

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ ПАРАЦЕТАМОЛУ НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У ЩУРІВ

Досліджено вплив парацетамолу на активність процесів ліпідної пероксидації і показники антиоксидантної системи щурів у різні вікові періоди. Встановлено, що прогресування патологічного процесу в печінці супроводжується інтенсифікацією процесів вільнорадикального окиснення, спричиняє істотне порушення компенсаторних механізмів, особливо стану ферментної та неферментної ланок антиоксидантної системи.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: парацетамол, вікові періоди, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, щури, печінка.

ВСТУП. Однією з важливих проблем медицини є ураження організму, що виникають у результаті використання медикаментозних препаратів, які при передозуванні пошкоджують організм в цілому, а найбільше – печінку як один з основних органів детоксикації. Лікарським препаратом, що при передозуванні викликає токсичну реакцію, вважають парацетамол (ацетамінофен, N-ацетил-p-амінофенол), який є активним метаболітом фенацетину з хімічно близькими йому властивостями [12, 13]. На сьогодні на фармацевтичному ринку України спостерігається збільшення кількості препаратів (понад 50) парацетамолу як вітчизняного, так і зарубіжного виробництва, які характеризуються різноманітністю лікарських форм – від таблеток, супозиторіїв до фруктових дитячих сиропів, що робить його зручним для застосування людьми всіх вікових груп. Популярність парацетамолу значно зростає, і це пов'язано з поширенням думки, що він є найбільш безпечним з усіх “малих анальгетиків” [1]. У терапевтичних дозах парацетамол має відносно невелику токсичність, проте відомо, а часто неконтрольоване приймання високих доз препарату може призвести до виникнення ускладнень. За даними медичних центрів США та Великої Британії, передозування парацетамолу є головною причиною гострої печінкової недостатності [12, 14]. Ураження печінки парацетамолом часто набуває форми фульмінантної печінкової недостатності та нерідко завершується смертю хворих [12]. Токсичні ефекти парацетамолу тісно асоційо-

вані з особливостями його біотрансформації, зокрема з утворенням високоактивного інтермедіату N-ацетил-пара-бензохіноніміну, супероксидного радикала [13, 15] та здатністю парацетамолу і його метаболіту N-ацетил-пара-бензохіноніміну стимулювати клітини Купфера, що є продуцентами оксиду азоту, надмірна кількість якого проявляє потужну пошкоджувальну дію.

Гепатотоксична дія парацетамолу значною мірою залежить від віку. Зокрема, новонароджені та молоді щури можуть проявляти як відносну стійкість до некрозогенного впливу препарату внаслідок низької активності цитохрому P-450, так і підвищену чутливість через недостатні ресурси глутатіону [10]. Для дітей та дорослих доза, терапевтичні інтервали і токсичний потенціал парацетамолу також є різними [1]. Тому метою даної роботи було дослідити вплив парацетамолу на процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і стан антиоксидантної системи (АОС) у щурів різних вікових періодів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 100 статевозрілих щурах-самцях трьох вікових періодів: статевонезрілих (молодих) віком 3 місяці, статевозрілих (дорослих) віком 6–8 місяців і старих віком 18–24 місяці, яких утримували на стандартному раціоні віварію ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”. Тварин було поділено на 2 групи: 1-ша – інтактні тварини; 2-га – тварини з гострим ураженням парацетамолом, який вводили внутрішньовшлун-

© І. М. Кліщ, Х. В. Погорецька, М. І. Куліцька, 2012.

ково в дозі 1250 мг/кг маси ($0,5 LD_{50}$) у вигляді суспензії в 2 % розчині крохмального гелю 1 раз на добу протягом 2 діб. Евтаназію щурів проводили в умовах знеболювання тіопенталнатрієм на 1-шу, 3-тю і 5-ту доби від останнього введення парацетамолу. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили, дотримуючись правил відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [3, 8]. Рівень дієнових кон'югатів (ДК) і вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) визначали за загальноприйнятими методиками [4, 9]. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД) за методом [11] у модифікації [6] і каталази (КТ) у крові [3] й печінці [7].

Отриманий у результаті експериментів цифровий матеріал обробляли за допомогою методів варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента [5]. Різницю між досліджуваними групами вважали достовірною при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Про інтенсивність процесів ПОЛ судили за вмістом ДК і ТБК-АП у сироватці крові та гомогенаті печінки. Результати досліджень, наведені в таблиці, показують, що за умов гострого ураження парацетамолом відбуваються значні зміни активності ліпопероксидації. Дія парацетамолу по-різному впливала на активність процесів ПОЛ у тварин різних вікових періодів. На 1-шу добу експерименту рівень ДК у печінці статевонезрілих щурів зростав на 47,8 %, у дорослих – на 30,2 %, а у старих – на 62,5 % порівняно з групою інтактних тварин відповідного вікового періоду. В сироватці крові статевонезрілих щурів також спостерігалось достовірне збільшення ДК відносно інтактних тварин (на 22 %), однак воно було менш вираженим, ніж у статевозрілих (110 %) і, особливо, старих (144 %) щурів. Варто відмітити, що у статевозрілих і старих тварин рівень ДК достовірно перевищував аналогічний показник молодих тварин, між старими і статевозрілими щурами суттєвої різниці не було.

Вміст ТБК-АП у печінці тварин всіх вікових періодів також достовірно відрізнявся від такого в інтактних тварин. На 1-шу добу експерименту в статевонезрілих щурів показник зростав на 47,8 %, дорослих і старих – на 14,7 та 62,5 % відповідно відносно контрольних тварин, тоді як у сироватці крові вміст ТБК-АП збільшувався на 93,3; 48,4 та 71,8 % порівняно з аналогічним показником у групі інтактних

тварин. Ми також зафіксували достовірну різницю показників статевонезрілих щурів від дорослих і старих.

Подальше зростання показників ПОЛ спостерігалось на 3-тю добу експерименту. При цьому рівень ДК і ТБК-АП у печінці збільшувався, відповідно, на 86,9 та 201,2 % у статевонезрілих щурів, у дорослих – на 163,9 і 154,3 % та у старих – на 198,8 і 202,8 % порівняно з такими ж показниками у контрольній групі тварин. У сироватці крові вміст ДК і ТБК-АП також був суттєво вищим порівняно з попередньою добою, причому ми відмітили достовірну різницю між віковими періодами, чого не було у печінці.

Аналогічна тенденція спостерігалась і на 5-ту добу дослідження. Причому більшість показників мала тенденцію до зростання у тварин усіх вікових періодів, лише концентрація ТБК-АП була дещо нижчою, ніж на 3-тю добу експерименту. Також відмічено достовірну різницю між досліджуваними показниками у сироватці крові молодих і дорослих та старих тварин.

Таким чином, гостре отруєння парацетамолом супроводжувалось суттєвим зростанням показників ліпідної пероксидації у тварин усіх вікових періодів, однак зростання у дорослих і старих тварин було достовірно вищим, ніж у молодих.

Стан антиоксидантного захисту можна розділити на дві лінії. До першої належать ті компоненти АОС, які руйнують активні форми кисню і не дають їм можливості взаємодіяти з поліненасиченими жирними кислотами мембранних фосфоліпідів та білковими молекулами. Серед них найбільше значення мають СОД і КТ. Результати експериментальних досліджень показали, що токсичне ураження щурів парацетамолом супроводжувалось вираженим пригніченням компонентів першої лінії АОС у щурів різних вікових періодів (табл.). Через добу від моменту останнього введення парацетамолу в крові достовірно знижувалась активність СОД – антиоксидантного ензиму, який відіграє ключову роль у захисті клітин при оксидативному стресі. Найбільш вираженого пригнічення зазнавав фермент у крові статевонезрілих та старих щурів, де його активність була в 1,7 і 1,8 раза нижчою за даний показник у групі інтактних тварин, тоді як у дорослих зменшення становило 1,3 раза. Дія парацетамолу призводила до зниження активності СОД і на 3-тю добу дослідження у тварин усіх вікових груп – на 51,5; 27,4 та 48,6 % відповідно у статевонезрілих, дорослих і старих щурів. На 5-ту добу експерименту активність СОД зростає лише у дорослих тварин – на 16,1 % порів-

Таблиця – Динаміка показників вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів і стану антиоксидантної системи в крові й гомогенаті печінки щурів різного віку з гострим отруєнням парацетамолом ($M \pm m$)

Показник	Біологічна рідина	Група тварин			
		інтактні (n=8)	уражені парацетамолом		
			1-ша доба (n=6)	3-тя доба (n=6)	5-та доба (n=6)
Статевонезрілі					
ДК, ум. од./мл	Сироватка крові	2,01±0,04	2,45±0,14**	3,01±0,03**	2,89±0,07**
ТБК-АП, мкмоль/л	Сироватка крові	3,14±0,07*	6,07±0,09**	9,28±0,28**	10,57±0,4**
ДК, ум. од./г	Гомогенат печінки	0,69±0,03*	1,02±0,02*	1,29±0,02*	1,44±0,08*
ТБК-АП, мкмоль/кг	Гомогенат печінки	0,86±0,01*	1,13±0,06**	2,59±0,06*	2,33±0,16*
КТ, ммоль/л	Кров	0,119±0,004*	0,087±0,002*	0,057±0,003*	0,051±0,005**
КТ, мкат/кг	Гомогенат печінки	5,41±0,06	3,92±0,11**	2,83±0,09*	3,22±0,12*
СОД, ум. од./мл	Кров	0,339±0,003*	0,193±0,005**	0,164±0,002**	0,151±0,002**
СОД, ум. од./г	Гомогенат печінки	3,27±0,06	3,03±0,09	2,38±0,05*	2,46±0,05*
Статевозрілі					
ДК, ум. од./мл	Сироватка крові	2,04±0,04	4,29±0,38*	3,99±0,15*	4,59±0,49*
ТБК-АП, мкмоль/л	Сироватка крові	4,75±0,14	7,05±0,31*	12,05±0,58*	13,54±0,68*
ДК, ум. од./г	Гомогенат печінки	0,86±0,03	1,12±0,06*	2,27±0,02*	2,64±0,03*
ТБК-АП, мкмоль/кг	Гомогенат печінки	1,16±0,07	1,51±0,05*	2,95±0,34*	2,34±0,09*
КТ, ммоль/л	Кров	0,153±0,011	0,103±0,005*	0,069±0,004*	0,075±0,007*
КТ, мкат/кг	Гомогенат печінки	5,79±0,23	4,68±0,24*	3,1±0,18*	3,22±0,27*
СОД, ум. од./мл	Кров	0,623±0,006	0,477±0,005*	0,445±0,005*	0,517±0,007*
СОД, ум. од./г	Гомогенат печінки	3,88±0,20	3,36±0,16	2,82±0,14*	2,97±0,24*
Старі					
ДК, ум. од./мл	Сироватка крові	1,89±0,05*	4,62±0,15*	4,48±0,11**	4,71±0,11*
ТБК-АП, мкмоль/л	Сироватка крові	4,43±0,15	7,61±0,09*	12,72±0,31*	13,64±0,29*
ДК, ум. од./г	Гомогенат печінки	0,80±0,02	1,30±0,04*	2,39±0,04*	2,69±0,02*
ТБК-АП, мкмоль/кг	Гомогенат печінки	1,08±0,04	1,75±0,04*	3,27±0,07*	3,04±0,06*
КТ, ммоль/л	Кров	0,123±0,002	0,069±0,001**	0,046±0,002**	0,043±0,002**
КТ, мкат/кг	Гомогенат печінки	5,51±0,10	3,15±0,09**	2,22±0,04**	2,25±0,05**
СОД, ум. од./мл	Кров	0,578±0,007*	0,351±0,008**	0,297±0,011**	0,292±0,021**
СОД, ум. од./г	Гомогенат печінки	3,62±0,20	3,05±0,04*	2,08±0,06**	2,13±0,03**

Примітка. * – різниця достовірна відносно інтактних тварин відповідної вікової групи; # – різниця достовірна відносно статевозрілих тварин у відповідні терміни дослідження.

няно з попередньою добою, тоді як у двох інших групах вона продовжувала зменшуватись, причому показники були достовірно нижчими від таких у дорослих щурів.

У печінці статевонезрілих і дорослих тварин на 1-шу добу досліду зміни були меншими – на 10,7 та 11,5 % відповідно відносно інтактних, тоді як у старих щурів активність СОД знизилась на 18,6 %. На 3-тю добу експерименту у тварин всіх вікових періодів вона продовжувала знижуватись порівняно з 1-ю добою. До закінчення експерименту (на 5-ту добу) було відмічено зростання активності СОД у печінці тварин усіх груп порівняно з попереднім терміном експерименту. Варто відмітити, що, якщо у статевонезрілих тварин не спостерігалось достовірного зниження ензимної активності в печінці, то у старих вона була достовірно меншою у всі терміни дослідження, а в дорослих – на 3-тю і 5-ту доби.

Відомо, що у процесі дисмутації супероксидного аніон-радикала утворюється пероксид водню, що відновлюється до H_2O пе-

реважно каталазою та глутатіонпероксидазою, причому в захисті клітин від оксидативного стресу, що спричиняє H_2O_2 в таких концентраціях, провідну роль відіграє каталаза [3]. Як показали результати проведеного нами дослідження, при ураженні щурів парацетамолом активність КТ у крові значно знижувалась. Через добу від моменту введення парацетамолу в молодих тварин активність КТ була меншою, порівняно з інтактними, на 36,8 %, а у дорослих і старих – на 48,5 та 78,3 % відповідно. На 3-тю добу експерименту активність ензиму достовірно знижувалась у сироватці крові тварин всіх вікових періодів, однак максимальне зниження зафіксовано у старих щурів – на 94,6 %. До 5-ї доби дослідження у статевонезрілих та старих тварин активність КТ продовжувала зменшуватись, а в дорослих даний показник почав зростати.

Під впливом парацетамолу активність КТ у печінці також значно пригнічувалась. На 1-шу добу експерименту відмічено достовірне зниження активності ферменту в печінці тварин

всіх вікових періодів, однак і тут виявлено вікові особливості. Якщо у статевонезрілих щурів показник був меншим, ніж в інтактних, на 38,1 %, то у старих – на 74,9 %, а в дорослих – на 23,7 %. Через 3 доби від останнього введення парацетамолу ми спостерігали подальше зниження активності КТ у печінці щурів усіх вікових періодів, причому найінтенсивніше – у старих тварин, в яких вона становила 40,4 % від норми для даної вікової групи. На 5-ту добу експерименту активність КТ у гомогенаті печінки молодих і дорослих тварин почала незначно зростати, а старих – залишалась на рівні 3-ї доби. За абсолютними показниками каталазна активність печінки у статевозрілих тварин достовірно відрізнялась від відповідного показника в старих і статевонезрілих.

Таким чином, під впливом парацетамолу ферменти першої лінії антиоксидантного захисту в крові й печінці зазнавали суттєвого пригнічення, однак у старих тварин воно було значно суттєвішим, ніж у молодих і дорослих.

ВИСНОВКИ. 1. Гостре отруєння парацетамолом спричиняє виражену інтенсифікацію процесів ліпопероксидації у крові й печінці щурів різних вікових періодів, про що свідчить зростання концентрації ДК і ТБК-АП, а також пригнічення першої лінії антиоксидантного захисту, що проявляється зниженням активності СОД та КТ.

2. Існують вікові особливості впливу парацетамолу на активність ліпоперекиснення ліпідів і стан АОС. Найбільш виражені зміни спостерігаються у статевонезрілих і старих тварин, причиною чого може бути нижчий вихідний рівень компонентів антиоксидантного захисту.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження вікових особливостей порушень процесів ліпідної пероксидації і стану антиоксидантної системи дозволить вдосконалити ранню діагностику отруєнь парацетамолом, а також стане підґрунтям для розробки адекватних методів їх профілактики та корекції.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Викторов А. П. Этот “новый-старый парацетамол” / А. П. Викторов // Современные проблемы токсикологии. – 1998. – № 2. – С. 87–91.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 115–128.
3. Дудин В. И. Колориметрическое определение перекиси водорода при измерении активности каталазы в крови / В. И. Дудин // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2008. – № 2. – С. 96–99.
4. Колесова О. Е. Пероксидное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова, А. А. Маркин, Т. Н. Федорова // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
5. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2000. – 320 с.
6. Макаревич О. П. Активность супероксиддисмутазы крови в острый период различных заболеваний / О. П. Макаревич, П. П. Голиков // Лаб. дело. – 1983. – № 6. – С. 24–27.
7. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
8. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А.]. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
9. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.
10. Трахтенберг І. М. Нариси вікової токсикології / за ред. І. М. Трахтенберга. – К. : Авіцена, 2005. – 256 с.
11. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
12. Cohen S. D. Acetaminophen induced hepatotoxicity / S. D. Cohen, D. J. Hoivik, E. A. Khairallah // Toxicology of the Liver. – New York: Raven Press, 1998. – P. 159–186.
13. Lieber C. S. Cytochrome P-450E1: its physiological and pathological role / C. S. Lieber // Physiological reviews. – 1997. – **77**, № 2. – P. 518–544.
14. Paracetamol toxicity: epidemiology, prevention and costs to the health-care system / C. L. Sheen, J. F. Dillon, D. N. Bateman [et al.] // Q. J. Med. – 2002. – **95**, № 9. – P. 609–619.
15. Thomsen M. S. Oxidative metabolism of acetaminophen (paracetamol) to a reactive species: Involved cytochrome P-450 enzymes and target toxicity related to covalent binding / M. S. Thomsen // Ugeskr. Laeger. – 1996. – **158**, № 28. – P. 4095–4096.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ПАРАЦЕТАМОЛА НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС

Резюме

Исследовано влияние парацетамола на активность процессов липидной пероксидации и показатели антиоксидантной системы крыс в различные возрастные периоды. Установлено, что прогрессирование патологического процесса в печени сопровождается интенсификацией процессов свободнорадикального окисления, вызывает существенное нарушение компенсаторных механизмов, особенно состояния ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: парацетамол, возрастные периоды, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система, крысы, печень.

I. M. Klishch, H. V. Pohoretska, M. I. Kulitska
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

THE AGE PECULIARITIES OF PARACETAMOL INFLUENCE ON LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT SYSTEM PARAMETERS IN WHITE RATS

Summary

The influence of paracetamol on lipid peroxidation activity processes and antioxidant system parameters in white rats of different age were investigated. Also there was found out that the progression of the pathological process in the liver is accompanied by intensification of free radical oxidation, which causes a deviation of compensatory mechanisms, especially the state of fermental and nonfermental links of the antioxidant system.

KEY WORDS: paracetamol, age periods, lipid peroxidation, antioxidant system, rats, liver.

Отримано 10.08.12

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