

разрешению этой проблемы нужно относиться серьезно, а проведение лечебных мероприятий должно быть

этиопатогенетически обоснованным и в комплексном виде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дуда В.И. Акушерство. – М.: Высш. шк., 2004. – 639 с.
2. Кулаков В.И., Серов В.Н., Абакарова П.Р. и др. Рациональная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии: Рук-во для практикующих врачей / Под ред. В.И. Кулакова, В.Н.Серова. – М.: Литтерра, 2005. – 1152 с.
3. Макаров О.В., Николаев Н.Н., Волкова Е.В. Артериальная гипертензия у беременных. Только ли гестоз? (Руководство для врачей). – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 176 с.
4. Мурашко Л.Е., Серов В.Н., Ткачева О.Н., Тумбаев И.В. Суточный мониторинг артериального давления в диагностике и терапии синдрома гипертензии при гестозе и гипертонической болезни беременных // Акушерство и гинекология. – 2007. – №3. – С.13-17.
5. Мурашко Л.Е., Ткачева О.Н., Тумбаев И.В. Оценка эффективности гипотензивных средств, применяемых при гестозе, и их влияние на эндотелиально-сосудистый фактор гипертензивного синдрома при беременности // Акуш. и гинеко. – 2007. – №2. – С.32-36.
6. Радзинский В.Е., Галина Т.В. Проблемы гестоза и подхо-

- ды к их решению // Казанский медицинский журнал. – 2007. – №2. – С.114-117.
7. Рогова Е.Ф., Тареева И.Е., Сидорова И.С. и др. Почечная и маточная гемодинамика у беременных с гипертонической болезнью // Тер. архив. – 2001. – Т. 73. №10. – С.28-33.
8. Сидорова И.С. Гестоз. – М., 2003. – 416 с.
9. Dekker G., Sibai B.M. Primary, secondary and tertiary prevention of preeclampsia // *Lancet*. – 2001. – Vol. 357. – P.209-215.
10. Mackay A.P., Berg J.C., Atrash N.K. Pregnancy-related mortality from preeclampsia and eclampsia // *Obstet. Gynecol.* – 2001. – Vol. 97. – P.533-538.
11. Sibai B.M. Chronic hypertension in pregnancy // *Obstet. Gynecol.* – 2002. – Vol. 100. – P.369-377.
12. Sibai B.M. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia // *Obstet. Gynecol.* – 2003. – Vol. 102. – P.181-192.
13. Zeeman G.G., Fleckenstein C.L., Twickler D.M. Cerebral infarction in eclampsia // *Am. J. Obstet Gynecol.* – 2004. – Vol. 190. №3. – P.714-720.

Информация об авторах: Баку 1000 Азербайджан, Азербайджанский Государственный институт Усовершенствования врачей им. А. Алиева, квартал 3165. E-mail: nauchnaya@rambler.ru, Акпербекова Самира Алиакпер кызы – ассистент кафедры акушерства-гинекологии; Исрафилбейли Солмаз Гусейн кызы – заведующая кафедрой акушерства-гинекологии, профессор, д.м.н.; Гадиров Айдын Вели оглы – доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии, к.м.н.

© ЛАЛЕТИН В.С., КОЛЕСНИЧЕНКО Л.С. – 2010

ПРЕДОТВРАЩЕНИЕ МЕСНОЙ, ВЫЗВАННОГО МЕТОТРЕКСАТОМ, ОКИСДАТИВНОГО СТРЕССА В ТКАНЯХ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК

В.С. Лалетин, Л.С. Колесниченко

(Иркутский государственный медицинский университет, ректор – д.м.н., проф. И.В. Малов, кафедра биоорганической и бионеорганической химии, зав. – д.м.н., проф. Л.С. Колесниченко, кафедра биохимии, зав. – д.м.н., проф. В.И. Кулинский)

Резюме. Описан эффект предотвращения 2-меркаптоэтансульфонатом (месной) развития перекисного окисления липидов в тканях почек и печени, вызванного метотрексатом. Реализация данного эффекта сопряжена с модуляцией активности ферментов метаболизма глутатиона. Полученные данные свидетельствуют о потенциальной возможности использования месны в качестве антидота метотрексата.

Ключевые слова: система глутатиона, метотрексат, месна.

PREVENTION OF METHOTREXATE-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN LIVER AND KIDNEY TISSUES BY MESNA

V.S. Laletin, L.S. Kolesnichenko
(Irkutsk State Medical University)

Summary. Prevention of methotrexate-induced lipid peroxidation in liver and kidney tissues by 2-mercaptoethane sulfonate (mesna) is described. Realization of the present effect is accompanied by glutathione enzymes activity modulation. Our data suggest that mesna is a possible antidote to methotrexate.

Key words: glutathione system, methotrexate, mesna.

До настоящего времени механизм развития гепато-нефротоксического действия метотрексата (МТ) малоизучен. Существует гипотеза о взаимосвязи нефротоксического действия МТ с развитием оксидативного стресса (ОС) в тканях почки [4,9,10], истощением концентрации ключевого антиоксиданта – глутатиона [9] и снижением активности ГПО [10]. МТ проявляет нефротоксичность в высоких дозах [6,7,15], низкие дозы МТ нефротоксичны лишь при курсовом введении [8]. Исходя из этого, в эксперименте МТ вводился однократно в высокой дозе. Рассматриваются различные возможности компенсации вызванных сдвигов применением различных антиоксидантов [9,10].

В ряде статей описано нивелирование в схемах химиотерапии тропной токсичности отдельных цитостатиков. Так сообщается, что в схеме CMF метотрексат не оказывает нефротоксического действия, а циклофосфа-

мид не вызывает развитие геморрагического цистита [13]. Мы предлагаем рассматривать изменения в системе глутатиона как один из универсальных и ключевых механизмов развития, как тропной токсичности, так и её нивелирования в схемах химиотерапии.

Актуальным с этой точки зрения является изучение сдвигов в системе глутатиона в различных органах при введении различных цитостатиков и определение возможных сходных сдвигов в пределах отдельных групп (так например, нами определены синхронные сдвиги при введении антиметаболитов – 5-фторурацила и метотрексата).

Стабилизация системы глутатиона оправдана с теоретической точки зрения в условиях лечения МТ, т.к. известные механизмы резистентности к МТ не связаны с метаболизмом тиолов. В качестве возможного антидота была исследована месна (2-меркаптоэтансульфонат).

Описано влияние месны на различные ткани и органы (печени [11,12,17], легких [5], почек [17], кишечника [16]), что свидетельствует о ней как об универсальном антиоксиданте. Нами предложено использование месны – уротректора, антидота оксазофосфофинов (циклофосфида и ифосфида) – в качестве нефропротектора при введении МТ.

Механизм действия месны обусловлен связыванием и обезвреживанием нефротоксических метаболитов оксазофосфофинов. Но несоответствие фармакодинамики и фармакокинетики препарата и описанных антиоксидантных эффектов в ряде патологических состояний, сопровождающихся оксидативным стрессом в различных органах [5,11,12,16,17] позволяет предполагать наличие опосредованного механизма реализации антиоксидантных эффектов. Мы предполагаем, что система глутатиона является центральным звеном развития антиоксидантных эффектов месны.

Ранее в своих исследованиях мы показали стойкое и выраженное снижение концентрации глутатиона в печени и почках при введении МТ, что согласуется с гипотезой о взаимосвязи изменений системы глутатиона с развитием тропной токсичности [3].

Цель работы: исследование влияния МТ на концентрацию восстановленного глутатиона (GSH), активность ферментов и концентрацию производных тиобарбитуровой кислоты (TBARS), а также коррекция месной возможных сдвигов в системе глутатиона.

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 118 мышках обоего пола: внутрибрюшинно однократно вводили МТ в дозе 150 мг/кг; а также трёхкратно внутрибрюшинно вводили месну в дозе 30 мг/кг отдельно и вместе с МТ: за 15 мин до введения химиопрепарата, через 4 и 8 ч после введения. Концентрацию GSH и активность трёх главных ферментов его метаболизма: глутатионтрансферазы (ГТ), глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР) определяли стандартными спектрофотометрическими методами [2]. Концентрацию TBARS как маркера перекисного окисления липидов (ПОЛ) в печени мышей измеряли по методу J. Stocks и соавт. [14] в модификации И.А. Волчегорского [1]. Измерения проводили через 24 и 72 ч после введения МТ.

Исследования были проведены с соблюдением международных стандартов и биоэтических норм, в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, ис-

пользуемых для экспериментов или в научных целях. Протокол исследований был одобрен на заседании Этического Комитета ИГМУ.

Результаты статистически обработаны с использованием критериев F, t Стьюдента и t Велча. Описаны только значимые изменения ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

МТ снижал концентрацию GSH как в почках, так и печени через 24 ч (табл. 1 и 2). Снижение концентрации GSH метотрексатом носило стойкий характер и

Влияние метотрексата и месны на концентрацию глутатиона, активность ферментов его метаболизма и концентрацию МДА в печени

Показатели	GSH печень	ГТ печень	ГР печень	ГПО печень	TBARS печень
Контроль	5,44±0,09 (n=57)	1019±36,0 (n=53)	29,4±0,74 (n=53)	62,9±1,77 (n=53)	0,059±0,006 (n=21)
Месна 30 мг/кг x3 24 ч	6,84±0,51 ^a (n=7)	1840±286 ^a (n=7)	44,4±4,57 ^a (n=7)	82,3±12,3 (n=7)	0,041±0,011 (n=7)
Месна 30 мг/кг x3 72 ч	6,76±0,36 ^b (n=7)	1028±137 (n=7)	23,6±2,61 (n=7)	76,4±15,1 (n=7)	0,043±0,007 (n=5)
MTX 150 мг/кг 24 ч	4,73±0,17 ^b (n=16)	1342±95,9 ^b (n=17)	39,7±1,97 ^c (n=17)	58,7±4,69 (n=17)	0,076±0,006 (n=6)
MTX 150 мг/кг 72 ч	5,02±0,16 ^a (n=15)	749±51,3 ^c (n=16)	21,6±1,23 ^c (n=16)	72,8±5,63 (n=16)	0,106±0,007 ^c (n=5)
MTX 150 мг/кг + Месна 30 мг/кг x3 24 ч	7,52±0,49 ^{bl} (n=6)	1558±200 ^a (n=6)	31,2±4,34 (n=6)	76,2±8,41 (n=6)	0,040±0,007 ^{al} (n=6)
MTX 150 мг/кг + Месна 30 мг/кг x3 72 ч	5,45±0,30 (n=10)	1081±130 ^k (n=10)	29,3±3,14 ^k (n=10)	73,9±12,2 (n=10)	0,07±0,014 ^k (n=10)

Примечание: в таблицах 1 и 2 приняты следующие обозначения: а – $p \leq 0,05$, b – $p < 0,01$, c – $p < 0,001$ в сравнении с контрольной группой; k – $p \leq 0,05$, l – $p < 0,01$, m – $p < 0,001$ в сравнении с группой мышей, которым вводили только метотрексат; активность ферментов выражена в нмоль/мин на 1 мг белка; концентрация GSH выражена в мкмоль на грамм ткани.

сохранялось через 72 ч. Месна через 24 и 72 ч увеличивала концентрацию GSH в почках и печени. Учитывая фармакодинамику и фармакокинетику препарата, продолжительное увеличение концентрации GSH в почках и печени свидетельствует о том, что месна не только непосредственно участвует в качестве тиола, но также действует и опосредованно, действуя на активность ферментов системы глутатиона. Совместное введение МТ с месной предотвращало снижение концентрации GSH в почках и печени: увеличение концентрации GSH, по сравнению с контролем через 24 ч и нормализация через 72 ч.

МТ не изменял активность ГПО ни в почках, ни в

Влияние метотрексата и месны на концентрацию глутатиона, активность ферментов его метаболизма и концентрацию МДА в почках

Показатели	GSH почки	ГТ почки	ГР почки	ГПО почки	TBARS почки
Контроль	3,70±0,10 (n=23)	413±41,3 (n=6)	67,3±4,82 (n=6)	109±11,5 (n=6)	0,077±0,003 (n=6)
Месна 30 мг/кг x3 24 ч	4,82±0,10 ^c (n=6)	529±33,9 ^a (n=7)	87,5±10,5 (n=7)	191±18,9 ^b (n=7)	0,059±0,010 (n=5)
Месна 30 мг/кг x3 72 ч	4,51±0,12 ^c (n=6)	403±39,9 (n=7)	53,4±2,94 ^a (n=7)	177±13,7 ^b (n=7)	0,043±0,007 ^b (n=6)
MTX 150 мг/кг 24 ч	3,26±0,07 ^c (n=16)	275±20,6 ^a (n=6)	73,0±7,11 (n=6)	109±15,1 (n=6)	0,101±0,008 ^a (n=6)
MTX 150 мг/кг 72 ч	3,11±0,18 ^b (n=15)	241±38,5 ^a (n=5)	67,4±6,19 (n=5)	117±11,0 (n=5)	0,124±0,011 ^b (n=5)
MTX 150 мг/кг + Месна 30 мг/кг x3 24 ч	4,82±0,13 ^{cm} (n=6)	378±66,3 (n=6)	53,5±4,99 ^k (n=6)	233±19,1 ^{cm} (n=6)	0,070±0,011 ^k (n=6)
MTX 150 мг/кг + Месна 30 мг/кг x3 72 ч	3,87±0,21 ^k (n=7)	226±17,6 ^b (n=5)	59,2±7,44 (n=5)	220±16,3 ^{sc} (n=5)	0,144±0,024 ^a (n=5)

печени. Месна увеличивала активность ГПО в почках через 24 и 72 ч, не изменяя её в печени. При совместном введении МТ и месны активность ГПО выражено возросла в почках и на 24, и на 72 ч.

Введение МТ сопровождалось выраженным снижением активности ГТ в почках на оба срока. Тогда как в печени увеличение активности ГТ через 24 ч сменялось снижением через 72 ч. Месна увеличивала активность ГТ как в печени, так и в почках через 24 ч, не влияя на активность ГТ на 72 ч. Месна при введении с МТ нормализовывала активность ГТ в почках через 24 ч, но через 72 ч не предотвращала снижение активности фермента. В печени увеличивала активность ГТ через 24 ч и нормализовывала через 72 ч.

МТ увеличивал в печени активность ГР через 24 ч, но активность фермента снижалась через 72 часа. Месна в печени увеличивала активность ГР через 24 ч. В почках отмечалось снижение активности ГР через 72 ч. Совместное введение МТ с месной предотвращало изменения активности фермента как в печени так и в почках.

МТ увеличивает концентрацию продуктов ПОЛ в почках через 24 ч, через 72 ч уровень TBARS остаётся высоким, в печени увеличение TBARS наблюдается через 72 ч. Данные изменения свидетельствуют о прооксидантном действии МТ на печень и в большей степени на почки. В почках ОС развивается в ранние сроки и сохраняется продолжительное время. Месна снижает концентрацию TBARS в сравнении с контролем в почках через 72 ч, в печени концентрация TBARS не изменяется. Введение месны совместно с МТ предотвращает развитие ПОЛ в печени как через 24, так и через 72 ч. В почках месна снижает концентрацию TBARS через 24 ч, не предотвращая развитие ПОЛ в отдаленный период через 72ч.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. – Челябинск, 2000. – 167 с.
2. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И., Сотникова Г.В., Ковтун В.Ю. Влияние направленного изменения концентрации глутатиона на температуру тела и толерантность к ишемии головного мозга // Биохимия. – 2003. – Т. 68. №5. – С.656-663.
3. Колесниченко Л.С., Лалетин В.С. Влияние противоопухолевых антиметаболитов на систему глутатиона // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2006. – №7. – С.50-51.
4. Devrim E., Cetin R., Kiliçoğlu B., et al. Methotrexate causes oxidative stress in rat kidney tissues // Ren. Fail. – 2005. – Vol. 27. №6. – P.771-773.
5. El-Medany A., Hagar H.H., Moursi M., et al. Attenuation of bleomycin-induced lung fibrosis in rats by mesna // Eur. J. Pharmacol. – 2005. – Vol. 509. №1. – P.61-70.
6. Fong C.M., Lee A.C. High-dose methotrexate-associated acute renal failure may be an avoidable complication // Pediatr. Hematol. Oncol. – 2006. – Vol. 23. №1. – P.51-57.
7. Grönroos M.H., Jahnukainen T., Möttönen M., et al. Long-term follow-up of renal function after high-dose methotrexate treatment in children // Pediatr. Blood Cancer. – 2008. – Vol. 51. №4. – P.535-539.
8. Izzedine H., Launay-Vacher V., Karie S., et al. Is low-dose methotrexate nephrotoxic? Case report and review of the literature // Clin. Nephrol. – 2005. – Vol. 64. №4. – P.315-319.
9. Jahovic N., Cevik H., Sehirli A.O., et al. Melatonin

Таким образом, ключевыми факторами развития ОС в тканях тропных органов при введении МТ является снижение активности ГТ, а также непосредственно истощение GSH. Отсутствие увеличения активности ГПО в условиях развития ПОЛ также является одним из факторов усугубления прооксидантного действия МТ.

МТ вызывает значительные негативные сдвиги в системе глутатиона почек и печени, создавая условия для развития выраженного окислительного стресса. Прооксидантные эффекты МТ в почках возникают уже в ранние сроки и носят стойкий характер. В печени через 24 ч наблюдается адекватный ответ системы глутатиона на развитие ОС, который проявляется в виде увеличения активности ГТ и ГР, что предотвращает развитие ПОЛ. Но данная фаза сменяется снижением активности ГТ и ГР, в связи с этим система глутатиона теряет возможность эффективно функционировать, что влечет за собой развитие ОС. Введение месны позволяет предотвратить негативные сдвиги, увеличивая концентрацию GSH, активность ГТ и ГПО через 24 ч. Через 72 ч после совместного введения антиоксидантные эффекты месны сохраняются, но выражены они в меньшей степени, чем через 24 ч. Следовательно, выявлены антиоксидантные эффекты месны, в реализации которых участвует система глутатиона. Хотя месна имеет короткий период полувыведения, оказывает достаточно продолжительное антиоксидантное действие, длительность которого связана с модулированием системы глутатиона (как концентрации GSH, так и ферментов его метаболизма). Месна нормализует систему глутатиона, предотвращая в ранние сроки и снижая в отдаленный период развитие ПОЛ – предполагаемого фактора развития гепатонекротичности МТ.

Полученные нами данные говорят о возможности использования месны в качестве антидота МТ.

prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats // J. Pineal Res. – 2003. – Vol. 34. №4. – P.282-287.

10. Oktem F., Yilmaz H.R., Ozguner F., et al. Methotrexate-induced renal oxidative stress in rats: the role of a novel antioxidant caffeic acid phenethyl ester // Toxicol. Ind. Health. – 2006. – Vol. 22. №6. – P.241-247.

11. Sener G., Kabasakal L., Sehirli O., et al. 2-Mercaptoethane sulfonate (MESNA) protects against biliary obstruction-induced oxidative damage in rats // Hepatol. Res. – 2006. – Vol. 35. №2. – P.140-146.

12. Sener G., Sehirli O., Ercan F., et al. Protective effect of MESNA (2-mercaptoethane sulfonate) against hepatic ischemia/reperfusion injury in rats // Surg. Today. – 2005. – Vol. 35. №7. – P.575-580.

13. Skretkowicz J., Sekulska M., Danilewicz M., et al. Effect of some anticancer drugs and combined chemotherapy on renal toxicity // Biol. Signals. – 1996. – Vol. 5. №1. – P.51-58.

14. Stocks J., Gutteridge J.M., Sharp R.J., et al. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids // Clin. Sci. Mol. Med. – 1974. – Vol. 47. №3. – P.215-222.

15. Treon S.P., Chabner B.A. Concepts in use of high-dose methotrexate therapy // Clin. Chem. – 1996. – Vol. 42. №8. – P.1322-1329.

16. Ypsilantis P., Lambropoulou M., Tentes I., et al. Mesna protects intestinal mucosa from ischemia/reperfusion injury // J. Surg. Res. – 2006. – Vol. 134. №2. – P.278-284.

17. Ypsilantis P., Tentes I., Anagnostopoulos K., et al. Mesna protects splanchnic organs from oxidative stress induced by pneumoperitoneum // Surg. Endosc. – 2009. – Vol. 23. №3. – P.583-589.

Информация об авторах: 664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания 1, кафедра биохимии ИГМУ, e-mail: greensleeves@list.ru, Лалетин Всеволод Сергеевич – аспирант, Колесниченко Лариса Станиславовна – заведующая кафедрой, профессор, д.м.н.