

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 16, №1

2017



МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ**ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ**

УДК 615.276:616.36-008.6-06]-085.272

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ В ПЕЧЕНИ КРЫС С ИНТОКСИКАЦИЕЙ ПАРАЦЕТАМОЛОМ: ЛЕЧЕБНОЕ ДЕЙСТВИЕ ТАУЦИНА

© Радковец А.Ю., Бартош А.Н., Кротков К.О., Бушма М.И.

Гродненский государственный медицинский университет, Республика Беларусь, 230023, Гродно, ул. Большая Троицкая, 4

Резюме: целью исследования явилось изучение гепатозащитного действия комбинации таурина с цинка диаспаратом (Тауцин) у крыс с поражением печени парацетамолом. В эксперименте на 40 беспородных крысах-самцах с помощью гистохимических исследований печени и биохимических исследований крови установлено, что введение в желудок парацетамола (2,5 г/кг – 5 доз) оказывает повреждающее действие на печень. Это сопровождается ингибированием в гепатоцитах активности СДГ (сукцинатдегидрогеназы), ЛДГ (лактатдегидрогеназы), НАДН-ДГ (дегидрогеназы никотинамида-аденина-динуклеотида восстановленного) и КФ (кислой фосфатазы); увеличением в плазме активности АлАТ (аланинаминотрансферазы), АсАТ (аспартатаминотрансферазы), ЩФ (щелочной фосфатазы) и содержания общего билирубина, его конъюгированной фракции, холестерина. Комбинация таурина (50 г/моль; 6,25 г) с цинка диаспаратом (1 г/моль; 0,35 г) – «Тауцин-50» (в желудок 0,50 г/кг/день – 10 доз) обладает гепатозащитным действием. Гепатозащитное действие «Тауцин-20» (0,5 г/кг/день – 10 доз) менее выражено.

Ключевые слова: крысы, поражение печени парацетамолом, комбинация таурина с цинка диаспаратом, гепатозащитное действие

METABOLIC AND FUNCTIONAL DISTURBANCES IN THE LIVER OF RATS WITH INTOXICATION BY PARACETAMOL: HEPATOPROTECTIVE ACTION OF TAUCIN

Radkovets A.U., Bartosh A.N., Krotkov K.O., Bushma M.I.

Grodno State Medical University, Republic of Belarus, 230023, Grodno, Bolshaya Troitskaya St., 4

Summary: the purpose of the study was to investigate the hepatoprotective action of combination of taurine with zinc diaspertate (Taucin) in rats with liver damage caused by paracetamol. In experiments on 40 outbred male rats by histochemical studies of the liver and blood biochemical studies it was shown that inserted into the stomach paracetamol (2.5 g/kg – 5 doses) causes liver damage. It is accompanied by inhibition of activity of SDH (succinate dehydrogenase), LDH (lactate dehydrogenase), NADP (nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate), and ACP (acid phosphatase) in hepatocytes; increase in activity of ALAT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransferase), ALP (alkaline phosphatase) and the content of total bilirubin and its conjugated fraction, cholesterol in the plasma. Combination of taurine (50 g/mol; 6.25 g) with zinc diaspertate (1 g/mol; 0.35 g) – "Taucin" (inserted into the stomach 0.5 g/kg/day – 10 doses) has a hepatoprotective effect. Hepatoprotective action of "Taucin-20" (0.5 g/kg/day – 10 doses) is less than that of "Taucin-50".

Key words: rats, paracetamol liver disease, combination of taurine with zinc diaspertate, hepatoprotective action

Введение

Токсические поражения печени широко распространены в клинической практике. Они вызываются лекарственными средствами (парацетамол и др.), химическими соединениями (тетрахлорметан и др.), спиртом этиловым, ядовитыми грибами (бледная поганка и др.), продуктами жизнедеятельности микроорганизмов (афлотоксин В и др.). В тяжелых случаях развивается цирроз печени, приводящий к летальному исходу [4]. Недостаточная эффективность современных гепатотропиков является основанием для поиска новых средств данного класса. В настоящем исследовании изучены гепатозащитные свойства комбинации таурина с цинка диаспаратом у крыс с поражением печени парацетамолом. Основанием для этого явились известные гепатотропные свойства таурина (детоксикация цитотоксичных желчных кислот с образованием таурохолатов, антиоксидантные и осморегуляторные) и цинка (кофактор более 200 ферментов внутриклеточного метаболизма) [5-7, 11, 12]. Предполагается, что компоненты

комбинации будут обладать потенцированным гепатозащитным действием. Целью исследования явилось изучение гепатозащитного действия комбинации таурина с цинка диаспартатом (Тауцин) у крыс с поражением печени парацетамолом.

Методика

Опыты были проведены на 40 беспородных белых крысах-самцах массой 200-250 г в соответствии с Хельсинской декларацией о гуманном обращении с животными. Парацетамол (Sigma, Германия) вводили в желудок в виде взвеси в слизи крахмала в дозе 2,50 г/кг через 1 день в течение 10 дней (5 доз). Испытывали следующие рецептуры Тауцина, составленные по принципу 1 г/моль цинка диаспартата (0,35 г) с различными г/молярными соотношениями таурина: 20 (2,50 г) – «Тауцин-20» и 50 (6,25 г) – «Тауцин-50». Их вводили в желудок в виде взвеси в слизи крахмала в дозе 0,50 г/кг/день в течение 10 дней. Контрольным крысам вводили слизь крахмала. Через 24 ч. после последнего введения веществ крыс лишали корма на сутки. Затем их декапитировали, собирали кровь и получали плазму; брали образцы печени для оценки нарушения процессов метаболизма в органе.

Методы оценки строения печени и активности ферментов в гепатоцитах: кусочки печени замораживали в жидком азоте и, после монтирования на объектодержателе по принципу «контроль-опыт», помещали в криостат фирмы «Leica CM 1850» при -15°C . Изготовленные одномоментно из материала контрольных и опытных животных криостатные срезы толщиной 10-14 мкм служили для определения активности СДГ по N. Nachlas et al. (1957), ЛДГ по R. Hess et al. (1958), НАДН-ДГ по N. Nachlas et al. (1958) и КФ по G. Gomori et al. (1950) [2].

Методы оценки маркерных биохимических показателей гепатотоксичности в плазме: определяли активность АлАТ, АсАТ, ЩФ; содержание холестерина, общего билирубина и его фракций при помощи рутинных лабораторных методов [1].

Количественную оценку полученных результатов проводили методом непараметрической статистики Манна-Уитни, применяя поправку Бонферрони с использованием пакета программ «Statistica» 6.0.437.0 для Windows (StatSoft, Inc., США), лицензионный номер 31415926535897 [3].

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследования было установлено, что парацетамол оказывает гепатотоксическое действие. На фоне его действия в гепатоцитах снижалась активность СДГ и ЛДГ, КФ и НАДН-ДГ. В плазме повышалась активность АлАТ, АсАТ, ЩФ; содержание общего и конъюгированного билирубина, а также общего холестерина и снижалась содержание белка (табл. 1).

Таблица 1. Влияние парацетамола (2,50 г/кг, 1 раз в 2 дня – 5 доз), отдельно, и в комбинации с «Тауцин-20», «Тауцин-50» (0,50 г/кг/день – 10 доз), вводимых в желудок в виде взвеси в слизи крахмала, на активность ферментов в гепатоцитах крыс

Изучаемые показатели (ЕДОП)	Условия опыта			
	Контроль	Парацетамол	Парацетамол + «Тауцин-20»	Парацетамол + «Тауцин-50»
СДГ	0,26 0,25; 0,27	0,23 0,23; 0,24 8,00(0,0015*) -	0,24 0,23; 0,25 24,00(0,049*) 31,50(0,162)	0,27 0,25; 0,28 37,00(0,326) 5,00(0,0007*)
ЛДГ	0,55 0,54; 0,61	0,35 0,32; 0,42 0,00(0,0002*) -	0,33 0,25; 0,43 0,00(0,0002*) 43,50(0,623)	0,45 0,43; 0,47 7,00(0,002*) 6,50(0,001*)
НАДН-ДГ	1,22 1,20; 1,23	0,95 0,94; 0,96 0,00(0,0002*) -	0,99 0,98; 1,01 0,00(0,0002) 4,00(0,0005)	1,00 0,98; 1,02 0,00(0,0002*) 4,00(0,0005*)
КФ	1,05 1,01; 1,07	0,80 0,79; 0,81 0,00(0,0002*) -	1,03 0,97; 1,07 36,50(0,307) 0,00(0,0002*)	1,20 1,16; 1,21 0,00(0,0002*) 0,00(0,0002*)

Примечание. Здесь и далее строки цифр: первая – значения Me, вторая – квартилей, третья и четвертая – U и p (в скобках) в сравнении с контрольными (третья строка значений в опытных группах) и получавшими парацетамол (четвертая строка значений в опытных группах) крысами. Звездочка – статистически значимые ($p < 0,05$) различия. ЕДОП – единицы оптической плотности

Также было установлено, что «Тауцин-20» обладает гепатозащитным действием: активность КФ повышалась на 29%; маркерные показатели гепатотоксичности в плазме (активность ЩФ, содержание общего билирубина и холестерина) снижались, соответственно на 20, 14 и 17% (табл. 1).

Более выраженное гепатозащитное действие было обнаружено у «Тауцин-50»: под его влиянием в гепатоцитах активизировались процессы метаболизма; каталитическая активность СДГ и ЛДГ, НАДН-ДГ и КФ повышалась, соответственно на 17 и 29; 5 и 50% (табл. 1); в плазме снижалась активность АлАТ, АсАТ и ЩФ, а также содержание общего билирубина, его конъюгированной формы и холестерина, соответственно на 43, 51 и 46; 18, 50 и 21 % (табл. 2).

Таблица 2. Влияние парацетамола (2,50 г/кг, 1 раз в 2 дня – 5 доз), отдельно, и в комбинации с «Тауцин-20», «Тауцин-50» (0,50 г/кг/день – 10 доз), вводимых в желудок в виде взвеси в слизи крахмала, на биохимические показатели гепатотоксичности в плазме

Изучаемые показатели	Условия опыта			
	Контроль	Парацетамол	Парацетамол + «Тауцин-20»	Парацетамол + «Тауцин-50»
АлАТ (Ед/л)	27,00 26,00; 28,00	49,00 46,00; 55,00 0,00(0,0002*) -	47,00 43,00; 50,00 0,00(0,0002*) 32,50(0,185)	28,00 27,00; 29,00 32,00(0,174) 0,00(0,0002*)
АсАТ (Ед/л)	32,00 30,00; 37,00	53,00 46,00; 56,00 0,00(0,0002*) -	49,00 35,00; 54,00 10,50(0,003*) 37,00(0,326)	26,00 25,00; 27,00 2,00(0,0003*) 0,00(0,0002*)
ЩФ (Ед/л)	140,00 131,00; 144,00	261,00 256,00; 265,00 0,00(0,0002*) -	209,00 189,00; 216,00 0,00(0,0002*) 0,00(0,0002*)	141,00 126,00; 168,00 45,50(0,734) 0,00(0,0002*)
Билирубин (мкмоль/л): общий,	4,11 3,91; 4,26	5,07 4,58; 5,17 3,00(0,0004*) -	4,37 4,03; 4,62 23,00(0,041*) 14,00(0,0065*)	4,15 3,91; 4,25 48,50(0,909) 2,50(0,0004*)
конъюгированный,	0,68 0,60; 0,72	1,88 1,62; 1,97 0,00(0,0002*) -	1,56 1,35; 1,64 0,00(0,0002*) 24,50(0,054)	0,94 0,84; 0,99 6,00(0,0009) 1,00(0,0002*)
неконъюгированный.	3,43 3,27; 3,54	3,19 3,17; 3,41 27,50(0,09) -	2,81 2,56; 2,95 5,00(0,0006*) 7,00(0,001*)	3,21 2,99; 3,36 25,50(0,064) 47,00(0,820)
Холестерол (ммоль/л)	1,40 1,35; 1,48	2,39 2,29; 2,50 0,00(0,0002*) -	1,98 1,89; 2,15 0,00(0,0002*) 16,00(0,010)	1,88 1,74; 2,29 0,00(0,0002*) 12,50(0,0045*)

Проведенный сравнительный анализ результатов гистохимических (печень) и биохимических (плазма) исследований свидетельствовал о том, что парацетамол в выбранной дозе, пути и длительности введения оказывал гепатотоксическое действие, судя по ингибированию процессов метаболизма в гепатоцитах и биохимическим маркерным показателям гепатотоксичности в плазме. Комбинация таурина с цинка диаспаратом обладает гепатозащитным действием, проявившемся в активизации сниженных процессов метаболизма в гепатоцитах и синхронном улучшении показателей гепатотоксичности в плазме. Сравнительный анализ двух комбинаций веществ («Тауцин-20» и «Тауцин-50») свидетельствует о большем вкладе таурина в развитии лечебного эффекта. Хорошо известна способность таурина обезвреживать гепатотоксичные желчные кислоты с образованием нетоксичных таурохолатов, а также «глутатионсберегающее» действие, обусловленное антиоксидантными свойствами. Кроме того, аминокислота выполняет регуляторную роль в процессах дифференциации и роста гепатоцитов [6, 7, 11]. Гепатозащитное действие цинка, по-видимому, обусловлено его кофакторной ролью в составе ферментов антиоксидантной (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза) и других систем. При этом следует учитывать тот факт, что потребность в микроэлементе значительно возрастает при повреждениях органов, как следствие его повышенного «расходования» в процессах восстановления утраченных клеточных структур [5, 12].

Выводы

1. Парацетамол, введённый 5-кратно внутривенно в слизи крахмала (2,50 г/кг через сутки) оказывал гепатотоксическое действие у крыс, проявившееся снижением активности ключевых ферментов метаболизма, а также нарушением функции печени.
2. Комбинация таурина с цинка дигидратом – «Таурин-50» и, в меньшей степени, «Таурин-20» в (общей дозе 0,50 г/кг/сут) – оказывала гепатозащитное действие, проявившееся в повышении активности СДГ, ЛДГ, НАДН-ДГ и КФ; снижении в плазме активности АлАТ, АсАТ, ЩФ, а также содержания общего билирубина, его конъюгированной формы и холестерина.

Литература

1. Камышников В.С. Клинико-лабораторная диагностика заболеваний печени. – М.: МЕДпресс-информ, 2013. – 96 с.
2. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. – М.: Иностранная литература, 1962. – 962 с.
3. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
4. James L.P., Letzig L., Simpson P.M. et al. Pharmacokinetics of acetaminophen-protein adducts in adults with acetaminophen overdose and acute liver failure // Drug Metabolism and Disposition. – 2009. – V.37, N8. – P. 1779-1784.
5. Formigari A., Irato P., Santon A. Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: biochemical and cytochemical aspects // Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. – 2007. – N146. – P. 443-459.
6. Harada H. Oral taurine supplementation prevents the development of ethanol-induced hypertension in rats // Hypertension Research. – 2000. – N23. – P. 277-284.
7. Manovitskaia A.V. Clinical effects of application of taurines in patients with metabolic syndrome // Voprosy pitaniia. – 2011. – V.80, N3. – P. 57-61.
8. Razvodovsky Y.E., Doroshenko E.M., Naumov A.V. Taurine and zinc can prevent ethanol induced hyperhomocysteinemia // Journal of Nutrition. – 2007. – V.42, N1. – P. 158-159.
9. Savas S. Effect of six weeks aerobic training upon blood trace metals levels // Neuroendocrinology letters. – 2006. – V.27. – P. 822-827.
10. Timbrell J.A. The in vivo and in vitro protective properties of taurine // General Pharmacology: The Vascular System. – 1995. – V.26, N3. – P. 453-462.
11. Wellinghausen N. Immunobiology of gestational zinc deficiency // British Journal of Nutrition. – 2001. – V.85. – P. 81-86.

Информация об авторах

Радковец Анастасия Юрьевна – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры фармакологии им. проф. М.В. Кораблева Гродненского государственного медицинского университета. E-mail: anfstas@inbox.ru

Бартош Алексей Николаевич – старший преподаватель кафедры фармакологии им. проф. М.В. Кораблева Гродненского государственного медицинского университета. E-mail: 68839119@mail.ru

Кротков Кирилл Олегович – студент Гродненского государственного медицинского университета. E-mail: pharma@grsmu.by

Бушма Михаил Иванович – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии им. проф. М.В. Кораблева Гродненского государственного медицинского университета. E-mail: pharma@grsmu.by