тлі введення алкоголю.

Метою даної роботи було вивчення впливу на печінку за умов етанол-індукованого гепатиту препарату Мілдронат (мелдоніум) у порівнянні з Тіотриазоліном (як з препаратом з відомою гепатопротекторною дією), а також визначення антидотної дії мелдоніуму за гострого отруєння етанолом.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження впливу на печінку проводили на білих щурах-самицях лінії Вістар масою тіла 150–250 г, а вплив на показники гострої токсичності етанолу — на білих безпородних мишах масою тіла 18–22 г, вивчених у віварії Інституту фармакології та токсикології НАМН України. Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні за умов вільного доступу до води. Плани досліджень були розглянуті та схвалені Комітетом з біоетики ДУ «ІФТ НАМН України», усіх процедур, пов'язаних з гуманним поводженням із тваринами

та їхнім використанням в експериментах, було дотримано. Тварин розподіляли на групи за методом рандомізації з попереднім карантинном протягом 10 діб. Дослідження впливу на печінку препарату Мілдронат (мелдоніум) виробництва АТ «Гріндекс» (Латвія) проводили у порівнянні з препаратом Тіотриазоліном виробництва АТ «Галичфарм» (Україна).

Вплив на печінку Мілдронату та Тіотриазоліну вивчали за умов експериментального алкогольного гепатиту, модель якого одержували шляхом внутрішньошлункового введення щурам протягом 7 діб 40 % розчину етанолу в дозі 7 мл/кг [8]. Тварини були розподілені за методом рандомізації на 4 групи: 1 — інтактні щури; 2 — контроль (алкогольний гепатит); 3 — алкогольний гепатит + 88,66 мг/кг Мілдронату; 4 — алкогольний гепатит + 53,14 мг/кг Тіотриазоліну. В експериментах вивчався вплив на показники стану печінки саме терапевтичних доз даних препаратів з урахуванням коефіцієнта видової стійкості [3; 8]. Наприкінці до-

сліді (через 24 год голодування) тварин зважували, потім під легким ефірним наркозом у них брали кров зі стегнової вени та знеживлювали їх методом цервікальної дислокації. У сироватці крові визначали вміст загального холестеролу, загального білірубину, білка й активність аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), лужної фосфатази за допомогою біотестів виробництва фірми “Lachema” (Чехія) і АТ «Реагент» (Україна). Видаляли печінку та зважували її. Проводили макроскопічне обстеження органа. Вираховували коефіцієнт маси печінки.

Для вивчення впливу Мілдронату на гостру токсичність етанолу модель була одержана шляхом одноразового внутрішньошлункового введення мишам 30 % розчину етанолу в дозах: перша та сьома групи — 5000 мг/кг, друга та восьма групи — 5900 мг/кг, третя та дев'ята групи — 6700 мг/кг, четверта та десята групи — 8200 мг/кг, п'ята та одинадцята групи — 9100 мг/кг, шоста та дванадцята групи — 104 000 мг/кг. Кожна група включала дві тварини. Мишам груп № 7–12 протягом 7 днів вводили Мілдронат щодня по 100 мг/кг. На восьмий день Мілдронат тваринам даних груп був уведений у дозі 200 мг/кг і через годину після цього — етанол у вищезгаданих дозах. Спостереження за тваринами проводилося протягом 14 діб.

Одержані експериментальні дані статистично обробляли, використовуючи t-критерій Стьюдента. Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично вірогідною при значенні $p < 0,05$. LD_{50} визначали за методом Прозоровського [9]. Розрахунки проводили за допомогою програми MS Excel.

Результати дослідження та їх обговорення

Порівняльне вивчення ефектів Мілдронату та референтного препарату Тіотриазолін виявило, що вони практично не відрізняються за своїм впливом на показники стану печінки. Було показано, що у сироватці крові щурів, у яких відтворювали експериментальний алкогольний гепатит (табл. 1), рівень активності лужної фосфатази (ЛФ) був вірогідно підвищений у порівнянні з інтактними тваринами. Введення досліджуваного препарату Мілдронат зберігало активність даного ферменту в сироватці крові на рівні інтактною групи тварин, переважаючи за цим показником референтний препарат Тіотриазолін. В експериментах із мелдоніумом тенденцію до пригнічення ним активності ЛФ відмічали й інші автори (при дозі 100 мг/кг на 4-му тижні повторних введеннь) [7]. У подальшому цей ефект мелдоніуму на 8-му тижні експерименту змінювався на протилежний.

Дослідження активності АСТ показало, що у тварин із експе-

риментальним алкогольним гепатитом рівень активності даного ферменту був вірогідно підвищений у порівнянні з інтактними тваринами (див. табл. 1). Введення досліджуваного та референтного препаратів певною мірою запобігало виникненню вказаних біохімічних порушень. При цьому статистично вірогідних відмінностей між обома фармакологічними засобами не виявлено. Наші результати стосовно впливу мелдоніуму на активність АСТ також цілком узгоджуються з даними інших дослідників [7], що виявили тенденцію до пригнічення ним активності цього ферменту за умов введення у дозі 100 мг/кг протягом 4 тиж. Однак, на відміну від ефекту на активність ЛФ, такий ефект мелдоніуму змінювався на протилежний не на 8-му, а на 12-му тижні експерименту. Інша група дослідників [6] не виявила вірогідного впливу мелдоніуму на активність АСТ, що, можливо, пояснюється надзвичайно великою варіабельністю вибірок у їхніх експериментах.

Установлено, що у сироватці крові щурів з експеримен-

Таблиця 1

Показники стану печінки щурів за умов експериментального алкогольного гепатиту та введення препаратів Мілдронат і Тіотриазолін, $M \pm m$, $n=6$

Показник	Експериментальна група			
	Інтактна	Контроль (гепатит)	Гепатит + Мілдронат	Гепатит + Тіотриазолін
Холестерол заг., ммоль/л	1,95±0,01	2,05±0,02*	1,920±0,008**	1,90±0,02**
Білірубін заг., мкмоль/л	5,25±0,27	5,48±0,29	5,32±0,26	5,03±0,64
Білок з аг., г/л	64,74±1,26	65,62±0,90	67,11±0,80	66,40±0,75
ЛФ, мккат/л	4,02±0,23	6,77±0,37*	3,97±0,22**	5,37±0,39*, **
АЛТ, од./л	26,10±1,88	29,98±1,33	30,46±1,09	28,72±2,96
АСТ, од./л	86,3±2,6	123,1±3,6*	104,8±5,2*, **	94,7±8,0
Коефіцієнт маси печінки	2,96±0,02	3,47±0,12*	3,27±0,09*	3,48±0,02*

Примітка. * — $p < 0,05$ по відношенню до групи інтактних тварин; ** — $p < 0,05$ по відношенню до групи негативного контролю (гепатит).

**Вплив препарату Мілдронат
на гостру токсичність етанолу у мишей**

Доза етанолу, мг/кг	Кількість загиблих тварин/кількість тварин у групі	
	Етанол	Етанол + Мілдронат
5000	0/2	0/2
5900	1/2	0/2
6700	1/2	0/2
8200	2/2	1/2
9100	2/2	1/2
10 400	2/2	2/2

тальним алкогольним гепатитом вміст загального холестеролу вірогідно підвищувався порівняно з інтактною групою (див. табл. 1). У тварин, яким вводили досліджувані препарати Мілдронат і Тіотриазолін, вміст холестеролу в сироватці крові залишався на рівні цього показника у щурів інтактної групи.

Слід зазначити, що статистично значущих відмінностей активності АЛТ, загального білка та білірубину в сироватці крові для всіх груп тварин не виявлено як у наших дослідах (див. табл. 1), так і у випробуваннях інших авторів [6; 7].

Результати макроскопічного огляду показали, що у групі негативного контролю печінки були звичайного розміру, капсули гладенькі, збляклі, на розрізі тканини неоднорідні, зернисті. У всіх тварин, які на тлі алкогольного гепатиту отримували Мілдронат, печінки були звичайного розміру, капсули гладенькі, блискучі, тканини еластичні, на розрізі колір був без змін. У тварин, які на тлі алкогольного гепатиту отримували Тіотриазолін, печінки були звичайного розміру, капсули гладенькі. У трьох із шести тварин цієї групи тканини печінки на розрізі були неоднорідні, зернисті. Визначення масових коефіцієнтів печінки показало (див. табл. 1), що за умов алкогольного гепатиту відбувається зростання масового коефіцієнта печінки у порівнянні з інтактними тваринами. Введення як Мілдронату, так і препарату порівняння, попри тенденцію до зниження, не забезпечувало вірогідного зниження масового коефіцієнта печінки у порівнянні з групою негативного контролю (алкогольний гепатит). Тенденцію до зростання масового коефіцієнта печінки, у по-

рівнянні з групою інтактного контролю, при введенні мелдоніуму відзначали й інші автори, але при значно вищих дозах — 550 мг/кг (повторні введення протягом 3 тиж.) [5].

Таким чином, у результаті проведених досліджень показано, що внутрішньошлункове введення препарату Мілдронат нормалізує рівень активності ЛФ та вміст холестеролу, запобігає зростанню рівня активності АСТ у сироватці крові щурів за умов експериментального алкогольного гепатиту. Це свідчить про наявність у даного препарату певної гепатопротекторної дії за умов нетривалого введення (1 тиж.) у терапевтичній дозі. За здатністю знижувати концентрацію холестеролу, АСТ і ЛФ у сироватці крові Мілдронат не поступається препарату порівняння — Тіотриазоліну.

Результати визначення впливу препарату Мілдронат на гостру отруєння етанолом за умов його внутрішньошлункового введення мишам наведені у табл. 2. За результатами аналізу одержаних даних методом В. Б. Прозоровського [9] були визначені величини LD_{50} для етанолу в присутності та без Мілдронату. Ці значення відповідно становили: для самого етанолу 6500 (5700÷7400) мг/кг,

а для етанолу на тлі препарату Мілдронат даний параметр зріс до 9200 (8100÷9800) мг/кг. Таким чином, мелдоніум здатний суттєво впливати на реалізацію гострої токсичності етанолу. При цьому захисний індекс мелдоніуму у даному випадку дорівнює:

$$\frac{LD_{50}(\text{етанол} + \text{мелдоніум})}{LD_{50} \text{ етанолу}} = \frac{9200}{6500} = 1,42$$

Висновки

У результаті проведених досліджень з використанням моделі алкогольного гепатиту щурів показано, що мелдоніум у терапевтичній дозі виявив гепатопротекторну активність, за якою не поступається препарату порівняння — Тіотриазоліну.

Мелдоніум виявив антидотну ефективність за умов гострого отруєння етанолом. Його захисний індекс становить 1,42.

Ключові слова: мелдоніум, етанол, алкогольний гепатит.

ЛІТЕРАТУРА

1. Trimetazidine: is it a promising drug for use in steatotic grafts? / I. Ben Mosbah et al. *World J Gastroenterol*. 2006. Vol. 12, № 6. P. 908–914.
2. The effect of trimetazidine on liver regeneration after partial hepatectomy under hepatic blood inflow occlusion / Y. Kaya et al. *Hepatogastroenterology*. 2003. Vol. 50, № 51. P. 651–655.
3. Изучение безвредности лекарственных форм милдроната / И. О.

Петерсоне и др. *Экспериментальная и клиническая фармакотерапия*. Рига: Зинатне, 1990. Вып. 19. С. 63–66.

4. Muscle carnitine availability plays a central role in regulating fuel metabolism in the rodent / C. Porter et al. *J Physiol*. 2017. Vol. 595, № 17. P. 5765–5780.

5. A fatty acid analogue targeting mitochondria exerts a plasma triacylglycerol lowering effect in rats with impaired carnitine biosynthesis / C. Lindquist et al. *PLoS ONE*. 2018. Vol. 13,

№ 3. P. e0194978. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194978>.

6. Effects of ischemia-reperfusion and pretreatment with mildronate on rat liver mitochondrial function / S. Trumbekaitė et al. *Pharmacological Reports*. 2009. Vol. 61. P. 859–869.

7. Effects of Long-Term Mildronate Treatment on Cardiac and Liver Functions in Rats / E. Liepinsh et al. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2009. Vol. 105, № 6. P. 387–394.

8. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації)

/ за ред. член-кор. АМН України О. В. Стефанова. Київ: Авіценна, 2001. С. 344.

9. Прозоровский В. Б. Табличный метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты. *Токс. вестник*. 1998. № 1. С. 28–32.

Надійшла до редакції 04.03.2019

Рецензент д-р мед. наук,
проф. П. Б. Антоненко,
дата рецензії 19.03.2019

УДК 615.2

Л. Б. Бондаренко, І. С. Блажчук, В. М. Коваленко

ВПЛИВ МІЛДРОНАТУ ТА ТІАТРИАЗОЛІНУ НА ПЕЧІНКУ ЗА УМОВ ЕТАНОЛ-ІНДУКОВАНОГО ГЕПАТИТУ

Метою даної роботи було вивчення впливу на печінку за умов етанол-індукованого гепатиту препарату Мілдронат (мелдоніум) у порівнянні з Тіотриазоліном (як референтним гепатопротектором), а також визначення антидотної дії мелдоніуму за гострого отруєння етанолом.

Установлено, що мелдоніум у терапевтичних дозах за гепатопротекторною активністю не поступається препарату порівняння — Тіотриазоліну. Захисний індекс мелдоніуму за умов гострого отруєння етанолом становить 1,42.

Ключові слова: мелдоніум, етанол, алкогольний гепатит.

UDC 615.2

L. B. Bondarenko, I. S. Blazhchuk, V. M. Kovalenko

INFLUENCE OF MILDRONATE AND TIATRIAZOLIN ON THE LIVER WITH ETHANOL-INDUCED HEPATITIS

The aim of this work was to compare Mildronate (meldonium) and Thiotriazolinum (as reference hepatoprotector) effects on the liver with alcohol hepatitis model, as well as the meldonium antidotal action determination for acute ethanol toxicity.

It was established that meldonium in therapeutic doses did not differ from reference preparation thiotriazolinum as for hepatoprotective activity. The protective index of meldonium for acute ethanol toxicity was 1.42.

Key words: meldonium, ethanol, alcohol hepatitis.

УДК 616-092-616.6-616-006

Р. В. Савчук, канд. мед. наук, доц.

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН АКТИВНОСТІ АЦЕТИЛХОЛІНЕСТЕРАЗИ В АРТИФІЦІЙНОМУ СЕЧОВОМУ МІХУРІ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Одеський національний медичний університет

Виникнення нових технологій, анестезіологічної допомоги спричинило бурхливий розвиток реконструктивно-відновної хірургії в урології [1; 2]. Формування артіфіційного сечового міхура з ділянки клубової кишки визнано найефективнішим методом деривації сечі при лікуванні інвазивного раку сечового міхура [3]. Ерекільна дисфункція та нетримання сечі —

основні ускладнення, з якими зіштовхується пацієнт у пізньому післяопераційному періоді після ентероцистопластики [4–6].

Нервова регуляція порушена через втрату механізмів рефлекторного відкриття шийки сечового міхура, адекватного рефлекторного розслаблення сфінктера при сечовипусканні. Це створює відносну інфравезикальну обструкцію, виникає дисбаланс, що, у свою чергу, спричинює порушення сечовипускан-

ня і нагромадження залишкової сечі [7].

Формування неоциста з *ileum* для виконання нехарактерних функцій і прагнення поліпшити скоротливі властивості необладера змусило нас провести вивчення активності ацетилхолінестерази (АХЕ) в стінці артіфіційного сечового міхура.

Ацетилхолінестераза (ацетилхолін-ацетилгідролаза, АХЕ, К.Ф. 3,1,1,7) — фермент, який відіграє ключову роль при пе-