

НАРУШЕНИЕ ФУНКЦИИ И СТРОЕНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС ПАРАЦЕТАМОЛОМ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ТАУЦИНОМ

Пашко А.Ю., Зиматкин С.М., Барабан О.В., Борисенок О.А., Лелевич В.В., Шейбак В.М., Бушма М.И.

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

Целью исследования было изучение гепатозащитного действия комбинации таурина с цинка даспартамом («тауцин») у крыс с лекарственным поражением печени парацетамолом. В эксперименте на 50 беспородных крысах-самцах с помощью морфологических и гистохимических исследований печени, а также биохимических исследований крови установлено, что «тауцин» ослабляет проявления гепатотоксического действия парацетамола. Это проявлялось в нормализации биохимических маркеров гепатотоксичности в плазме крови, активности ферментов в гепатоцитах (гистохимически) и структуры печени.

Ключевые слова: крысы, интоксикация парацетамолом, комбинация таурина с цинка даспартамом, гепатозащитное действие.

Введение. Парацетамол – лекарственное средство, применяемое при болях легкой и средней степени выраженности в тех случаях, когда нет необходимости в противовоспалительном эффекте. Согласно литературным данным, он является основной причиной лекарственных поражений печени [1]. В механизмах гепатотоксичности ведущую роль играет его окисление цитохромом P450 печени с образованием электрофильного метаболита N-ацетил-p-бензохинона. Последний обезвреживается в реакции с восстановленным глутатионом, катализируемой глутатион-S-трансферазой. При истощении его внутриклеточных запасов неконъюгированный метаболит ковалентно связывается с макромолекулами гепатоцитов с развитием цитотоксичности [3].

Ключевая роль восстановленного глутатиона в детоксикации гепатотоксичного N-ацетил-p-бензохинона явилась основанием для успешного использования его предшественника – ацетилцистеина – при поражении печени парацетамолом.

В клинической медицине наиболее широко распространены бессимптомные формы «парацетамоловой» гепатотоксичности, развивающиеся при применении его лечебных доз и проявляющиеся преимущественным увеличением активности биохимических маркеров гепатотоксичности [1].

Цель исследования – изучить гепатозащитные свойства комбинации таурина с цинка даспартамом («тауцин») у крыс с поражением печени, вызванной парацетамолом.

Материалы и методы. Опыты проведены на 50 беспородных белых крысах-самцах массой 200-250 г в соответствии с Хельсинской декларацией о гуманном обращении с животными. Парацетамол (Sigma, Германия) в виде взвеси в слизи крахмала вводили внутривентрикулярно (1,5 г/кг через день, 5 доз). Испытывали следующие рецептуры «тауцина», составленные по принципу 1 г/моль цинка даспартата (0,35 г) с различными г/молярными соотношениями таурина: 5 (0,63 г) – «тауцин-5», 10 (1,25 г) – «тауцин-10» и 20 (2,50 г) – «тауцин-20». «Тауцин» (взвесь в слизи крахмала) вводили внутривентрикулярно (250 мг/кг/день × 10). Контрольные крысы получали слизь крахмала. Через 24 часа после последнего введения всех веществ животных лишали корма в течение 24 часов и декапитировали.

Результаты и их обсуждение. Парацетамол в дозе 1,5 г/кг оказал слабовыраженное гепатотоксическое действие. Регистрировались единичные участки вакуольной дистрофии, расположенные в дольках хаотично. Балочное строение органа не нарушено. Междольковые артерии и вены полнокровны. Синусоидные капилляры расширены: в большей степени в центре долек и в

меньшей – на периферии. Иногда наблюдалась лейкоцитарная инфильтрация. Выраженность изменений в популяции крыс одной группы варьировала в широких пределах.

Содержание липидов в печени снижено: незначительно – в центральных частях долек, в большей степени – по периферии. Выраженность изменений варьировала как среди долек одной крысы, так и в популяции животных.

Метаболизм в печени. У животных, получавших парацетамол, активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в печени по сравнению с контролем снижена, особенно в гепатоцитах, расположенных в центральных частях долек.

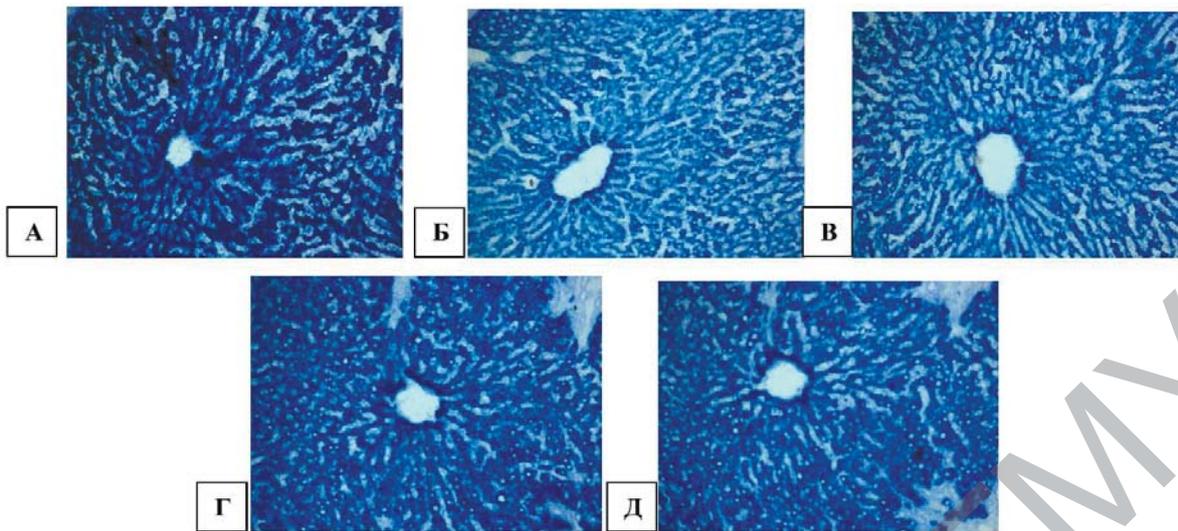
Одним из проявлений гепатотоксического действия парацетамола является снижение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в гепатоцитах (рис. 1).

Биохимические маркеры гепатотоксичности в плазме. У крыс, получавших парацетамол, активность алатаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ), γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП) и щелочной ф. Биохимические маркеры гепатотоксичности в плазме. У крыс, получавших парацетамол, активность алатаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ), γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП) и щелочной фосфатазы (ЩФ) превышала контрольные значения, соответственно, на 96 и 181, 42 и 67%. Содержание общего билирубина возрастало преимущественно за счет его конъюгированной формы. Содержание общего холестерина возрастало на 56% (табл. 1) осфатазы (ЩФ) превышала контрольные значения, соответственно, на 96 и 181, 42 и 67%. Содержание общего билирубина возрастало преимущественно за счет его конъюгированной формы. Содержание общего холестерина возрастало на 56% (табл. 1)

Оценка эффективности «тауцин-5»

Структура печени. Площадь поврежденной паренхимы меньше, чем у крыс, получавших только парацетамол. Цитоплазма гепатоцитов оксифильная. Микровакуолизация гепатоцитов, расположенных в центральной и периферической частях долек, расширение синусоидных капилляров, а также лейкоцитарная инфильтрация паренхимы печени менее выражены, чем у крыс, получавших только парацетамол.

Содержание липидов в печени снижено: в большей степени – в центральных частях долек, и в меньшей – по периферии. Капли липидов в гепатоцитах располагались по всей цитоплазме. Выраженность изменений в популяции крыс варьировала.



А – контроль; **Б** – парацетамол, активность ЛДГ снижена; **В** – парацетамол + «тауцин-5», активность ЛДГ повышена по сравнению с **Б**, гранулы более крупные; **Г** – парацетамол + «тауцин-10», активность ЛДГ повышена по сравнению с **Б** и **В**; **Д** – парацетамол + «тауцин-20», нет различий с **Г**.
Окраска по Гесс, Скарпелли, Пирсу $\times 100$

Рисунок 1 – Активность лактатдегидрогеназы в печени крыс

Таблица – Биохимические показатели гепатотоксичности в плазме крыс, получавших парацетамол (в желудок в слизи крахмала; 1,5 г/кг через день – 5 доз), отдельно и в комбинации с «тауцин-5», «тауцин-10» и «тауцин-20» (в желудок в виде взвеси в слизи крахмала, 250 мг/кг/день – 10 доз)

| Изучаемые показатели | Контроль | Парацетамол | Парацетамол + «тауцин-5» | Парацетамол + «тауцин-10» | Парацетамол + «тауцин-20» |
|-------------------------------|---------------------------|--|---|---|---|
| АлАТ (Ед/л) | 30,50 (29,00; 32,00) | 60,00 (52,00; 71,00) 0,00(0,0001) | 50,50 (48,00; 53,00) 0,00(0,0002) | 50,50 (46,00; 58,00) 0,00(0,0002) | 35,00 (30,00; 40,00) 25,5(0,06) 0,00(0,0002) |
| АсАТ (Ед/л) | 33,00 (30,00; 35,00) | 93,00 (87,00; 103,00) 0,00(0,0002) | 86,00 (81,00; 93,00) 0,00(0,0002) | 70,50 (63,00; 79,00) 0,00(0,0002) | 38,50 (33,00; 45,00) 20,5(0,03) 0,00(0,0002) |
| ГГТП (Ед/л) | 4,66 (4,36; 5,04) | 6,63 (6,14; 7,01) 0,00(0,0002) | 6,69 (5,77; 7,28) 0,00(0,0002) | 6,19 (5,48; 6,51) 2,00(0,0002) | 4,80 (4,04; 5,34) 48,00(0,88) 0,00(0,0001) |
| ЩФ (Ед/л) | 212,50 (195,00; 221,0) | 354,00 (290,0; 451,0) 0,00(0,0001) | 343,00 (299,00; 432,0) 0,00(0,0002) | 362,00 (291,00; 425,0) 0,00(0,0002) | 347,00 (308,00; 423,0) 0,00(0,0002) |
| Билирубин (мкмоль/л): общий, | 5,05 (4,90; 5,10) | 5,93 (5,55; 6,32) 4,00(0,0005) | 5,86 (5,73; 5,91) 0,00(0,0002) | 5,83 (5,62; 6,01) 0,00(0,0002) | 4,96 (4,73; 5,28) 44,00(0,65) 11,0(0,003) |
| неконъюгированный (мкмоль/л), | 4,19 (3,90; 4,29) | 4,39 (3,98; 4,59) 28,00(0,096) | 4,37 (3,95; 4,54) 30,00(0,13) | 4,29 (3,99; 4,39) 26,00(0,069) | 3,85 (3,57; 4,19) 25,00(0,059) 16,00(0,01) |
| конъюгированный (мкмоль/л), | 0,86 (0,62; 0,98) | 1,54 (1,34; 1,76) 0,00(0,0002) | 1,49 (1,39; 1,73) 0,00(0,0002) | 1,54 (1,39; 1,82) 0,00(0,0002) | 1,11 (1,02; 1,13) 10,00(0,002) 9,00(0,002) |
| Общий белок (г/л) | 72,48 (69,01; 73,96) | 70,60 (69,91; 71,09) 32,00(0,17) | 70,15 (69,00; 72,15) 33,00(0,19) | 70,56 (69,31; 71,52) 31,50(0,16) | 70,27 (69,69; 71,13) 33,00(0,19) 49,00(0,94) |
| Общий холестерол (мкмоль/л) | 1,48 (1,47; 1,49) | 1,45 (1,44; 1,48) 25,00(0,06) | 1,46 (1,44; 1,49) 34,00(0,23) | 1,46 (1,45; 1,49) 37,50(0,35) | 1,47 (1,47; 1,49) 45,50(0,74) 25,00(0,06) |

Примечание: Строки цифр: первая – значения M_e , вторая – квартиль, третья и четвертая – U и r (в скобках) в сравнении с контрольными (над чертой) и получавшими парацетамол (под чертой) крысами. Полу жирным шрифтом выделены статистически значимые ($p < 0,05$) различия

Метаболизм в печени. Активность СДГ по сравнению с крысами, получавшими парацетамол, снижена.

Каталитическая активность ЛДГ у большей части животных увеличена: на всей площади (в некоторых дольках) или по периферии. Гранулы (продукты реакции) – крупные. В гепато-

цитах отдельных крыс активность фермента не отличалась от аналогичного показателя у животных, получавших только парацетамол (рис. 1).

Суммарная активность КФ ниже, чем у крыс, получавших только парацетамол. У отдельных животных снижение фермента отмечалось по всей площади: как на билиарном, так и на васкулярном полюсах (рис. 2).

Биохимические маркерные показатели гепатотоксичности в плазме. Активность АлАТ и АсАТ снижалась, соответственно, на 16 и 8%, активность ГГТП и ЩФ, содержание билирубина и его фракций, а также общего белка и холестерина не отличались от значений у крыс, получавших только парацетамол (табл.).

Оценка эффективности «тауцин-10»

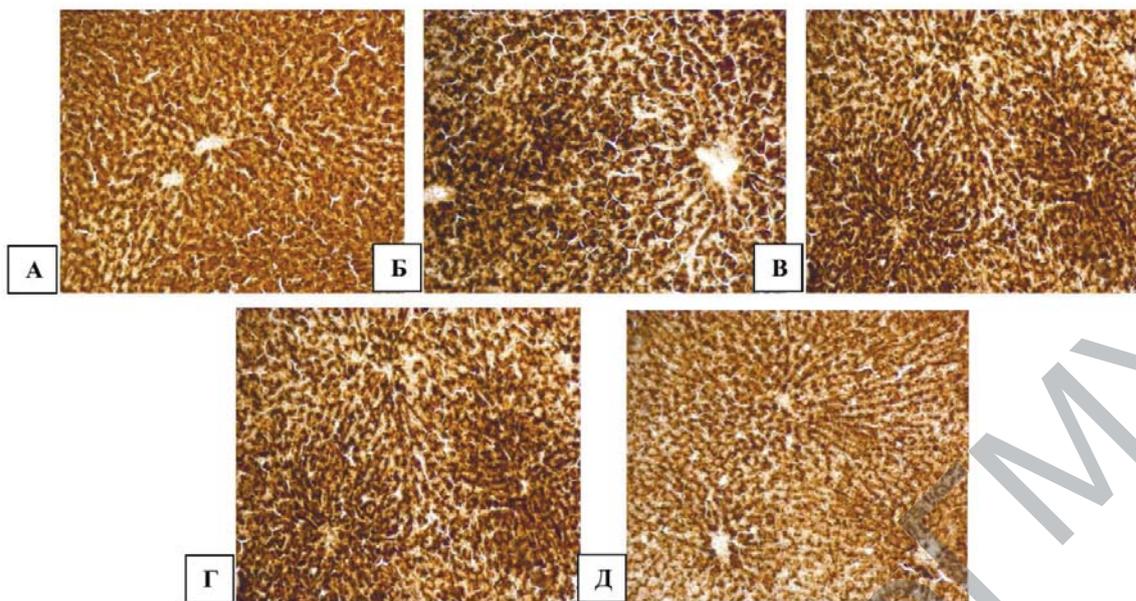
Структура печени. Участки поврежденной паренхимы меньших размеров. Микровакуолизация цитоплазмы гепатоцитов менее выражена, особенно на периферии долек. Синусоидные капилляры расширены незначительно, особенно в центральных частях долек. Инфильтрация лейкоцитами встречалась чаще. Содержание липидов снижено во всех частях долек.

Метаболизм в печени. Сниженная под влиянием парацетамола активность СДГ и ЛДГ повышалась: в периферической части долек (СДГ) и по всей их площади (ЛДГ). Продукты реакции последней крупноглыбчатые (см. рис. 1). Суммарная активность КФ не отличалась от предыдущей группы (см. рис. 2).

Биохимические маркеры гепатотоксичности в плазме. Активность АлАТ и АсАТ снижалась, соответственно, на 16 и 24%, активность ГГТП и ЩФ, содержание билирубина и его фракций, а также общего белка и холестерина оставались повышенными (см. табл.).

Оценка эффективности «тауцин-20»

Структура печени. Площадь поврежденной паренхимы меньшая. Гепатоциты, локализующиеся в участках поврежденной паренхимы периферических отделов долек, вакуолизированы в меньшей степени. Синусоидные капилляры расширены в большей степени, особенно в центральных частях долек. Регистрировалась лейкоцитарная инфильтрация. Содержание ли-



*А – контроль; Б – парацетамол, активность КФ повышена; В – парацетамол + «тауцин-5», активность ниже, чем в Б; Г – парацетамол + «тауцин-10», нет отличий от В; Д – парацетамол + «тауцин-20», активность КФ ниже, чем в предыдущих группах
Окраска по Гомори $\times 100$*

Рисунок 2 – Активность кислой фосфатазы в печени крыс

пидов в органе близко к таковому у контрольных крыс.

Метаболизм в печени. Сниженная в гепатоцитах крыс, получавших парацетамол, активность СДГ повышалась. Аналогичная закономерность характерна и для ЛДГ. Немногочисленные продукты ее реакции – крупноглыбчатые и расположенные под плазмолеммой. Активность КФ снижена, преимущественно в центре долек (см. рис. 1-2).

Биохимические маркеры гепатотоксичности в плазме. Активность АлАТ, АсАТ и ГГТП снижалась, соответственно, на 42, 59 и 28% по сравнению с крысами, получавшими парацетамол. Ослаблялась выраженность гипербилирубинемии. Содержание общего белка и общего холестерина в плазме крови не изменялось (см. табл. 1).

Выводы

1. Парацетамол (внутрижелудочно в слизи крахмала, 1,5 г/кг, 1 раз в два дня – 5 доз) оказывает слабовыраженное гепатотоксическое действие у крыс.

2. «Тауцин-20» (но не «тауцин-5», «тауцин-10»), вводимый в желудок в слизи крахмала, 250 мг/кг, 1 раз в день – 10 дней, обладает гепатозащитным действием.

Заключение. Сравнительный анализ результатов морфологических, гистохимических (печень) и биохимических (плазма) исследований свидетельствует о том, что парацетамол в выбранной дозе, пути и длительности введения оказывает сла-

бовыраженное гепатотоксическое действие, проявляющееся преимущественным увеличением активности биохимических маркеров гепатотоксичности в плазме и в меньшей степени – нарушениями процессов метаболизма и структуры печени.

Комбинация таурина с цинка диаспартатом оказывает гепатозащитное действие, проявляющееся снижением в плазме повышенной активности АлАТ, АсАТ, ГГТП и выраженности гипербилирубинемии. При этом уменьшается площадь поврежденной паренхимы печени и выраженность вакуольной дистрофии гепатоцитов. Процессы метаболизма в них улучшаются, о чем свидетельствует повышение сниженной активности СДГ и ЛДГ. В механизме гепатозащитного действия комбинации веществ, по-видимому, основную роль играет способность таурина обезвреживать гепатотоксичные желчные кислоты с образованием таурохолатов, его «глутатионсберегающее» действие, обусловленное антиоксидантными свойствами. Гепатозащитное действие цинка может быть опосредовано его ролью в качестве кофактора ферментов антиоксидантной защиты (супероксиддисмутаза, каталаза) [2, 4, 5]. Более выраженное гепатозащитное действие «тауцин-20» в сравнении с «тауцин-5» и «тауцин-10», по всей вероятности, обусловлено большим содержанием таурина в комбинации.

Литература

1. Катцунг Б.Г. Основные принципы / Б.Г. Катцунг // Базисная и клиническая фармакология: в 2 т. / Б.Г. Катцунг. – пер. с английского, 2-е изд., перераб. и доп. – Москва: «Бином», Санкт-Петербург: «Диалект», 2008. – Т. 1. – С. 94-95.

2. Кравчук, Р.И., Шейбак В.М., Егоров А.С. Анализ влияния некоторых аминокислот и их сочетаний с цин-

Literature

1. Kattsung B.G. Osnovnyye printsipy / B.G. Kattsung // Bazisnaya i klinicheskaya farmakologiya: v 2 t. / B.G. Kattsung. – per. s angliyskogo, 2-ye izd., pererab. i dop. – Moskva: «Binom», Sankt-Peterburg: «Dialekt», 2008. – T. 1. – S. 94-95.

2. Kravchuk R.I., Sheybak V.M., Yegorov A.S. Analiz vliyaniya nekotorykh aminokislot i ikh sochetaniy s tsinka sul'fatom na ul'trastrukturu pecheni pri intoksikatsii

ка сульфатом на ультраструктуру печени при интоксикации парацетамолом // Актуальные вопросы гепатологии: материалы 7 Международного симпозиума гепатологов Беларуси – Гродно, 2008. – Т.2 – С.102.

3. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский // 15-е изд., перераб., исправ. и доп. – М: Новая волна. – 2005. – С. 160-162.

4. Manovitskaia, A.V. Clinical effects of application of taurines in patients with metabolic syndrome/

A.V. Manovitskaia // Vopr Pitan. – 2011. – Vol. 80 (3). – P. 57-61.

5. Razvodovsky Y.E., Doroshenko E.M., Naumov A.V. Taurine and zinc can prevent ethanol induced hyperhomocysteinemia / Y.E. Razvodovsky, E.M. Doroshenko, A.V. Naumov [et al.] // J. Nutr. – 2007. – Vol. 42 (1). – P. 158-159.

paracetamolom // Aktual'nyye voprosy gepatologii: materialy 7 mezhdunarodnogo simpoziuma gepatologov Belarusi – Grodno, 2008. – Т.2 – С.102.

3. Mashkovskiy M.D. Lekarstvennyye sredstva / M.D. Mashkovskiy // 15-ye izd., pererab., isprav. i dop. – M: Novaya volna. – 2005. – S. 160-162.

4. Manovitskaia A.V. Clinical effects of application of taurines in patients with metabolic syndrome/ A.V. Manovitskaia // Vopr Pitan. – 2011. – Vol. 80 (3). – P. 57-61.

5. Razvodovsky Y.E., Doroshenko E.M., Naumov A.V. Taurine and zinc can prevent ethanol induced hyperhomocysteinemia / Y.E. Razvodovsky, E.M. Doroshenko, A.V. Naumov [et al.] // J. Nutr. – 2007. – Vol. 42 (1). – P. 158-159.

THE IMPAIRMENT OF FUNCTIONS AND STRUCTURE OF THE RAT LIVER CAUSED BY PARACETAMOL AND THEIR CORRECTION BY USING TAUCIN

Pashko A.U., Zimatkin S.M., Baraban O.V., Borisenok O.A., Lelevich V.V., Sheibak V.M., Bushma M.I.

Educational Establishment «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus

The aim of the study was to investigate the hepatoprotective action of taurine in combination with zinc diaspertate («taucin») in rats with predominant functional disturbances of liver, caused by paracetamol. We have established that «taucin» reduced the manifestation of paracetamol hepatotoxic action in the experiment on 50 male rats using morphological and histochemical studies of liver and biochemical studies of blood. It was manifested in the normalization of hepatotoxicity biochemical markers in plasma, the enzyme activity in hepatocytes (histochemical) and the structure of the liver.

Key words: rats, paracetamol intoxication, combination of taurine with zinc diaspertate, hepatoprotective action.

Адрес для корреспонденции: e-mail: anfstas@inbox.ru

Поступила 23.09.2014