

## МЕХАНІЗМ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ МЕТІОНІНУ ТА КОМПОЗИЦІЇ «МЕТОВІТАН» НА ТЛІ ВВЕДЕННЯ ЩУРАМ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНИХ ЗАСОБІВ

С. І. АНІСІМОВА<sup>1</sup>, Г. В. ДОНЧЕНКО<sup>2</sup>, Ю. М. ПАРХОМЕНКО<sup>2</sup>, В. М. КОВАЛЕНКО<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ;

<sup>2</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: kovalenko\_toxy@yahoo.com

Пероральне введення щурам протитуберкульозних засобів (ПТЗ) протягом 60 днів в дозах, еквівалентних клінічним, призводить до змін рівня експресії мРНК ізоформ цитохрому P-450 CYP3A2, CYP2C23, CYP2E1 в печінці, а також про- та антиоксидантного статусу. Застосування експериментальної композиції «Метовітан» на тлі введення ПТЗ сприяє корекції зазначених порушень, про що свідчить модуляція рівня експресії генів CYP3A2, CYP2C23, CYP2E1 та антиоксидантної активності, інгібування пероксидного окислення ліпідів. «Метовітан» нормалізує активність ензимів та вміст загального білірубину в сироватці крові, виявляє високі гепатопротекторні властивості, за якими переважає ефективність метіоніну.

**Ключові слова:** гепатотоксичність, цитохром P-450, CYP3A2, CYP2C23, CYP2E1, протитуберкульозні засоби, метіонін, «Метовітан».

Туберкульоз залишається актуальною соціальною проблемою не тільки в Україні, а й у світі [1]. Сучасна фармакотерапія цього захворювання передбачає одночасне застосування ПТЗ першого ряду, до якого належать ізоніазид, рифампіцин, піразинамід та етамбутол [2]. Попри ефективність лікування зазначеними препаратами супроводжується низкою побічних ефектів, серед яких найпоширенішим є гепатотоксичність [3], оскільки саме в печінці відбувається метаболізм більшості ксенобіотиків, включаючи ПТЗ, із залученням ензимів цитохрому P-450 [4, 5].

У реалізації гепатотоксичної дії ПТЗ можуть проявляти як індукуючу, так і інгібувальну дію стосовно експресії генів цитохромів, важливих, з огляду на участь в біотрансформації, лікарських засобів: CYP3A4, CYP3A5, CYP2C9, CYP2C19, CYP2E1 [6]. Це може стати причиною порушення метаболізму ліків, а отже їх печінкового кліренсу та ризику зниження ефективності, збільшення проявів побічної дії та токсичності. До того ж, може відбуватись активація вільнорадикальних процесів у печінці та утворення гепатотоксичних метаболітів, що призводить до структурно-функціональних ушкоджень печінки та порушень метаболізму в організмі.

Тому наразі перспективним є створення та застосування комплексних гепатопротекторних засобів, що містять біологічно активні речовини, здатні коригувати процеси метаболізму в печінці на тлі застосування ПТЗ.

Метою роботи було вивчити в дослідах на щурах вплив препаратів метаболічної дії: метіоніну та експериментальної композиції «Метовітан» на експресію генів CYP3A2 (ортолог CYP3A4 та CYP3A5), CYP2C23 (ортолог CYP2C9 та CYP2C19), CYP2E1 та деякі біохімічні показники стану печінки за введення ПТЗ першого ряду — етамбутолу, рифампіцину, піразинаміду та ізоніазиду.

Методом роботи було вивчити в дослідах на щурах вплив препаратів метаболічної дії: метіоніну та експериментальної композиції «Метовітан» на експресію генів CYP3A2 (ортолог CYP3A4 та CYP3A5), CYP2C23 (ортолог CYP2C9 та CYP2C19), CYP2E1 та деякі біохімічні показники стану печінки за введення ПТЗ першого ряду — етамбутолу, рифампіцину, піразинаміду та ізоніазиду.

### Матеріали і методи

Експериментальний зразок композиції «Метовітан» розроблений та наданий Інститутом біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України. До його складу входять: метіонін, вітаміни B<sub>1</sub>, B<sub>3</sub>, E та сіль цинку. Метіонін виробництва ПАТ «Київський вітамінний завод» (Україна), серія 50511. Етамбутол, піразинамід, ізоніазид та рифампіцин у вигляді активних фармацевтичних інгредієнтів було отримано від ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» (Україна).

У дослідах використані самці щурів (*Rattus norvegicus*) лінії Вістар з масою тіла 150–170 г. Тварин було розподілено на чотири групи: перша (контроль) — внутрішньошлункове введення 1%-го крохмального гелю з роз-

рахунку 5 мл/кг протягом 60 днів; друга – внутрішньошлункове введення ізоніазиду, рифампіцину, піразинаміду, етамбутолу протягом 60 днів; третя – аналогічна другій, але додатково курсами протягом четвертого та восьмого тижнів експерименту внутрішньошлунково вводили метіонін у дозі 50 мг/кг; четверта – аналогічна третій, але замість метіоніну внутрішньошлунково вводили «Метовітан» у дозі 50 мг/кг. ПТЗ вводили щурам у дозах, що застосовуються у клініці для короткотермінової комбінованої терапії туберкульозу з урахуванням коефіцієнта видової чутливості: етамбутол – 155 мг/кг, рифампіцин – 74,4 мг/кг, ізоніазид – 62 мг/кг, піразинамід – 217 мг/кг [7, 8].

Через 24 год після останнього введення досліджуваних речовин тварин знеживлювали методом цервікальної дислокації під легким ефірним наркозом.

У сироватці крові досліджували активність аланінамінотрансферази (АлАТ), лужної фосфатази (ЛФ), а також вміст загального білірубину на біохімічному аналізаторі Prestige 24i (Японія), використовуючи біотести виробництва фірми P. Z. Cormay (Польща).

Експресію мРНК СУР3А2, СУР2С23, СУР2Е1 у печінці визначали методом зворотнотранскриптно-полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням специфічних праймерів, як це було описано раніше [9]. Ампліфікацію проводили на термоциклері MyCycler виробництва Bio-Rad (США). Електрофорез нуклеїнових кислот проводили в 2%-му агарозному гелі та фарбували розчином бромового етидію, візуалізували в УФ-світлі, фотографували за допомогою системи Gel Doc виробництва Bio-Rad (США) та аналізували в системі Quantity One Bio-Rad System (США).

Печінку відмивали через ворітну вену охолодженим 0,15 М розчином КСІ та виділяли постмітохондріальну та мікосомну фракції згідно з методом S. A. Kamath [10]. Усі процедури виконували з дотриманням холодого режиму (4 °С).

У мікосомній фракції печінки визначали *n*-нітрофенолгідроксилазну активність, як це було описано раніше [9], а також вміст цитохромів *P*-450 та *b*<sub>5</sub> [11]. У постмітохондріальній фракції печінки досліджували глутатіон-S-трансферазну та глутатіонредуктазну активність [12]. Вміст відновленого глутатіону у гомогенаті печінки визначали за методом J. Sedlak та R. Lindsay [13]. Швидкість NADPH-залежного утворення продуктів реакції з тіобарбітуровою кис-

лотою вивчали за методом І. Д. Стальної та Т. Г. Гаришвілі [14]. Активність каталази в гомогенаті печінки встановлювали за методом М.А. Королюк та співавт. [15], а супероксиддисмутази в гомогенаті печінки – за методом Н. Р. Misra та І. Fridovich у модифікації Т. В. Сироти [16]. Вміст протеїну в печінці та її субклітинних фракціях визначали методом О. Н. Lowry та співавт. [17].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента. Дані представляли як середнє арифметичне значення та похибку середнього арифметичного ( $M \pm m$ ). Різницю між досліджуваними показниками вважали статистично вірогідною за значення  $P \leq 0,05$ .

### Результати та обговорення

Для діагностики та оцінки пошкоджень печінки важливе значення має дослідження таких біохімічних показників сироватки крові, як АлАТ, ЛФ та загальний білірубін. Нами встановлено, що за введення ПТЗ у 7 разів збільшується вміст загального білірубину та у 1,8 раза активність ЛФ у сироватці крові порівняно з аналогічними показниками в щурів контрольної групи (табл. 1), що може свідчити про ураження печінки за типом холестази. При цьому активність АлАТ в сироватці крові зростає на 30% порівняно з контролем, що вказує на певний цитоліз клітин паренхіми печінки за дії ПТЗ.

Застосування композиції «Метовітан» курсом знижує вміст загального білірубину та активність ЛФ відповідно у 1,8 та 1,4 раза порівняно з аналогічними показниками у тварин, яким вводили лише ПТЗ. За цих умов активність АлАТ знижується до рівня контролю.

Введення метіоніну знижує вміст загального білірубину, але відносно коригуючої дії на активність АлАТ та ЛФ цей препарат виявився неефективним.

Результати дослідження експресії мРНК СУР3А2, СУР2С23 та СУР2Е1 на тлі введення ПТЗ та впливу на цей показник метіоніну та композиції «Метовітан» наведено на рис. 1 та 2.

Введення щурам ПТЗ призводить до збільшення експресії мРНК СУР3А2 в 1,5 раза, ймовірно, внаслідок індукції рифампіцином [4] та етамбутолом [9]. Одночасно зареєстровано зниження експресії мРНК СУР2С23 в печінці щурів у 2,2 раза, напевно, як результат інгібувальної дії ізоніазиду [5]. Слід відзначити, що інгібування ізоформ цитохрому *P*-450 може бути причиною зни-

Таблиця 1. Вплив метіоніну та композиції «Метовітан» на біохімічні показники сироватки крові самців щурів за введення їм ПТЗ ( $M \pm m, n \geq 6$ )

Показник	Експериментальні групи			
	Контроль (крохмальний гель)	ПТЗ	ПТЗ + метіонін	ПТЗ + «Метовітан»
Загальний білірубін, мг/дл	1,74 ± 0,15	12,39 ± 1,61*	6,58 ± 1,08* <sup>#</sup>	6,94 ± 0,72* <sup>#</sup>
ЛФ, ум. од./л	139,88 ± 6,88	245,19 ± 15,09*	226,4 ± 7,93*	171,86 ± 9,54* <sup>#</sup>
АлАТ, ум. од./л	46,00 ± 2,08	58,77 ± 2,99*	55,43 ± 5,47	45,25 ± 1,58 <sup>#</sup>

Примітка: тут і в табл. 2–4: \*зміни достовірні порівняно з контролем; <sup>#</sup>зміни достовірні порівняно з групою тварин, яким вводили ПТЗ; ЛФ – лужна фосфатаза; АлАТ – аланінамінотрансфераза

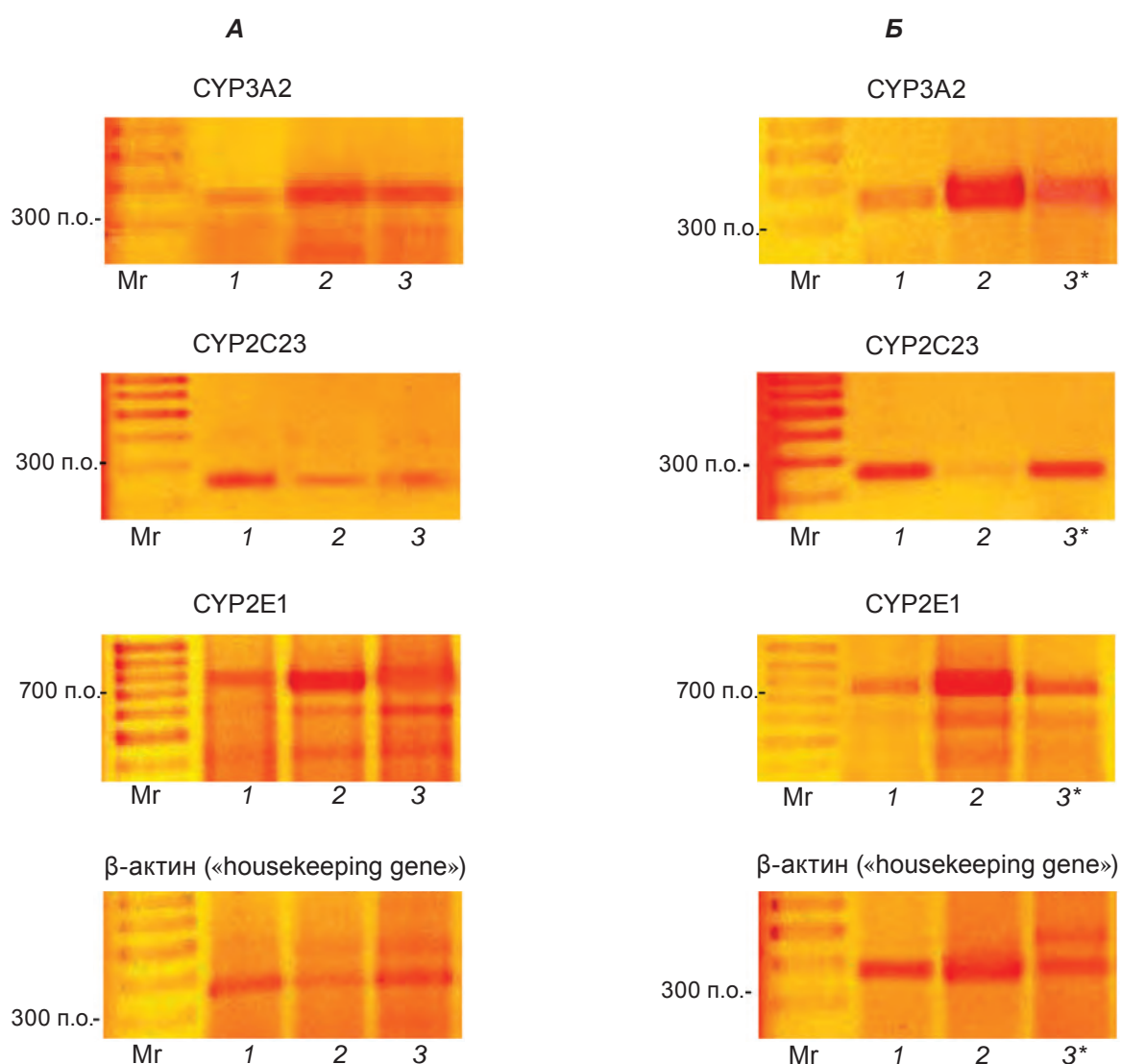


Рис. 1. Електрофореграми продуктів ПЛР генів CYP3A2, CYP2C23 та CYP2E1 у печінці щурів, яким на тлі експозиції ПТЗ вводили метіонін (А) або композицію «Метовітан» (Б). Примітка: Mr – маркер; 1 – контроль; 2 – ПТЗ; 3 – ПТЗ + метіонін; 3\* – ПТЗ + «Метовітан»

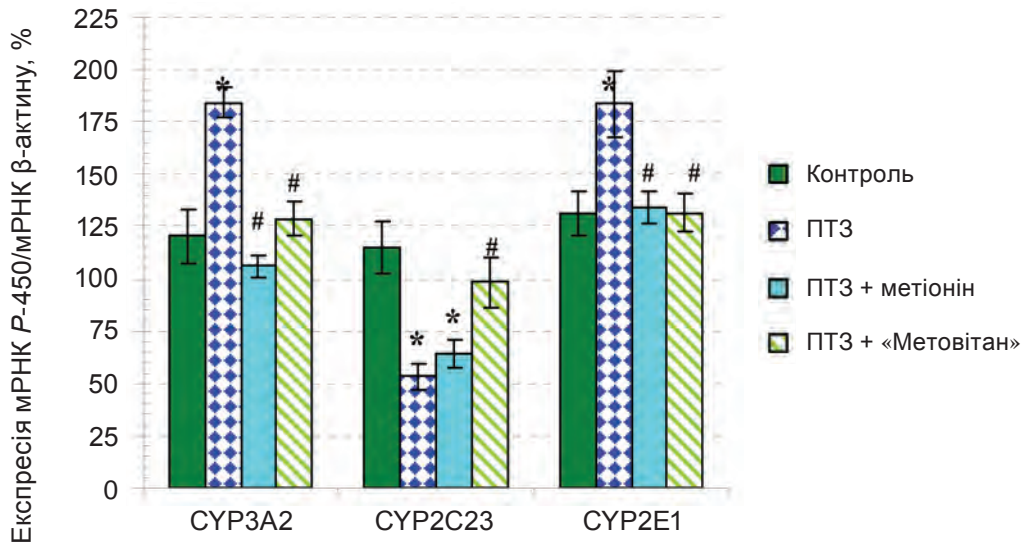


Рис. 2. Експресія мРНК ізоформ P-450: CYP3A2, CYP2C23 та CYP2E1 (за даними кількісної ПЛР) у печінці щурів, яким на тлі експозиції ПТЗ вводили метіонін або композицію «Метовітан». Показник розраховано як відношення інтенсивності забарвлення смуги на електрофореграмі для певної ізоформи P-450 до забарвлення смуги для β-актину, яку в кожній групі прийнято за 100%, n = 6

ження швидкості метаболізму та печінкового кліренсу введеного препарату, що призводить до збільшення його концентрації в крові, а, отже, виникнення побічних проявів та токсичної дії [18]. До того ж, порушення експресії генів ізоформ цитохрому, які кількісно становлять майже 50% цитохромів P-450 [6] та відповідають за біотрансформацію більшості лікарських засобів, є надзвичайно важливим з огляду на ризик взаємодії ліків, що також метаболізуються за участю цих ізоформ і використовуються для лікування супутніх із туберкульозом хвороб. Застосування як «Метовітану», так і метіоніну сприяло зниженню експресії мРНК CYP3A2, в той час як лише «Метовітан» виявляє вплив на експресію мРНК ізоформи CYP2C23 та підвищення її до рівня, аналогічного в тварин контрольної групи.

Важливо зазначити, що ПТЗ, введені щурам протягом двох місяців, призвели до збільшення рівня експресії мРНК CYP2E1 в печінці та активності залежної від CYP2E1 *n*-нітрофенолгідроксилази в мікросомах (табл. 2) відповідно в 1,4 та 4 рази. Відомо, що до індукторів і одночасно субстратів цієї ізоформи цитохрому P-450 належить ізоніазид, активація біотрансформації якого призводить до накопичення токсичних метаболітів, ацетилгідразину та гідразину [19], збільшуючи ризик токсичних реакцій. До того ж, рифампіцин спільно з ізоніазидом

та його метаболітами посилюють цитотоксичну дію стосовно гепатоцитів [20]. Є дані, що ізоніазид та гідразин індукують токсичність рифампіцину та піразинаміду [21]. Індукція CYP2E1 призводить не лише до накопичення токсичних метаболітів, але розглядається як основний ензим, що каталізує пероксидне окислення ендогенних ліпідів, і в цьому є унікальним серед протеїнів цитохрому P-450 [22]. За введення як композиції «Метовітан», так і метіоніну зареєстровано зниження рівня експресії мРНК CYP2E1 до аналогічного показника у тварин контрольної групи та активності цього ензиму приблизно у 2 рази порівняно зі щурами, які отримували лише ПТЗ. Таким чином, обидва метаболічні засоби виявили коригуючу дію по відношенню до експресії мРНК CYP2E1 на тлі введення ПТЗ. Вплив препаратів на основі метіоніну на експресію зазначених ізоформ цитохрому P-450 може бути зумовлений процесами метилування ДНК, як важливої детермінанти в контролюванні експресії генів завдяки ефекту сайленсингу [23, 24].

Введення ПТЗ призводить до підвищення загального вмісту цитохрому P-450 у 1,3 рази порівняно з його вмістом у тварин контрольної групи (табл. 2), очевидно за рахунок експресії мРНК CYP3A2 та CYP2E1, як це показано вище. Активація метаболізму ксенобіотиків за індукції цитохрому P-450, окрім основної детоксикаційної функції, під впливом таких



Таблиця 2. Вміст цитохромів та активність *p*-нітрофенолгідроксилази в мікросомній фракції печінки щурів, яким на тлі експозиції ПТЗ вводили метіонін або композицію «Метовітан» ( $M \pm m$ ,  $n \geq 6$ )

Експериментальні групи	Показники		
	Активність <i>p</i> -нітрофенолгідроксилази, нмоль 4-нітрокатехолу/хв·мг протеїну	Вміст цитохрому <i>P</i> -450, нмоль/мг протеїну	Вміст цитохрому $b_5$ , нмоль/мг протеїну
Контроль (крохмальний гель)	0,25 ± 0,01	0,63 ± 0,02	0,59 ± 0,02
ПТЗ	1,02 ± 0,07*	0,84 ± 0,04*	0,68 ± 0,02*
ПТЗ+ метіонін	0,53 ± 0,08* <sup>#</sup>	0,96 ± 0,04*	0,62 ± 0,04
ПТЗ+ «Метовітан»	0,45 ± 0,02* <sup>#</sup>	0,77 ± 0,06	0,54 ± 0,04 <sup>#</sup>

ізоформ, як CYP2E1 може призводити до накопичення реактивних метаболітів, здатних утворювати ковалентні зв'язки з макромолекулами гепатоцитів. Внаслідок розвивається некроз печінки та порушуються її функціональні властивості. До того ж слід зазначити, що монооксигенази цитохрому *P*-450 каталізують окислення не лише ксенобіотиків, в т.ч. лікарські засоби, але й низку важливих, з огляду на процеси метаболізму, в організмі ендogenous сполук: стероїдів [25], холестеролу, білірубину, жирних кислот [26, 27], брадикініну [28] та деяких вітамінів [29]. Тому, будь-які відхилення вмісту цитохрому *P*-450 від норми вказують на порушення метаболічних процесів в печінці. На відміну від метіоніну використання за цих умов експерименту композиції «Метовітан» на тлі зниження експресії мРНК CYP3A2 та CYP2E1 сприяє зменшенню вмісту загального цитохрому *P*-450 до його рівня в печінці контрольних тварин та виявляють тенденцію до

нормалізації його вмісту в щурів, яким вводили лише ПТЗ.

Оскільки цитохром  $b_5$  відіграє важливу роль у метаболізмі ендogenous та екзогенних сполук за участю ензимів цитохрому *P*-450, нами було досліджено вміст цього гемопротеїну в мікросомній фракції печінки щурів (табл. 2). ПТЗ спричинювали збільшення вмісту цитохрому  $b_5$  на 15% порівняно з контролем. Згідно з даними літератури, 65% CYP3A4 може взаємодіяти з цитохромом  $b_5$ , що призводить до конформаційних змін і, як наслідок, до перерозподілу пулу CYP3A4 [30]. Також цитохром  $b_5$  досить тісно пов'язаний зі стимуляцією активності CYP2E1 [31–33]. Це узгоджується з нашими даними щодо збільшення рівня експресії CYP3A4 та CYP2E1 за введення комбінації ПТЗ (рис. 1, 2). Застосування композиції «Метовітан» сприяє зменшенню вмісту цитохрому  $b_5$  в печінці щурів на 20% порівняно з нелікованими тваринами, тоді як

Таблиця 3. Вміст відновленого глутатіону та активність глутатіонзалежних ензимів у печінці щурів, яким на тлі експозиції ПТЗ вводили метіонін або композицію «Метовітан» ( $M \pm m$ ,  $n \geq 6$ )

Експериментальні групи	Показники		
	Активність глутатіон-редуктази, нмоль NADPH/хв·мг протеїну	Активність глутатіон-S-трансферази, нмоль 1-хлор-2,4-динітробензолу/хв·мг протеїну	Вміст відновленого глутатіону, мкмоль/г тканини
Контроль (крохмальний гель)	90,58 ± 2,76	1,49 ± 0,06	1,76 ± 0,21
ПТЗ	115,08 ± 3,86*	1,81 ± 0,09*	2,29 ± 0,14*
ПТЗ+ метіонін	123,46 ± 1,50*	1,96 ± 0,12*	2,90 ± 0,31*
ПТЗ+ «Метовітан»	100,00 ± 7,92	1,40 ± 0,08 <sup>#</sup>	3,85 ± 0,13* <sup>#</sup>

метіонін не виявляє істотного впливу на цей показник. Можна припустити, що інгредієнт(и) «Метовітану» здатні знижувати експресію мРНК цитохрому  $b_5$  за іншими механізмами, що потребує подальших досліджень.

Відомо, що в процесі біотрансформації лікарських засобів за участю цитохрому *P*-450 утворюються проміжні активні метаболіти, здатні хімічно модифікувати макромолекули та стимулювати пероксидне окислення ліпідів [34]. Серед протеїнів цитохрому *P*-450 CYP2E1 вважається основним ферментом, що індукує пероксидне окислення ендогенних ліпідів, оскільки експресія CYP2E1 за дії ксенобіотиків супроводжується активацією вільнорадикальних процесів [35]. Попри необхідність ліпопереокислення для нормального функціонування біохімічних і фізіологічних систем, а вільнорадикальні процеси низької інтенсивності є одним із типів нормальних метаболічних станів, таких, як синтез деяких гормонів, медіаторів, нуклеїнових кислот, іонний транспорт, окислювальне фосфорилування, ліполітична активність та ін. [36], підвищення інтенсивності ліпопероксидації робить її універсальним механізмом пошкодження клітинних мембран [37]. Нами встановлено, що введення щурам комбінації ПТЗ призводить до зростання в мікросомній фракції печінки швидкості NADPH-залежного утворення продуктів взаємодії з тіобарбітуровою кислотою у 1,6 рази порівняно з контролем (табл. 3). Це узгоджується з даними відносно індукції експресії ізоформ цитохрому *P*-450 та свідчить про опосередковану цитохромом *P*-450 продукцію реактивних форм кисню і активацію процесів ліпопереокислення. В групах, де тварини одержували одночас-

но з ПТЗ «Метовітан» або метіонін, цей показник залишається практично на рівні контролю, ймовірно, внаслідок наявності в складі цих метаболічних засобів інгредієнтів антиоксидантної дії [38, 39].

Для нейтралізації надлишкової ліпопероксидації і підтримки стаціонарної внутрішньоклітинної концентрації вільних радикалів і ліпопероксидів в організмі існує антиоксидантна система. Нами показано, що за умов введення ПТЗ, що супроводжується індукцією CYP2E1, активність СОД і каталази в печінці щурів збільшується відповідно у 1,2 та 1,4 рази порівняно з контролем (табл. 3). Також спостерігається підвищення вмісту відновленого глутатіону в 1,3 рази та зростання активності глутатіонредуктази і глутатіон-S-трансферази відповідно на 30 та 20% порівняно з контролем (табл. 4). Одержані результати узгоджуються з даними літератури, згідно з якими збільшення експресії CYP2E1 в клітинах HepG2 [40] та E47 [41] супроводжується зростанням швидкості синтезу та рівня відновленого глутатіону, мРНК  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетази, індукцією експресії каталази та глутатіонтрансферази. Це, на думку авторів, сприяє резистентності клітин до прооксидантів та свідчить про адаптивну відповідь клітин на оксидативний стрес в умовах індукції CYP2E1. До того ж встановлено, що антиоксиданти здатні блокувати транскрипційну активацію гену  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетази [42, 43], що призводить до зниження швидкості утворення глутатіону та залежних від нього ферментів. За виключенням вмісту відновленого глутатіону, який зростає в печінці щурів у разі застосування «Метовітану» під впливом метіоніну

Таблиця 4. Показники, що характеризують стан про- та антиоксидантної системи печінки щурів, яким на тлі експозиції ПТЗ вводили метіонін або композицію «Метовітан» ( $M \pm m$ ,  $n \geq 6$ )

Експериментальні групи	Показники		
	Швидкість NADPH-залежного утворення ТБК-реактивних в мікросомах печінки, нмоль МДА/хв·мг протеїну	Активність СОД в печінці, ум. од./мг протеїну	Активність каталази в печінці, нмоль пероксиду водню/хв·мг протеїну
Контроль (крохмальний гель)	0,164 ± 0,011	84,84 ± 5,57	482,8 ± 50,6
ПТЗ	0,263 ± 0,028*	105,85 ± 3,25*	660,58 ± 34,84*
ПТЗ+ метіонін	0,168 ± 0,003#	70,70 ± 11,06#	785,3 ± 83,3*
ПТЗ+ «Метовітан»	0,155 ± 0,009#	85,01 ± 6,98#	554,98 ± 36,70#

як донора сульфгідрильних груп під час біосинтезу глутатіону, одержані нами дані цілком узгоджуються з літературними щодо здатності досліджуваної композиції, що містить антиоксиданти і виявляє інгібувальні властивості щодо СYP2E1, нормалізувати про- та антиоксидантний статус, в т.ч. активність глутатіонредуктази та глутатіонтрансферази (табл. 3, 4). Відсутність впливу метіоніну на активність глутатіонзалежних ензимів та каталази, мабуть, можна віднести на рахунок недостатніх антиоксидантних властивостей його порівняно з «Метовітаном», що містить вітаміни В<sub>1</sub>, Е та цинк. Останній виявляє непряму антиоксидантну дію завдяки індукції металотіонеїну, здатного попереджати ушкодження печінки внаслідок дії сполук, що метаболізуються за участю СYP2E1 до реактивних інтермедіатів та зумовлюють оксидативний стрес [44].

Отже, композиція «Метовітан» в умовах застосування у щурів курсом на тлі двомісячного перорального введення ПТЗ здатна модулювати експресію ізоформ мРНК СYP3A2, СYP2C23 та, що особливо важливо, СYP2E1, оскільки індукція його експресії та активності зв'язаної з ним *p*-нітрофенолгідроксилази, як правило, супроводжується накопиченням токсичних метаболітів та активацією вільнорадикальних процесів, що призводить до ушкодження печінки та порушення її функцій. «Метовітан» справляє коригуючий вплив на про- та антиоксидантний статус у печінці, нормалізуючи параметри печінкових проб (вміст білірубину, активність ЛФ та АлАТ сироватки крові), що свідчить про високі гепатопротекторні властивості, за якими досліджувана композиція перевищує ефективність препарату порівняння – метіоніну.

## МЕХАНІЗМ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕТИОНИНА И КОМПОЗИЦИИ «МЕТОВИТАН» НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ КРЫСАМ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ СРЕДСТВ

С. И. Анисимова<sup>1</sup>, Г. В. Донченко<sup>2</sup>,  
Ю. М. Пархоменко<sup>2</sup>, В. Н. Коваленко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Институт фармакологии и токсикологии  
НАМН Украины», Киев;

<sup>2</sup>Институт биохимии им. А. В. Палладина  
НАН Украины, Киев;  
e-mail: kovalenko\_toxy@yahoo.com

Пероральное введение крысам противотуберкулезных средств (ПТС) в течение 60 дней в дозах, эквивалентных клиническим, приводит к изменению уровня экспрессии мРНК изоформ цитохрома *P*-450 СYP3A2, СYP2C23, СYP2E1 в печени крыс, а также про- и антиоксидантного их статуса. Применение экспериментальной композиции «Метовитан» на фоне введения ПТС способствует коррекции указанных нарушений, о чем свидетельствует модуляция уровня экспрессии генов СYP3A2, СYP2C23, СYP2E1 и антиоксидантной активности, ингибирование пероксидного окисления липидов. «Метовитан» нормализует активность энзимов и содержание общего билирубина в сыворотке крови, проявляет высокие гепатопротекторные свойства, превосходя эффективность метионина.

**Ключевые слова:** гепатотоксичность, цитохром *P*-450, СYP3A2, СYP2C23, СYP2E1, противотуберкулезные средства, метионин, «Метовитан».

**MECHANISM OF HEPATOPROTECTIVE ACTION OF METHIONINE AND COMPOSITION «METOVITAN» AGAINST A BACKGROUND OF ANTITUBERCULOSIS DRUGS ADMINISTRATION TO RATS**

*S. I. Anisimova<sup>1</sup>, G. V. Donchenko<sup>2</sup>, Yu. M. Parkhomenko<sup>2</sup>, V. M. Kovalenko<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>SI Institute of Pharmacology and Toxicology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv;

<sup>2</sup>Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: kovalenko\_toxy@yahoo.com

Oral administration of antituberculosis drugs to rats for 60 days in doses that are equivalent to clinical ones, causes changes in mRNA levels expression of liver cytochrome P-450 isoforms CYP3A2, CYP2C23, CYP2E1 and pro- and antioxidant state. Experimental composition «Metovitan» given with anti-TB drugs provided a correction of these abnormalities, that is evidenced by modulation of the level of CYP3A2, CYP2C23, CYP2E1 gene expression and antioxidant activity, inhibition of lipid peroxidation. «Metovitan» normalizes the enzymatic activity and content of total bilirubin in the blood serum, shows high hepatoprotective properties, exceeding the efficiency of methionine.

**Key words:** hepatotoxicity, cytochrome P-450, CYP3A2, CYP2C23, CYP2E1, antituberculosis drugs, methionine, «Metovitan».

1. Москаленко В. Ф., Петренко В. І., Процюк Р. Г., Донець Д. Г. // Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція. – 2010. – № 1 (01). – С. 8–17.
2. Saukkonen J. J., Cohn D. L., Jasmer R. M. et al. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2006. – 174. – P. 935–952.
3. Мишин В. Ю., Чуканов В. И., Григорьев Ю. Г. Побочное действие противотуберкулезных препаратов при стандартных и индивидуальных режимах химиотерапии. – М.: «Компьютербург», 2004. – 208 с.
4. Bibi Z. // Nutr. Metab. – 2008. – 5. – P. 27–36.
5. Nishimura Y., Kurata N., Sakurai E., Yasuhara H. // J. Pharmacol. Sci. – 2004. – 96, N 3. – P. 293–300.
6. Shimadu T. // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1994. – 270. – P. 414.
7. Страчунский Л. С., Козлов С. Н. Анти-микробная терапия: руководство для врачей [Электронный ресурс]. – М.: Боргес, 2002. – 431 с. – Режим доступа: <http://www.antibiotic.ru>
8. Guidance for Industry and Reviewers Estimating the Safe Starting Dose in Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers U.S. Department of Health and Human Services, FDA, CDER and CBER [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>
9. Анісімова С. І., Коваленко В. М., Шахметова Г. М. та ін. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 3. – С. 26–31.
10. Kamath S. A., Kummerow F. A., Narayan K. A. // FEBS Letters. – 1971. – 17, N 1. – P. 90–92.
11. Omura T., Sato R. // J. Biol. Chem. – 1964. – 239. – P. 2370–2385.
12. Current Protocols in Toxicology / Ed. by M. Maines, John Wiley & Sons, Inc. – 2005. – P. 2758.
13. Sedlak J., Lindsay R. // Anal. Biochem. – 1968. – 25, N 1. – P. 192–205.
14. Современные методы в биологии / Под ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
15. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. и др. // Лабор. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
16. Пат. 2144674 Российская Федерация, G01N33/52, G01N33/68. Способ определения антиоксидантной активности супероксиддисмутазы и химических соединений / Сирота Т. В. – Опубл. 20.01.00 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://ru-patent.info/21/40-44/2144674.html>
17. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. et al. // J. Biol. Chem. – 1951. – 193. – P. 265–275.
18. Симон В. А. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. – 2002. – № 6 (12). – С. 25–30.
19. Yue J., Pengp.X., Kong R., Lui J. // Acta Pharmacol. Sin. – 2004. – 25. – P. 699–704.
20. Zhang Z. H., Tang L. H., Zhan Z. L. et al. // Asian Pac. J. Trop. Med. – 2012. – 5(4). – P. 306–309.
21. Tostmann A., Boeree M. J., Peters W. H. et al. // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2008. – 31(6). – P. 577–578.
22. Leclercq I. A., Farrell G. C., Field J. et al. // J. Clin. Invest. – 2000. – 105(8). – P. 1067–1075.
23. Posch G., Seitz K. // Alcohol Alcohol. – 2004. – 39, N 3. – P. 155–165.
24. Torres L., Avila M. A., Carretero M. V. et al. // FASEB J. – 2000. – 14, N 1. – P. 95–102.
25. Thum T., Borlak J. // FASEB J. – 2002. – 16. – P. 1537–1549.



26. *Simpson A. E.* // Gen. Pharmacol. – 1997. – **28**. – P. 351–359.
27. *Capdevila J. H., Falck J. R., Harris R. C.* // J. Lipid Res. – 2000. – **41**. – P. 163–181.
28. *Fulton D., Mahboubi K., McGiff J. C., Quilley J.* // Br. J. Pharmacol. – 1995. – **114**. – P. 99–102.
29. *Omdahl J. L., Bobrovnikova E. A., Choe S. et al.* // Steroids. – 2001. – **66**. – P. 381–389.
30. *Kumar S., Davydov D. R., Halpert J. R.* // Drug Metab. Dispos. – 2005. – N 3 (8). – P. 1131–1136.
31. *Patten C. J., Koch P.* // Arch. Biochem. Biophys. – 1995. – **317** (2). – P. 504–513.
32. *Cooper M. T., Porter T. D.* // Mutat. Res. – 2001. – **484** (1–2). – P. 61–68.
33. *Porubsky P. R., Meneely K. M., Scott E. E.* // J.B.C. – 2008 – **283** (48). – P. 33698–33707.
34. *Ляхович В. В., Вавилин В. А., Зенков Н. К. и др.* // Бюллетень СО РАМН. – 2005. – № 4 (118). – С. 7–12.
35. *Leclercq I. A., Farrell G. C., Field J. et al.* // J. Clin. Invest. – 2000. – **105** (8). – P. 1067–1075.
36. *Гріднєв О. Є.* // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – **25** (5). – С. 80–83.
37. *Пентюк О. О., Качула С. О., Герич О. Х.* // Укр. біохім. журн. – 2004. – **76**, № 5. – С. 16–28.
38. *Cederbaum A. I.* // World J. Gastroenterol. – 2010. – N 16 (11). – P. 1366–1376.
39. *Пилат Т. Л., Иванов А. А.* Биологически активные добавки к пище (теория, производство, применение). – М.: Аввалон, 2002. – 710 с.
40. *Mari M., Cederbaum A. I.* // Hepatology – 2001. – **33** (3). – P. 652–661.
41. *Mari M., Nieto N., Cederbaum A. I.* // J. Biomed. Sci. – 2001. – **8** (1). – P. 52–58.
42. *Mari M., Cederbaum A. I.* // J. Biol. Chem. – 2000. – **275**, N 20. – P. 15563–15571.
43. *Коржов В. И., Жадан В. Н., Коржов М. В.* // Журн. АМН України. – 2007. – **13**, № 1. – С. 3–19.
44. *Pérez M. J., Cederbaum A. I.* // Free Radic. Biol. Med. – 2003. – **34**, N 4. – P. 443–455.

Отримано 11.01.2013