

## ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ ЦИТОЛІЗУ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ПАРАЦЕТАМОЛОМ І ЙОГО КОРЕКЦІЯ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

*Встановлено, що ефективність сумісного впливу ентеросорбенту "Ентеросгель" і БАД "Альфа+омега" на активність аланін- та аспартатамінотрансферази і лужної фосфатази в плазмі крові щурів у віковому аспекті зменшувалася в ряді 1-місячні > 6-місячні > 12-місячні. При цьому така вікова динаміка позитивного впливу ентеросорбенту "Ентеросгель" і БАД "Альфа+омега" збігалася зі ступенем зростання активності вищевказаних показників у плазмі крові щурів, отруєних парацетамолом, порівняно з контрольними тваринами. Запропонований спосіб корекції активності ферментів цитолізу в лабораторних тварин, отруєних парацетамолом, може бути використаний при експериментальному вивченні токсичних гепатитів.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** парацетамол, печінка, ферменти цитолізу, поліненасичені жирні кислоти, енте-росгель.

ВСТУП. Актуальною проблемою сучасної фармакології є безпечність фармакотерапії парацетамолом, оскільки він належить до найбільш вживаних лікарських засобів, а реклама та необмежений продаж сприяють надзвичайно широкому його застосуванню населенням [1].

Разом із тим, цей препарат при тривалому використанні або передозуванні викликає різноманітні побічні ефекти, зокрема токсичний вплив на печінку і нирки [10]. Токсичні ефекти парацетамолу тісно асоційовані з особливостями його біотрансформації, наприклад з утворенням високореактивного інтермедіату N-ацетил-парабензохіцноміну (NPAHI), супероксидного радикала та здатністю парацетамолу і його метаболіту NPAHI стимулювати клітини Купфера, які є продуцентами оксиду азоту, надмірну кількість якого вважають потужним пошкоджувальним фактором [11].

При отруєнні парацетамолом як антидоти застосовують попередники біосинтезу глутатіону – N-ацетилцистеїн і метіонін [16]. Дані препарати мають обмеження в терміні використання (протягом 10–12 год після отруєння) та чинять детоксикуючу дію лише в межах II фази метаболізму, що є їх недоліком. Це вимагає пошуку нових способів корекції, здатних запобігати утворенню реактивних метаболітів, сприяти глутатіонозалежній кон'югації та проявляти антиоксидантну і цитопротекторну активність.

© М. І. Коваль, 2015.

Для лікування захворювань печінки різного генезу, зокрема медикаментозного [12], сьогодні широко використовують ентеросорбцію, що при порівняльній ефективності є простим, дешевим і безпечним методом, який можна застосовувати протягом тривалого часу з метою зменшення токсичного та метаболічного навантажень на печінку [7].

Одним із найефективніших ентеросорбентів, поширених в Україні, є препарат "Ентеросгель" (виробництва ЗАТ "ЕОФ "КРЕОМА-ФАРМ") – гель гідрооксиду метилсилікатної кислоти [14].

Ентеросгель полегшує перебіг гострих кишкових інфекцій, чинить стабілізуючу дію на мембрани гепатоцитів і гепатоцитарних лізосом, підвищує активність печінкових монооксидаз. Вказані властивості ентеросгелю в поєднанні з особливостями його сорбційної активності роблять цей препарат особливо перспективним для призначення паралельно з різними лікарськими засобами, молекулярна маса яких, як правило, не перевищує 1000 Дальтон, тобто перебуває в межах малої сорбційної активності [4].

З іншого боку, на даний час велику роль як цитопротектори (кардіопротектори, гепатопротектори та ін.) відіграють поліненасичені жирні кислоти родини  $\omega$ -3 у складі лікарських препаратів та біологічно активних добавок (БАД) [13, 15]. Під час попередніх досліджень ми розробили і запатентували ефективний спосіб [6] застосування цих кислот у складі

БАД “Альфа+омега” [5] для корекції показників ліпідного обміну, пероксидного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту при отруєнні парацетамолом (ОП) в експерименті.

З огляду на зазначене вище, метою даного дослідження було вивчити особливості змін активності ферментів цитолізу в плазмі крові 1-, 6- і 12-місячних білих щурів з токсичним ураженням парацетамолом та за умов корекції цих змін ентеросорбентом “Ентеросгель” і БАД “Альфа+омега”.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Дослідження проводили на 1-, 6- та 12-місячних щурах, яких утримували на стандартному раціоні віварію, що забезпечував потребу в основних елементах живлення. Методом рандомізації щурів поділили на три групи кожного вікового періоду по 6 тварин у кожній: 1-ша група – контрольні тварини; 2-га – контрольні тварини, отруєні парацетамолом; 3-тя – піддослідні тварини, яким вводили перорально препарат “Ентеросгель” і БАД “Альфа+омега” впродовж 7-ми діб після ОП.

Парацетамол вводили тваринам внутрішньошлунково за допомогою зонда в дозі 1250 мг/кг маси ( $0,5 LD_{50}$ ) у вигляді суспензії в 2 % розчині крохмального гелю 1 раз на добу протягом 2 днів [2]. Ентеросорбент “Ентеросгель” вводили також внутрішньошлунково, застосовуючи зонд, у вигляді 14 % суспензії з розрахунку 650 мг/кг маси. БАД “Альфа+омега” вводили внутрішньошлунково з використанням зонда з розрахунку 0,5 мл/кг маси щура [5].

Після завершення дослідження тварин декапітували під тіопенталовим наркозом. Для досліджень використовували кров, у плазмі якої визначали активність аспартат-амінотрансферази (АсАТ; КФ 2.6.1.1) та аланінамінотрансферази (АлАТ; КФ 2.6.1.2), а також активність лужної фосфатази (ЛФ; КФ 3.1.3.1) [9].

Усі проведені експериментальні дослідження відповідали принципам Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження”.

Одержані дані опрацьовували статистично [3].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Відомо, що вміст таких цитоплазматичних ферментів, як АлАТ і АсАТ, у плазмі крові та позаклітинному просторі тканин всіх тварин і людини відносно низький. Проте в здорових щурів активність АлАТ і АсАТ у декілька разів вища, ніж у люди-

ни, що зумовлено більш інтенсивним перебігом метаболізму [8].

Також відомо, що, незалежно від фактора, який ініціює реакцію окиснення або переокиснення ліпідів, зростає проникність мембран, що призводить до ряду змін всередині клітини і завершується пошкодженням мембран клітинних органел та виходом ферментів [8]. Цей процес відіграє важливу роль у розвитку синдрому ендогенної інтоксикації.

На пошкодження структури мембран клітин за умов дії парацетамолу, залежно від віку тварин, вказує зміна активності органоспецифічних ферментів АлАТ і АсАТ у плазмі крові щурів. Оскільки досліджувані ферменти локалізуються, відповідно, в цитозолі та лізосомах гепатоцитів, то за змінами їх активності можна оцінити ступінь пошкодження плазматичних і цитоплазматичних мембран гепатоцитів та стан печінки в цілому.

Як свідчать дані, наведені в таблиці, найнижчою активність АлАТ була у плазмі крові 1-місячних контрольних щурів порівняно із 6- і 12-місячними тваринами, що, очевидно, пов'язано з віковими особливостями метаболізму амінокислот та певними адаптаційними реакціями організму на пізніших етапах онтогенезу.

В результаті проведених досліджень встановлено, що ОП викликало у плазмі крові 1-, 6- і 12-місячних щурів достовірне підвищення активності АлАТ (в 1,8; 2,2 та 4,7 раза) й АсАТ (у 1,2; 1,6 та 2,4 раза) порівняно з контрольними тваринами (табл.). Збільшення активності АлАТ і АсАТ у плазмі крові піддослідних тварин свідчить про розвиток цитолітичного процесу в їх печінці, оскільки ці ферменти, розташовані в клітинах печінкової паренхіми, при їх некротичному пошкодженні виходять у кров. Отримані результати вказують також на вікові відмінності впливу парацетамолу на активність ферментів цитолізу в крові щурів, які проявляються зростанням активності як АлАТ, так і АсАТ з віком.

Активність ЛФ у плазмі крові 1-, 6- та 12-місячних щурів, отруєних парацетамолом, зростала і була, відповідно, в 1,6; 1,7 та 1,7 раза більшою, ніж у контрольних тварин (табл.). Це, очевидно, є ознакою розвитку внутрішньопечінкового холестазу та запального процесу, що супроводжує ураження паренхіми печінки. Разом із тим, підвищення активності АлАТ у плазмі крові щурів усіх вікових груп можна розглядати як посилення аланінглюкозного шляху метаболізму з викидом із клітин глюкози за рахунок її дефосфорилування збільшеним вмістом ЛФ [8].

Одночасне введення ентеросорбенту “Ентеросгель” і БАД “Альфа+омега” чинило позитивний коригувальний вплив на функціональний

Таблиця – Активність АлАТ, АсАТ і ЛФ (мккат/л) у плазмі крові щурів за отруєння парацетамолом при сумісній корекції ентеросорбентом “Ентеросгель” та БАД “Альфа+омега” (M±m, n=6)

Показник	Група тварин		
	1-ша контрольна	2-га дослідна (ОП)	3-тя дослідна (ОП+ентеросгель+БАД)
1-місячні			
АлАТ	0,75±0,05	1,36±0,08*	0,85±0,06 <sup>#</sup>
АсАТ	2,49±0,11	3,04±0,18*	2,62±0,14 <sup>#</sup>
ЛФ	8,71±0,47	13,99±0,98*	9,72±0,53 <sup>#</sup>
6-місячні			
АлАТ	1,45±0,05	3,13±0,19*	1,97±0,07 <sup>#</sup>
АсАТ	2,03±0,09	3,05±0,18*	2,32±0,12 <sup>#</sup>
ЛФ	8,84±0,52	14,64±1,11*	10,47±0,78 <sup>#</sup>
12-місячні			
АлАТ	1,54±0,06	7,19±0,48*	2,39±0,11 <sup>#</sup>
АсАТ	2,24±0,09	5,36±0,32*	2,58±0,13 <sup>#</sup>
ЛФ	8,94±0,54	15,36±1,31*	10,09±0,65 <sup>#</sup>

Примітки:

1. \* –  $p < 0,05$  порівняно з показниками, отриманими в контрольних тварин.
2. <sup>#</sup> – вірогідні відмінності в досліджуваних показниках у плазмі крові тварин 3-ї групи порівняно з такими в плазмі крові щурів 2-ї групи ( $p < 0,05$ ).

стан клітинних мембран різних органів, зокрема печінки, в щурів різного віку за ОП, що підтверджувалося достовірним зниженням активності АлАТ, АсАТ і ЛФ у плазмі крові.

При цьому найбільш виражений ефект такої дії спостерігали в 1-місячних тварин порівняно із 6- та 12-місячними. Так, активність АлАТ, АсАТ і ЛФ у плазмі крові 1-місячних щурів 3-ї групи, порівняно з їх активністю в плазмі крові тварин 2-ї групи (ОП), була нижчою, відповідно, у 1,69; 1,12 та 1,48 раза. У плазмі крові 6- та 12-місячних білих щурів 3-ї групи активність АлАТ, порівняно з її активністю в плазмі крові тварин 2-ї групи (ОП), була меншою, відповідно, у 3,27 і 3,16 раза, активність АсАТ – в 1,49 і 2,16 раза та активність ЛФ – у 1,39 і 1,58 раза. Наведені дані свідчать про значний нормалізуючий вплив ентеросорбенту “Ентеросгель” та БАД “Альфа+омега” за їх сумісного застосування на активність маркерів цитолізу в плазмі крові щурів усіх вікових категорій при введенні їх після моделювання ОП. Ефективність спільного впливу ентеросорбенту “Ентеросгель” і БАД “Альфа+омега” на активність досліджуваних ферментів у плазмі крові щурів у віковому аспекті зменшувалася в ряді 1-місячні > 6-місячні > 12-місячні. При цьому така вікова динаміка позитивного впливу ентеросорбенту “Ентеросгель” і БАД “Альфа+омега” збігалася зі ступенем зростання активності АлАТ, АсАТ і ЛФ у плазмі крові щурів, отруєних парацетамолом, порівняно з контрольними тваринами.

Загалом одержані результати свідчать про доцільність сумісного застосування ентеросор-

бенту “Ентеросгель” і БАД “Альфа+омега” при токсичному ураженні парацетамолом незалежно від віку організму.

**ВИСНОВКИ.** 1. Парацетамол у дозі 1250 мг/кг викликав гостре токсичне ураження печінки, що супроводжувалося зростанням активності в плазмі крові щурів індикаторів цитолізу, холестази і паренхімального запалення.

2. Одночасне введення білим щурам різних вікових груп, отруєним парацетамолом, ентеросорбенту “Ентеросгель” та БАД “Альфа+омега” призводило до достовірного зниження активності АлАТ, АсАТ і ЛФ у плазмі їх крові, що було найбільш вираженим в 1-місячних тварин порівняно із 6- та 12-місячними.

3. Ефективність сумісного впливу ентеросорбенту “Ентеросгель” і БАД “Альфа+омега” на активність досліджуваних ферментів у плазмі крові щурів у віковому аспекті зменшувалася в ряді 1-місячні > 6-місячні > 12-місячні. При цьому така вікова динаміка позитивного впливу ентеросорбенту “Ентеросгель” і БАД “Альфа+омега” збігалася зі ступенем зростання активності АлАТ, АсАТ і ЛФ у плазмі крові щурів, отруєних парацетамолом, порівняно з контрольними тваринами.

4. Запропонований спосіб корекції активності АлАТ, АсАТ і ЛФ у лабораторних тварин, отруєних парацетамолом, може бути використаний при експериментальному вивченні токсичних гепатитів.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Викторов А. П. Ацетаминофен (парацетамол) нестероидный противовоспалительный анальгетик-антипиретик / А. П. Викторов // Рациональная фармакотерапия. – 2010. – № 1. – С. 42–47.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. – К.: МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2001. – 527 с.
3. Ланкин Т. Ф. Биометрия / Т. Ф. Ланкин. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
4. Палий И. Г. Роль энтеросорбции в лечении заболеваний печени / И. Г. Палий // Провизор. – 2011. – № 3. – С. 41–44.
5. Пат. 14794 Україна. Біологічно активна харчова добавка “Альфа+Омега” / Покотило О. С. – № 200611181; заявл. 23.10.06; опубл. 10.06.07, Офіційний бюлетень “Промислова власність” № 8.
6. Пат. 42922 Україна. Спосіб корекції токсичного гепатиту / Коваль М. І., Покотило О. С., Шманько В. В. – № 200902084; заявл. 10.03.09; опубл. 27.07.09, Офіційний бюлетень “Промислова власність” № 14.
7. Посохова К. А. Эффективность энтеросорбции за умов медикаментозного ураження печінки / К. А. Посохова, О. О. Шевчук, О. М. Олещук // Мед. хімія. – 2011. – 13, № 4 (49). – С. 195.
8. Рослый И. М. Ферментемия – адаптивный механизм или маркер цитолиза / И. М. Рослый, С. В. Абрамов, В. И. Покровский // Вестн. РАМН. – 2002. – № 8. – С. 3–9.
9. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / пер. с англ. под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Лабинформ, 1997. – 325 с.
10. HepaRG cells: a human model to study mechanisms of acetaminophen hepatotoxicity / M. R. McGill, H. M. Yan, A. Ramachandran [et al.] // Hepatology. – 2011. – № 53 (3). – P. 974–982.
11. Hodgman M. J. A review of acetaminophen poisoning / M. J. Hodgman, A. R. Garrard // Crit. Care Clin. – 2012. – № 28. – P. 499–516.
12. Leise M. D. Drug-induced liver injury / M. D. Leise, J. J. Pterucha, J. A. Talwalkar // Mayo Clin Proc. – 2014. – № 89 (1). – P. 95–106.
13. Masterton G. S. Review article: omega-3 fatty acids – a promising novel therapy for non-alcoholic fatty liver disease / G. S. Masterton, J. N. Plevris, P. C. Hayes // Alimentary Pharmacology & Therapeutics. – 2010. – 31, № 7. – P. 679–692.
14. Nikolaev V. G. Enterosgel: original silicon-organic enterosorbent for civil military medicine / V. G. Nikolaev // In NATO 2009: BIODEFENCE. June 1st-6th Tashkent, June 7th-10th Samarkand, Uzbekistan. – P. 29.
15. Omega-3 supplementation and non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis / H. M. Parker, N. A. Johnson, C. A. Burdon [et al.] // Journal of Hepatology. – 2012. – 56, l. 4. – P. 944–951.
16. Saito C. Novel mechanisms of protection against acetaminophen hepatotoxicity in mice by glutathione and N-acetylcysteine / C. Saito, C. Zwingmann, H. Jaeschke // Hepatology. – 2010. – № 51 (1). – P. 246–254.

М. И. Коваль

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ЦИТОЛИЗА В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПАРАЦЕТАМОЛОМ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

### Резюме

Установлено, что эффективность совместного влияния энтеросорбента “Энтеросгель” и БАД “Альфа+омега” на активность аланин- и аспаратаминотрансферазы и щелочной фосфатазы в плазме крови крыс в возрастном аспекте уменьшалась в ряду 1-месячные > 6-месячные > 12-месячные. При этом такая возрастная динамика положительного влияния энтеросорбента “Энтеросгель” и БАД “Альфа+омега” совпала со степенью роста активности вышеуказанных показателей в плазме крови крыс при отравлении парацетамолом по сравнению с контрольными животными. Предложенный способ коррекции активности ферментов цитолиза у лабораторных животных, отравленных парацетамолом, может быть использован при экспериментальном изучении токсических гепатитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: парацетамол, печень, ферменты цитолиза, полиненасыщенные жирные кислоты, энтеросгель.

## AGE PECULIARITIES OF CYTOLYSIS' ENZYMES ACTIVITY IN CASE OF TOXIC INJURY BY PARACETAMOL AND ITS CORRECTION IN EXPERIMENT

### Summary

*The efficacy of simultaneous administration of enterosorbent "Enterosgel" and dietary supplement "Alpha+Omega" in age aspect decreased like that: 1-month > 6-month > 12-month. Such dynamics correlates with degree of rising of enzymes activity (AST, ALT and alkaline phosphatase) in rats blood plasma, which had acute Paracetamol poisoning compared with the intact rats. Such way of correction of ALT, AST and alkaline phosphatase activity in experiment with Paracetamol poisoning can be used for further studying of experimental toxic hepatitis.*

KEY WORDS: paracetamol, liver, cytolysis enzymes, polyunsaturated fatty acids, Enterosgel.

Отримано 29.04.15

Адреса для листування: М. І. Коваль, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.