

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ПРОЦЕСІВ ЕНЕРГОЗАБЕЗПЕЧЕННЯ У ПЕЧІНЦІ БІЛИХ ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ПЕРІОДІВ З АЦЕТАМІНОФЕНОВИМ УРАЖЕННЯМ

Досліджено динаміку процесів енергозабезпечення у печінці білих щурів різних вікових періодів з ацетамінофеновим ураженням. Встановлено, що токсичне ураження ацетамінофеном супроводжується достовірним зниженням сукцинатдегідрогеназної і цитохромоксидазної активності, однак активність протонної АТФ-ази зростає.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **ацетамінофен, вікові періоди, білі щури.**

ВСТУП. Більшість захворювань супроводжується болем, а отже, анальгетики, особливо ненаркотичні, становлять категорію ліків найширшого використання. Ацетамінофен (парацетамол, N-ацетил-п-амінофенол) вважають прикладом лікарського препарату, який при передозуванні викликає токсичну реакцію. 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 всіма віковими групами. Аналіз даних літературних джерел свідчить про те, що у терапевтичних дозах парацетамол має відносно невелику токсичність, проте не лише передозування ацетамінофену, але й застосування його в терапевтичних дозах протягом тривалого часу, використання хворими на діабет, гепатити різної етіології, алкоголізм, а також за умов незбалансованості харчування, тривалого контакту з органічними розчинниками в промисловості та побуті призводять до гострого ураження печінки [1].

Метою даної роботи було дослідити вплив ацетамінофену на стан процесів енергозабезпечення у печінці білих щурів різних вікових періодів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведено на 120 щурах-самцях трьох вікових періодів:

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

дів: статевонезрілих (молодих, тримісячних), статевозрілих (дорослих, 6–8-місячних) і старих (18–24-місячних), яких утримували на стандартному раціоні віварію ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”. Тварин було поділено на 2 групи: 1-ша – інтактні; 2-га – щури з гострим ураженням ацетамінофеном, яке моделювали шляхом внутрішньошлункового введення в дозі 1250 мг/кг маси (0,5 LD₅₀) у вигляді суспензії в 2 % розчині крохмального гелю 1 раз на добу протягом 2 діб [3]. Евтаназію тварин проводили в умовах знеболювання тіопентал-натрієм на 1-шу, 3-тю і 5-ту доби від початку експерименту. Всі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили з дотриманням правил відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей та Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними [8]. Отриманий у результаті експерименту цифровий матеріал обробляли за допомогою методів варіаційної статистики із застосуванням програми “Exel Microsoft” [6].

Стан енергозабезпечення оцінювали за активністю маркерних ферментів мітохондрій печінки – сукцинатдегідрогенази (СДГ) [4], цитохромоксидази (ЦХО) [5], протонної АТФ-ази (H⁺-АТФ-ази) [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. При дослідженні активності СДГ було встановлено, що в інтактних статевонезрілих щурів вона ста-

новила ($3,24 \pm 0,06$) ммоль/(кг·хв), у статевозрілих – ($3,02 \pm 0,06$) ммоль/(кг·хв), а в старих – ($2,77 \pm 0,08$) ммоль/(кг·хв) (табл.). Так, на 1-шу добу дослідження дія ацетамінофену призвела до достовірного зниження активності СДГ у печінці на 25,6 % в статевонезрілих щурів, у статевозрілих – на 36,4 % та у старих – на 63,9 % порівняно з таким же показником інтактних тварин відповідних вікових груп. Подальше зменшення активності СДГ спостерігали і на 3-тю добу експерименту. При цьому даний показник знижувався на 27,5 % у статевонезрілих щурів, а в дорослих і старих тварин він дещо почав зростати порівняно з 1-ю добою дослідження. Активність ензиму була достовірно нижчою, відповідно, на 32,5 і 33,9 % порівняно з таким же показником у контрольній групі тварин. На 5-ту добу дослідження активність СДГ у тварин різних вікових груп залишалася ще на низькому рівні порівняно з інтактними щурами.

Важливе місце в енергетичному забезпеченні клітини належить цитохромоксидазі – кінцевому ферменту дихального ланцюга, який забезпечує перенесення електронів від цитохрому с на кисень. Активність ЦХО за інтоксикації ацетамінофеном зазнавала різкого пригнічення в усі дні експерименту у тварин усіх вікових груп. Так, на 1-шу добу експерименту активність ЦХО у печінці статевонезрілих щурів достовірно знижувалася на 36,8 %, у статевозрілих тварин – на 36,4 %, а в старих щурів – на 51,3 %, проте ця різниця була недостовірною порівняно з інтактними тваринами (табл.).

При ураженні тварин ацетамінофеном спостерігали зменшення вказаного ензиму і на 3-тю добу експерименту. При цьому активність ЦХО у печінці статевонезрілих щурів була нижчою на 42,6 % відносно такого ж показника відповідної групи тварин. У статевозрілих і старих щурів активність ЦХО у печінці знижувалася, відповідно, на 47 та 49,4 % порівняно з таким же показником інтактних тварин відповідних вікових груп. На 5-ту добу дослідження активність ЦХО у печінці статевонезрілих щурів дещо зросла порівняно з попередньою добою, але залишалася значно меншою за контроль. При цьому вона була достовірно нижчою на 32,5 % порівняно з інтактними тваринами відповідного вікового періоду. Такі ж зміни відбувалися і в дорослих та старих щурів за дії ацетамінофену. Так, у статевозрілих тварин активність ЦХО на 5-ту добу експерименту достовірно знижувалася на 27,5 %, а в старих – на 35,4 % порівняно з інтактними щурами відповідних вікових груп.

Ферментною системою, що відповідає за синтез АТФ за рахунок енергії електрохімічного потенціалу та підтримання критичного рівня мембранного потенціалу за рахунок розпаду АТФ, є протонна АТФ-аза. Використовуючи іони H^+ і OH^- , що розміщені по обидва боки мембрани, фермент працює зворотно, тобто може функціонувати і як АТФ-аза, і як АТФ-синтетаза. За результатами наших досліджень, можна стверджувати, що активність цього ензиму в інтактних щурів з віком також знижується. Введення ж ацетамінофену призводить

Таблиця – Активність сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази у печінці щурів різних вікових груп, уражених ацетамінофеном ($M \pm m$)

Вік	Показник	Група тварин			
		контроль (інтактні тварини) (n=10)	уражені парацетамолом		
			1-ша доба (n=10)	3-тя доба (n=10)	5-та доба (n=10)
статевонезрілі	СДГ, ммоль/(кг·хв)	$3,24 \pm 0,06$	$2,41 \pm 0,08^*$	$2,35 \pm 0,06^*$	$2,33 \pm 0,06^*$
	ЦХО, ммоль/(кг·хв)	$15,22 \pm 0,37$	$9,61 \pm 0,14^*$	$8,73 \pm 0,12$	$10,28 \pm 0,24^*$
	H^+ -АТФ-аза	$350,1 \pm 12,2$	$823,8 \pm 17,3$	$548,8 \pm 19,4^*$	$376,2 \pm 14,3$
статевозрілі	СДГ, ммоль/(кг·хв)	$3,02 \pm 0,06$	$1,92 \pm 0,09^*$	$2,04 \pm 0,06^*$	$2,08 \pm 0,05^*$
	ЦХО, ммоль/(кг·хв)	$13,55 \pm 0,67$	$7,64 \pm 0,23^*$	$7,18 \pm 0,29^*$	$9,82 \pm 0,34^*$
	H^+ -АТФ-аза	$345,0 \pm 13,4$	$654,2 \pm 13,1$	$429,4 \pm 12,8$	$366,2 \pm 8,5$
старі	СДГ, ммоль/(кг·хв)	$2,77 \pm 0,08$	$1,45 \pm 0,07^*$	$1,83 \pm 0,08^*$	$1,84 \pm 0,03^*$
	ЦХО, ммоль/(кг·хв)	$12,62 \pm 0,16$	$6,14 \pm 0,19^*$	$6,39 \pm 0,47^*$	$8,15 \pm 0,15^*$
	H^+ -АТФ-аза	$328,7 \pm 10,8$	$815,2 \pm 8,4^*$	$622,8 \pm 9,2^*$	$377,4 \pm 8,4^*$

Примітка. * – різниця достовірна відносно інтактних тварин ($p < 0,05$).

до різкого зростання АТФ-азної активності. Через 24 год від моменту інтоксикації у молодих тварин активність ферменту підвищилась у 2,3 раза, у дорослих – в 1,8 раза, а в старих – у 2,5 раза. На 3-тю добу активність H^+ -АТФ-ази значно знижувалась, особливо в щурів 8–10-місячного віку, становлячи 124,3 % від норми, тоді як у молодих тварин – 156,5 %, а в старих – 189,6 %. Це може вказувати на активність відновлювальних процесів у мітохондріях після інтоксикації. До 5-ї доби у тварин всіх вікових груп активність ферменту наближалась до норми і становила у молодих 107,4 %, дорослих – 106,1 %, старих – 114,9 %.

ВИСНОВКИ. В інтактних тварин із віком активність СДГ, ЦХО і H^+ -АТФ-ази має тенденцію до зниження. Можливо, зниження ферментативної активності зумовлене не зменшенням кількості ферментів, а віковими змінами фосfolіпідного складу внутрішньої мембрани мітохондрій, що регулюють активність мембранних

ферментів. Можна припустити, що зниження з віком ферментативної активності дихального ланцюга мітохондрій спричинене зменшенням кількості поліпептидів – продуктів експресії мітохондріального геному. Це збігається з даними інших авторів [7]. Токсичне ураження ацетамінофеном супроводжується достовірним зниженням сукцинатдегідрогеназної і цитохромоксидазної активності, однак активність протонної АТФ-ази зростає. На наш погляд, причиною цього може бути значне зменшення продукції АТФ, а підвищення ферментативної активності необхідне для забезпечення критичного рівня енергетичного заряду внутрішньої мітохондріальної мембрани за рахунок гідролізу макроерга.

Перспективи подальших досліджень. Важливо у подальшому дослідити ефективність чинників, які б змогли покращити стан енергетичних процесів за умов токсичного ураження ацетамінофеном.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Викторов А. П. Этот "новый-старый парацетамол" / А. П. Викторов // Совр. пробл. токсикол. – 1998. – № 2. – С. 8–13.
2. Габибов М. М. Влияние гипербарической оксигенации на активность протонной АТФ-азы митохондрий различных тканей крыс / М. М. Габилов // Укр. биохим. журн. – 1986. – **58**, № 5. – С. 68–71.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 115–128.
4. Ещенко Н. Д. Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы / Н. Д. Ещенко, Г. Г. Вольский // Методы биохимических исследований. – Л. : Изд-во Ленинградского университета, 1982. – С. 207–210.
5. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Р. С. Кривченкова // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.
6. 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.
7. Нариси вікової токсикології / за ред. І. М. Трахтенберга. – К. : Авіцена, 2005. – 256 с.
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. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 56 p.
10. Jensen K. B. Paracetamol dosage for children – different from that for adults / K. B. Jensen, K. P. Dahlhoff // Ugeskr. Laeger. – 2005. – **167**, № 38. – P. 3569–3573.

Х. В. Погорецкая, И. Н. Клищ, М. И. Кулицкая
ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОЦЕССОВ ЭНЕРГООБЕСПЕЧЕНИЯ В ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ПЕРИОДОВ С АЦЕТАМИНОФЕНОВЫМ ПОРАЖЕНИЕМ

Резюме

Исследовано динамику процессов энергообеспечения в печени белых крыс разных возрастных периодов с ацетаминофеновым поражением. Установлено, что токсическое поражение ацетаминофеном сопровождается достоверным снижением сукцинатдегидрогеназной и цитохромоксидазной активности, однако активность протонной АТФ-азы растет.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ацетаминофен, возрастные периоды, белые крысы.

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

THE DYNAMICS OF ENERGY CONSERVATION INDICES IN THE LIVER OF WHITE RATS OF DIFFERENT AGE PERIODS WITH ACETAMINOPHEN LESION

Summary

The dynamics of energy conservation in the liver in the white rats of different age periods with acetaminophen lesion was studied. It was found out that toxic damage by acetaminophen is accompanied also by a significant decrease of suktsynatdehydrogenase and tsytokhromoxydase activity, but the activity of the proton ATPase increases.

KEY WORDS: acetaminophen, ages periods, white rats.

Отримано 15.10.12

Адреса для листування: Х. В. Погорецька, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.