

УДК 615.272:612.35

Н. М. Дорошенко

ВЛИЯНИЕ НЕРОБОЛА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ

В последние годы анаболические стероидные гормоны все шире применяются в терапевтической практике, однако наряду с лечебным действием они иногда вызывают нежелательные побочные эффекты [2, 9, 18]. Поэтому изучение механизма побочного действия анаболических гормонов и разработка методов его предотвращения является актуальной проблемой. Клинические и экспериментальные исследования говорят о том, что анаболические стероидные гормоны при их продолжительном применении могут отрицательно влиять на деятельность печени [3, 15, 18, 19].

Мы исследовали, при каких дозах и в какой срок возникают нежелательные эффекты при применении анаболического препарата неробол и их проявления.

Методика исследований

Опыты проведены на 210 белых крысах-самцах с начальным весом 120—150 г. Животные были разделены на четыре группы: I группа — контрольные крысы; II группа — крысы, которым вводили неробол *per os* в дозе 0,5 мг/100 г через день в течение 60 дней; III группа — 1 мг/100 г в те же сроки; IV группа — 2 мг/100 г ежедневно в течение 30 дней.

Каждые 10 дней исследования забивали по пять крыс контрольной группы и десять — опытной. В сыворотке крови определяли содержание белка методом Лоури [21], белковые фракции — методом электрофореза на бумаге [4], билирубин крови и его фракции по [14], бромсульфоталеиноую пробу (БСФ) проводили по [22], в модификации для крыс [8] и высчитывали коэффициент печеночного клиренса [20], содержание холестерина исследовали по [16], активность сорбитдегидрогеназы по [10], лактатдегидрогеназу — по [13], глюкозофосфатизомеразу — по [12] в модификации [5], аргиназу — по [17] в модификации [7], щелочную фосфатазу — по [11] в модификации [1].

Результаты исследований и их обсуждение

Как видно из данных, представленных в табл. 1, 2, 3, у животных II группы, которые получали неробол в дозе 0,5 мг/100 г, кроме снижения на 30 день эксперимента содержания альбуминовой фракции белка до $3,50 \pm 0,09$ (при норме $3,70 \pm 0,05$) не наблюдалось изменений в исследуемых показателях.

У крыс III группы, получавших неробол в дозе 1 мг/100 г, в начальные сроки исследования (на 10—20 день) отмечалось усиление белковообразовательной функции печени: при нормальном содержании общего количества белка увеличивался удельный вес его альбуминовой фракции с $3,70 \pm 0,05$ в норме до $3,90 \pm 0,09$ и $3,85 \pm 0,05$ на 10 и 20 дни, соответственно. На 10 день исследования увеличивался также клиренс БСФ, составлявший $0,0906 \pm 0,0038$ при норме $0,0800 \pm 0,0028$. Корреляция этих показателей характерна при изменении функционального состояния печени. На 30 день исследования содержание альбуминов снизилось до

Таблица 1

Влияние различных доз неробола на функциональные пробы печени

Исследуемый показатель	Норма	Доза неробола, мг/100 г	Статистические показатели	Дни исследований						
				10	20	30	40	50	60	
Клиренс БСФ	n=60 0,0800±0,0028	0,5	n	10	10	10	10	10	10	
			M±m	0,0815±0,0050	0,0823±0,0056	0,0663±0,0083	0,0733±0,0051	0,0794±0,0054	0,0887±0,0057	
	1		p	>0,5	>0,5	>0,1	>0,2	>0,5	>0,1	
			n	10	10	20	15	15	10	
	2		M±m	0,0906±0,0038	0,0761±0,0043	0,0485±0,0044	0,0829±0,0031	0,0820±0,0049	0,0825±0,0054	
			p	<0,05	>0,2	<0,001	>0,5	>0,5	>0,5	
Холестерин, мг %	n=60 112±4,6	0,5	n	20	20	10	10	10	10	
			M±m	0,0535±0,0058	0,0665±0,0029	0,0797±0,0060				
	1		p	<0,001	<0,001	>0,5				
			n	10	10	10	10	10	10	
	2		M±m	96±5,2	81±3,1	108±7,3	123±10,3	113±9,6	120±10,1	
			p	<0,02	<0,001	>0,5	>0,2	>0,5	>0,5	
Лактатдегидрогеназа, мкмоль/мл/ч при 37°С	n=60 36,7±1,5	0,5	n	10	10	10	10	10	10	
			M±m	110±6,1	87±5,8	82±4,5	113±4,4	124±7,7	90±3,7	
	1		p	>0,5	<0,001	<0,001	>0,5	>0,1	<0,001	
			n	20	20	10	15	15	10	
	2		M±m	119±9,3	121±7,4	87±3,0				
			p	>0,2	>0,2	<0,001				
Сорбитдегидрогеназа, мкмоль/мин/мл при 37°С	n=60 0,018±0,001	0,5	n	10	10	10	10	10	10	
			M±m	38,7±2,05	40,6±2,50	34,2±1,50	38,2±3,00	38,1±1,50	41,1±1,70	
	1		p	>0,5	>0,5	>0,2	>0,5	>0,2	>0,05	
			n	10	10	20	15	15	10	
	2		M±m	18,9±0,9	7,9±2,1	41,7±3,8	45,9±2,3	37,7±3,3	39,4±5,6	
			p	<0,001	<0,001	>0,2	<0,001	>0,5	>0,5	

Сорбитдегидро- геназа, мкмоль/мин/мл при 37°С	$n=60$ $0,018 \pm$ $0,001$	0,5	n	10	10	10	10	10	10	
			$M \pm m$	$0,013 \pm 0,002$	$0,012 \pm 0,002$	$0,013 \pm 0,003$	$0,014 \pm 0,002$	$0,007 \pm 0,001$	$0,019 \pm 0,002$	
	1		p	$<0,02$	$<0,01$	$<0,01$	$<0,05$	$<0,001$	$>0,5$	
			n	10	10	20	15	15	10	
	2		$M \pm m$	$0,015 \pm 0,002$	$0,017 \pm 0,002$	$0,022 \pm 0,001$	$0,020 \pm 0,005$	$0,018 \pm 0,003$	$0,002 \pm 0,0003$	
			p	$>0,1$	$>0,5$	$<0,001$	$>0,5$	$>0,5$	$<0,001$	
Глюкозофосфат-	$n=60$	0,5	n	10	10	10	10	10	10	
			$M \pm m$	$0,015 \pm 0,003$	$0,009 \pm 0,0004$	$0,011 \pm 0,002$				
			p	$>0,1$	$<0,001$	$<0,001$				

Исходные данные	Среднее значение	Стандартное отклонение	Среднее значение	Стандартное отклонение	Среднее значение	Стандартное отклонение	Среднее значение	Стандартное отклонение
1	38,7 ± 2,05	10	40,6 ± 2,50	10	34,2 ± 1,50	10	38,1 ± 1,50	10
2	18,9 ± 0,9	10	7,9 ± 2,1	10	41,7 ± 3,8	15	37,7 ± 3,3	15
3	43,9 ± 3,30	20	41,2 ± 2,60	20	39,3 ± 2,80	10	39,4 ± 5,6	10
4	0,018 ± 0,001	10	0,012 ± 0,002	10	0,013 ± 0,003	10	0,007 ± 0,001	10
5	0,015 ± 0,002	10	0,017 ± 0,002	10	0,022 ± 0,001	15	0,018 ± 0,003	15
6	0,015 ± 0,003	20	0,009 ± 0,0004	20	0,011 ± 0,002	10	0,002 ± 0,0003	10
7	6,86 ± 0,51	10	4,51 ± 0,56	10	3,77 ± 0,59	10	7,64 ± 1,12	10
8	1,6 ± 0,17	10	1,7 ± 0,40	10	7,4 ± 1,40	15	5,7 ± 0,63	15
9	3,96 ± 0,42	20	3,99 ± 0,37	20	4,43 ± 0,43	10	4,4 ± 1,24	10
10	405 ± 58	10	479 ± 62	10	596 ± 31	10	497 ± 52	10
11	208 ± 80	10	332 ± 62	10	930 ± 166	15	758 ± 106	15
12	1119 ± 164	20	898 ± 159	20	544 ± 65	10	210 ± 56	10
13	18,3 ± 1,10	10	18,7 ± 2,83	10	40,6 ± 1,71	10	27,1 ± 2,90	10
14	47,1 ± 4,32	20	31,8 ± 2,82	20	25,1 ± 2,10	10	25,0 ± 2,11	10

Таблица 2
на и его фракций

Фракции	Моноглокуронид- билирубин, мг %
Фракция	Моноглокуронид- билирубин, мг %
0,035	0,119±0,018
0,083	0,149±0,031
0,5	>0,2
0,093	0,065±0,023
0,2	>0,05
0,073	0,124±0,023
0,05	>0,5
0,066	0,067±0,023
0,2	>0,05
0,060	0,127±0,040
0,5	>0,5
0,123	0,047±0,015
0,01	<0,01
0,089	0,099±0,025
0,5	>0,5
0,123	0,060±0,016
0,01	<0,02
0,066	0,078±0,029
0,5	>0,2
0,039	0,120±0,020
0,2	>0,5
0,100	0,124±0,038
0,5	>0,5
0,141	0,094±0,028
0,5	>0,2
0,049	0,081±0,013
0,2	>0,05

Продолжение табл. 2

День опре- деления	Доза неро- бола мг/100 г	Статисти- ческие показате- ли	Общий били- рубин, мг %	Фракции		
				Сводный били- рубин, мг %	Диглокуронидби- лирубин, мг %	Моноглокуронид- билирубин, мг %
60	0,5	n=10				
		$M \pm m$	0,502±0,085	0,095±0,011	0,318±0,086	0,089±0,018
		p	>0,05	>0,2	>0,1	>0,05
	1	n=10				
		$M \pm m$	0,555±0,075	0,061±0,014	0,415±0,050	0,079±0,020
		p	>0,1	>0,1	>0,2	>0,1

3,50±0,05, а количество β- и γ-глобулинов увеличилось до 1,30±0,04 и 1,25±0,03 при норме 1,02±0,02 и 1,08±0,02, соответственно. Клиренс БСФ снизился почти на 50%. Увеличилось содержание общего билирубина за счет диглокуронидбилирубиновой фракции. Наблюдается также выход в кровь индикаторных ферментов, что выразилось в усилении активности в сыворотке крови сорбитдегидрогеназы (0,022±0,001 при норме 0,018±0,001), аргиназы (930±166 при норме 532±46) и щелочной фосфатазы (40,6±1,71 при норме 22,1±1,64). На 40 день исследования наблюдалась частичная нормализация происшедших изменений, однако осталась еще увеличенной β-глобулиновая фракция белка сыворотки крови; содержание общего билирубина хотя и нормализовалось, но свободная его фракция была выше нормы; активность лактатдегидрогеназы увеличилась до 45,9±2,3 при норме 36,7±1,5, осталась повышенной также активность аргиназы и щелочной фосфатазы (табл. 1), но уже в меньшей степени, чем на 30 день исследования. На 50 и 60 дни эксперимента все показатели, кроме незначительного увеличения содержания β-глобулинов и активности аргиназы (на 50 день) полностью нормализовались.

Во II и III группах, кроме уже перечисленных изменений, наблюдалось снижение в сыворотке крови уровня холестерина, что, по данным литературы [6], характерно для действия анаболических стероидных гормонов, а также снижение активности некоторых ферментов в сыворотке крови (табл. 1) в начальные сроки исследования (10—20 день) и в конце его (60 день), что можно объяснить перераспределением белка в органах.

Ежедневное введение неробола в дозе 2 мг/100 г (IV группа) вызывает изменения функционального состояния печени, аналогичные наблюдаемым у животных III группы, только наступают они в более ранние сроки. Уже на десятый день исследования снизилось содержание альбумина и увеличилась γ-глобулиновая фракция белка. Клиренс БСФ снизился до 0,0535±0,0058 при норме 0,0800±0,0028. Количество билирубина увеличилось за счет двух фракций: диглокуронидбилирубина и свободной его фракции (табл. 2). Повысилась активность лактатдегидрогеназы с 36,7±1,5 в норме до 43,9±3,30; аргиназы и щелочной фосфатазы в два раза. На двадцатый день исследования все перечисленные изменения сохранялись, хотя в менее выраженной форме, чем на десятый день исследования (табл. 1, 2, 3). А на 30 день отмечается нормализация показателей функционального состояния печени, подобная наблюдаемой у экспериментальных животных III группы, — начиная с 50 дня исследования, все показатели функциональных и биохимических проб печени достоверно не отличались от контрольных.

Таблица 3

Влияние различных доз неробола на содержание белка и его фракций в сыворотке крови крыс

Исследуемый показатель	Норма	Доза неробола, мг/100 г	Статистические показатели	Дни исследований					
				10	20	30	40	50	60
Общий белок, г %	n=60 7,2±0,10	0,5	n M±m p	10 7,4±0,19 >0,2	10 7,0±0,14 >0,2	10 6,9±0,19 >0,1	10 6,9±0,15 >0,1	10 7,4±0,15 >0,2	10 7,5±0,16 >0,1
		1	n M±m p	10 7,6±0,30 >0,1	10 7,6±0,36 >0,2	20 7,6±0,30 >0,2	15 7,4±0,25 >0,5	15 7,4±0,17 >0,5	10 7,8±0,08 <0,001
		2	n M±m p	20 7,0±0,16 >0,2	20 6,9±0,13 >0,1	10 7,1±0,21 >0,5			
	n=60 3,70±0,05	0,5	n M±m p	10 3,80±0,07 >0,2	10 3,70±0,05 >0,5	10 3,50±0,09 <0,05	10 3,60±0,09 >0,2	10 3,75±0,09 >0,5	10 3,75±0,10 >0,5
		1	n M±m p	10 3,90±0,09 <0,05	10 3,85±0,05 <0,05	20 3,50±0,04 <0,001	15 3,70±0,07 >0,5	15 3,75±0,09 >0,5	10 3,80±0,10 >0,2
		2	n M±m p	20 3,50±0,06 <0,02	19 3,50±0,08 <0,05	10 3,65±0,06 >0,5			
α-глобулин, г %	n=60 1,40±0,03	0,5	n M±m p	10 1,45±0,03 >0,2	10 1,35±0,08 >0,5	10 1,30±0,06 >0,1	10 1,35±0,05 >0,2	10 1,45±0,04 >0,2	10 1,45±0,05 >0,2
		1	n M±m p	10 1,50±0,05 >0,05	10 1,50±0,05 >0,05	20 1,55±0,09 >0,05	15 1,30±0,08 >0,2	15 1,30±0,08 >0,2	10 1,50±0,06 >0,1
		2	n	20	19				

группа	показатель	норматив	результат	оценка
I	α-глобулин, г %	n=60 1,40±0,03	3,90±0,09 p	3,85±0,05 p
			3,50±0,06 p	3,50±0,08 p
			3,70±0,07 p	3,75±0,09 p
			3,80±0,10 p	3,80±0,10 p
II	β-глобулин, г %	n=60 1,02±0,02	1,05±0,07 p	1,10±0,03 p
			1,15±0,07 p	1,15±0,07 p
			1,25±0,04 p	1,25±0,04 p
			1,35±0,06 p	1,35±0,06 p
III	γ-глобулин, г %	n=60 1,08±0,02	1,10±0,03 p	1,10±0,03 p
			1,15±0,07 p	1,15±0,07 p
			1,25±0,04 p	1,25±0,04 p
			1,35±0,06 p	1,35±0,06 p

Анализируя полученные данные, можно заключить, что введение неробола в дозе 0,5 мг/100 г через день не приводит к существенным изменениям функционального состояния печени. Неробол, вводимый крысам в дозе 1 мг/100 г через день, в начальные сроки исследования не вызывает других изменений, кроме стимуляции белковообразовательной функции печени, но с 30 дня исследования наблюдаются значительные нарушения функций печени, которые сохраняются до 40 дня и почти полностью исчезают на 50 и 60 день исследования. Ежедневное введение неробола в дозе 2 мг/100 г вызывает аналогичные изменения функционального состояния печени, но в более ранние сроки (10 день исследования), которые сохраняются и на 20 день; эти изменения также обратимы — на 30 день исследования все исследуемые показатели функционального состояния печени не отличаются от контрольных.

Таким образом, нежелательное влияние неробола на функциональное состояние печени зависит от дозы препарата: увеличение дозы усиливает отрицательное побочное действие его. При этом пропорциональной зависимости не обнаружено. Характер изменений биохимических и функциональных проб печени указывает на то, что происходит как нарушение мембран гепатоцитов — выход ферментов в кровь, так и возникновение явлений внутрипеченочного холестаза (повышение содержания диглюкуронидбилирубина и активности щелочной фосфатазы), а также нарушается детоксикационная функция печени (снижение клиренса БСФ).

Выводы

1. Под влиянием неробола возникают некоторые нарушения деятельности печени. Чем выше доза препарата, тем быстрее проявляется его побочное действие.
2. Глубина поражения печени под влиянием неробола не находится в пропорциональной зависимости от дозы препарата.
3. Изменения функциональных и биохимических проб печени, которые происходят под влиянием неробола — обратимы; нарушенные функции печени нормализуются несмотря на дальнейшее введение препарата.

Литература

1. Алимova М. М. Микрометод определения неорганического фосфора, щелочной фосфатазы в сыворотке крови и неорганического фосфора в моче. — Лабор. дело, 1964, № 6, с. 346—348.
2. Василенко В. Х., Широкова К. И. Современные проблемы гастроэнтерологии. — Клинич. медицина, 1972, 50, № 1, с. 153—156.
3. Волков Н. Ф. Анаболические стероиды и функциональное состояние печени. — Клинич. медицина, 1972, 50, № 12, с. 63—67.
4. Гурвич А. Е. Изучение сывороточных белков методом электрофореза на фильтровальной бумаге. — Лабор. дело, 1955, № 3, с. 3—9.
5. Коровкин Б. Ф. Ферменты в диагностике инфаркта миокарда. М., 1965. 127 с.
6. Луценко М. Т., Чертов А. Д. Механизм действия йодистого натрия, морской капусты и метиландростендиола на обмен холестерина в печени. — Актуальные вопросы эндокринологии. Благовещенск, 1972, с. 232—233.
7. Мансурова И. Д., Калеткина Л. Г. Микрометод определения активности аргиназы в сыворотке крови. — Лабор. дело, 1969, № 4, с. 219—221.
8. Олейник Б. В. Методика оценки функции печени у крыс бромсульфоталеиновым методом. — Вопросы эндокринологии и обмена веществ. Киев, 1970, 1, с. 108—110.
9. Преображенский А. П. О стероидных препаратах анаболического действия. — Пробл. эндокринологии и гормонотер., 1965, № 5, с. 125—127.
10. Пыrkov А. М., Соколова Т. А., Малкина И. И. Быстрое определение активности сорбиддегидрогеназы в сыворотке крови. — Лабор. дело, 1971, № 1, с. 30—31.
11. Bodansky A. Phosphatase studies. II. Determination of serum phosphatase: factors influencing the accuracy of the determination. — J. Biol. Chem., 1933, 101, p. 93—95.

12. Bodansky O. Ser.
13. Caboud P., Wro
- Path., 1958, 30, N
14. Eberlein W. R. A
- rics, 1960, 25, p. 8
15. Gilbert E. F., Da
- nation Following
- 539.
16. Ilca L. Untersuc
- Serum. — Z. Ges.
17. Jyer S. W., Krisl
- ginase Activity. —
18. Kühböck J., Rad
- bolikatherapie. —
19. Lennon H. D. Re
- lein (BSP) reten
20. Lewis A. E. Inve
- siol., 1950, 163, p.
21. Lowry O. H., Ro
- Phenol reagent. —
22. Rosenthal S. M.,
- hepatic function. —

Лаборатория экспер
Киевского инсти
и обл

INFLUE

Dynamics of the
period of 1-2 months
100 g of weight ever
of nerobol on the fu
The character of the
sidering that both th
in blood) and appea
cunonide-bilirubin co
as a disturbance of
monosulphophthalei
tests appearing with
of the liver functions

Laboratory of Exper
Institute of Endocrin

12. Bodansky O. Serum phosphohexose isomerase.— J. Biol. Chem., 1953, 202, p. 829—840.
13. Caboud P., Wroblewsky F. Lactic dehydrogenase activity in blood.— Amer. J. Clin. Path., 1958, 30, N 3, p. 234—237.
14. Eberlein W. R. A new method for total, free and conjugated serum bilirubin.— Pediatrics, 1960, 25, p. 878—881.
15. Gilbert E. F., Da Silva A. Q., Queen D. M. Intrahepatic Cholestasis with Fatal Termination Following Norethandrolone Therapy.— J. Amer. Med. Assoc., 1963, 185, p. 538—539.
16. Ilca L. Untersuchungen zur Photometrischen Bestimmung des Gesamtcholesterins im Serum.— Z. Ges. inn. Med., 1962, 17, S. 83—85.
17. Iyer S. W., Krishna Murti C. R. Colorimetric Method for Rapid Determination of Arginase Activity.— Experientia, 1952, N 8, p. 308—311.
18. Kühböck J., Radaszkiewicz T., Welek H. Peliosis hepatis, eine Komplikation der Anabolikatherapie.— Med. Klin., 1975, 70, N 40, p. 1602—1607.
19. Lennon H. D. Relative effects of 17 α -alkylated anabolic steroids on sulfobromophthalein (BSP) retention in rabbits.— J. Pharmacol., 1966, 151, p. 143—150.
20. Lewis A. E. Investigation on hepatic function by clearance techniques.— Amer. J. Physiol., 1950, 163, p. 53—63.
21. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L. et al. Protein measurement with the Folin Phenol reagent.— J. Biol. Chem., 1951, 193, p. 265—275.
22. Rosenthal S. M., White E. C. Clinical application of the bromsulphophthalein test for hepatic function.— J. Amer. Med. Assoc., 1925, 84, N 15, p. 1112—1114.

Лаборатория экспериментальной фармакологии
Киевского института эндокринологии
и обмена веществ

Поступила в редакцию
27.V 1977 г.

N. M. Doroshenko

INFLUENCE OF NEROBOL ON FUNCTIONAL STATE OF LIVER

Summary

Dynamics of the functional state of the liver was studied (every 10 days during a period of 1-2 months) with administration of different doses of nerobol (0.5 and 1 mg per 100 g of weight every second day and 2 mg per 100 g of weight daily). The negative effect of nerobol on the functional state of the liver is shown to depend on the preparation dose. The character of the changes in functional and biochemical tests of the liver permits considering that both the fesion of the hepatocyte membranes (excretion of indicator enzymes in blood) and appearance of the intrahepatic cholestase phenomena (an increase in diglucuronide-bilirubin contents and the alkaline phosphatase activity in blood serum) as well as a disturbance of the detoxication function of the liver (a decrease in clearance of bromsulphophthalein in blood) takes place. Changes in the liver functional and biochemical tests appearing with administration of nerobol are of a reversible character. Normalization of the liver functions occurs despite the further administration of the preparation.

Laboratory of Experimental Pharmacotherapy,
Institute of Endocrinology and Metabolism, Kiev