

**ВЛИЯНИЕ ТРИАЗАВИРИНА НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ
ДЕТОКСИКАЦИИ**

Черкащенко О.С.

ФГУН "Северо-западный научный центр гигиены и общественного здоровья", sznc.ru

Санкт-Петербург, ул.2-я Советская, д.4, 8(812)717-00-09

Olach85@mail.ru

РЕЗЮМЕ

В статье представлены материалы токсикологических исследований о влиянии нового противогриппозного лекарственного средства триазавирина на детоксицирующую функцию печени. Показано, что исследуемый препарат угнетает активность ферментов эндоплазматического ретикулума гепатоцитов, что может привести к нарушению детоксицирующей функции печени.

Ключевые слова: триазавирин, ферменты, эндоплазматический ретикулум, гепатоциты, детоксикация.

**INFLUENCE OF TRIAZAVIRIN ON ENZYMES
OF DETOXICATION ACTIVITY**

Cherkashchenko O.S.

Northwest Public Health Research Center, Saint-Petersburg, The 2 Sovetskaya, 4,

sznc.ru, Olach85@mail.ru

SUMMARY

The article presents the materials of toxicological studies about the influence of a new drug triazavirin used for [influenza](#) treatment on the detoxication liver function. The following facts are proved that the test drug inhibits the activity of enzymes of hepatocytes' endoplasmic reticulum, and therefore can lead to a damage of the detoxication liver function.

Keywords: triazavirin, enzymes, endoplasmic reticulum, hepatocytes, detoxication.

ВВЕДЕНИЕ

Первой стадией метаболизма, абсолютно необходимой для гидрофобных веществ (экзогенного и эндогенного происхождения) являются окислительно-восстановительные реакции. Последние осуществляют переход липидорастворимых соединений в нетоксичные и полярные конъюгаты, что является обязательным условием их удаления из организма. Большая часть этих превращений происходит в организме с участием цитохром Р₄₅₀-зависимых неспецифических оксидаз, локализованных в эндоплазматической сети гепатоцитов и клетках некоторых других органов. Функции этой системы связаны не только с детоксикацией ксенобиотиков, но и с трансформацией эндогенных субстратов (стероидные гормоны, жирные кислоты, алкилпурины, жирорастворимые витамины, тироксин, желчные пигменты, холестерин, мукополисахариды) и других биологически активных соединений. Поэтому исследование функционального состояния цитохром Р₄₅₀-зависимых неспецифических оксидаз печени, обеспечивающих эффективность процессов детоксикации и резистентности организма при действии различных химических веществ и лекарственных препаратов, чрезвычайно актуально [1, 2, 3].

Целью нашей работы было исследование влияния триазавирина на состояние цитохром Р₄₅₀-зависимых МОГ при различных путях поступления.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Триазавирин (C₅H₇N₆NaO₅S) – натрия 7-метилтио-3-нитро-4-оксо-1,4-дигидро[1,2,4] триазоло[5,1-с] [1,2,4]триазин-1-ид дигидрат, М.м.286,19, является синтетическим аналогом пуриновых нуклеозидов (гуанина) с выраженным противовирусным действием. По агрегатному состоянию представляет собой мелкокристаллический порошок или гранулы от светло-желтого до светло-коричневого цвета, горького вкуса, растворяется в диметилсульфоксиде, диметилформамиде, ацетоне, плохо растворяется в воде, не растворяется в хлороформе.

Влияние триазавирина на состояние микросомального окисления оценивали косвенными методами, применяя нагрузку гексеналом и амидопирином.

Определение времени окисления гексенала (по длительности сна) экспериментальных животных является наиболее простым в исполнении и, вместе с тем, достаточно информативным приемом. Чувствительность и информативность данного метода определяется с одной стороны, тем что гексенал по отношению к цитохрому Р₄₅₀ рассматривается как субстрат первого типа и, таким образом, время его окисления характеризует функцио-

нальное состояние цитохрома P-₄₅₀. С другой стороны известна высокая чувствительность ЦНС к наличию в крови целой молекулы гексенала и отсутствие таковой к его метаболитам, то есть продолжительность гексеналового сна определяется только действием целой молекулы препарата. Поэтому метод определения скорости окисления гексенала (по продолжительности гексеналового сна) в организме экспериментальных животных является одним из наиболее распространенных методов оценки функциональной активности цитохром P-₄₅₀-зависимых МОГ [1].

Нагрузка аминопирином также является широко используемым методическим приемом для определения активности цитохром P-₄₅₀-зависимых МОГ в экспериментальных исследованиях [4]. Поскольку аминопирин является субстратом I типа цитохрома P-₄₅₀, то скорость его превращения характеризует функциональную активность этого гемопротеида. Биотрансформация аминопирина приводит к образованию в организме двух основных метаболитов: 4-аминоантипирина (4-АПП) и ацетил-4-аминоантипирина (N-Ац 4ААП), по уровню которых можно дать оценку активности цитохрома P-₄₅₀. Таким образом, изменение количества метаболитов аминопирина и увеличение или уменьшение длительности сна свидетельствует об угнетении или активации оксидаз смешанной функции.

Исследования проводили на половозрелых крысах-самцах массой 200-220 г. В первой серии экспериментов подопытным животным в течение трёх дней ежедневно вводили по 1/3 ЛД₅₀ изучаемого соединения. Через 24 часа после последнего введения триазавирина контрольным и подопытным животным в брюшную полость вводили 80 мг/кг гексенала и регистрировали продолжительность гексеналового наркоза.

Во второй серии экспериментов дозу аминопирина 20 мг/кг вводили в брюшную полость белым крысам, которых подвергали однократному ингаляционному воздействию триазавирина (115, 62 и 5 мг/м³) в специальных камерах для ингаляционных затравок. Через 18 часов в моче экспериментальных животных определяли метаболиты аминопирина: 4-аминоантипирин и ацетил-4-аминоантипирин колориметрическим методом, основанном на образовании ими с фенолом в щелочной среде в присутствии феррицианида калия соединения типа индофенола красного цвета [4].

Полученные экспериментальные данные подвергались статистической обработке с применением параметрической (критерий Стьюдента-Фишера) и непараметрической (метод Вилкоксона-Манна-Уитни) статистики [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты выполненных исследований показали, что введение триазавирина, судя по продолжительности гексеналового сна изменяло активность ферментов МОГ по типу ингибирования (таблица 1). Как видно из таблицы, продолжительность гексеналового наркоза подопытных животных составила 46, 86 мин ($p > 0,05$), против аналогичного показателя у контрольных животных, который оказался равным 23,4 мин. Сходные результаты были получены при исследовании противовирусного препарата ритонавира, которые показали, что ритонавир метаболизируется микросомальной системой печени и тоже является ингибитором ряда изоферментов цитохрома P-450 [5].

Таблица 1

Изменение длительности гексеналового сна белых крыс после трёхдневного введения $1/3 \text{ DL}_{50}$ триазавирина в брюшную полость

№ п/п	Группы животных, длительность сна (минуты)	
	Контрольная (n = 10)	Подопытная (n = 7)
1	39	62
2	29	64
3	16	28
4	23	44
5	25	44
6	18	40
7	19	46
8	15	-
9	27	-
10	23	-
M ± m	23,4 ± 2,46	46,86 ± 5,04
p		p < 0,05

Разнонаправленный эффект был получен нами в экспериментах с нагрузкой аминопирином при определении пороговой концентрации однократного ингаляционного воздействия триазавирина (таблица 2). Как видно из таблицы, концентрации триазавирина 115 мг/м^3 и 5 мг/м^3 приводили к уменьшению выделения первого метаболита аминопирина (4-АПП), характеризующее ингибирование активности реакций гидроксилирования, в то время как по количеству второго метаболита аминопирина (N-Ац- 4-ААП) не было выявлено достоверных различий между группами подопытных и контрольных животных.

Концентрация триазавирина 62 мг/м³, напротив, приводила к повышению выделения первого метаболита аминопирина ($p < 0,05$), что свидетельствует об активации цитохром Р-450-зависимых МОГ.

Таблица 2

Изменение содержания метаболитов аминопирина в моче белых крыс после ингаляционного воздействия триазавирина ($M \pm m$, $n=10$)

Концентрации триазавирина, мг/м ³	Группы	Диурез, мл	Метаболиты амидопирина	
			4-аминоантипирин	ацетил-4-аминоантипирин
115	Контроль	8,04±0,37	488,04±71,67	1153,97±267,03
	Опыт	8,08±0,53 $p > 0,05$	215,08±31,30 $p < 0,01$	1066,42±154,28 $p > 0,05$
62	Контроль	9,30±0,41	139,35±14,77	1281,72±166,99
	Опыт	7,65±0,36 $p < 0,01$	194,42±19,11 $p < 0,05$	860,65±161,20 $p > 0,05$
5	Контроль	6,50±0,56	176,91±18,10	537,94±80,54
	Опыт	5,44±0,67 $p > 0,05$	119,35±17,92 $p < 0,02$	425,47±88,18 $p > 0,05$

Таким образом, в экспериментах с нагрузкой гексеналом и аминопирином в зависимости от дозы/концентрации триазавирина был зарегистрирован ингибирующий или индуцирующий эффект на активность реакций гидроксилирования цитохром Р-450-зависимых МОГ.

ВЫВОДЫ

Результаты экспериментальных исследований по влиянию триазавирина на ферментативную активность цитохром-Р-450-зависимых МОГ показали:

- введение 1/3 DL₅₀ триазавирина приводит к ингибированию активности реакций гидроксилирования цитохром Р-450-зависимых МОГ;
- моделирование ингаляционного поступления различных концентраций триазавирина, превышающих в 10 и более раз допустимый уровень воздействия (ОБУВ_{р.з.} триазавирина составляет 0,5 мг/м³) выявило разнонаправленный эффект на активность цитохром Р-450-зависимых МОГ.

Литература

1. Ляхович В.В., Цырлов И.Б. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков. Новосибирск: Наука. - 1985. - 240 с.
2. Тиунов Л.А. Основные механизмы метаболизма ксенобиотиков в организме человека и животных // Итоги науки и техники ВИНТИ (токсикология). – 1981. - №12. – с.5-64
3. Сидорин Г.И. К вопросу о биохимической адаптации при экстремальном и хроническом действии промышленных ядов.// Современные проблемы профилактической токсикологии / Московский НИИ гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана. – М., 1991. – С.4-25.
4. Попов Т.А., Леоненко О.Б. О возможности оценки активности микросомальных оксидаз смешанной функции печени в динамике. – В кн.: Математические модели в биологии и исследование физиологических систем. Киев. – 1975. - С.100-103.
5. Гублер Е.В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е.В. Гублер, А.А. Генкин. – Л. : Медицина, 1973. – 144 с.
6. Кукес В.Г., Грачёв С.В., Сычёв Д.А., Раменская Г.В. Метаболизм лекарственных средств. Научные основы персонализированной медицины: руководство для врачей. – М.: ГЭОТАР. – Медиа. – 2008. – 304 с.