

ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ ТА АЦЕТИЛЦИСТЕЇНУ ПРИ ЇХ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНОМУ ВВЕДЕННІ НА СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ ГОСТРОМУ УРАЖЕННІ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

Вивчено патогенетичні ланки ураження печінки при гострому парацетамоловому отруєнні. Встановлено вищу гепатопротекторну активність тіотриазоліну порівняно з ацетилцистеїном, що підтверджується більш суттєвим зменшенням продуктів пероксидного окиснення мембранних ліпідів, нормалізацією активності антиоксидантної системи та відновленням енергозабезпечувальних процесів мітохондрій у печінці. Встановлено, що тіотриазолін сприяє зменшенню концентрації прозапального цитокіну ІЛ-1 β та зростанню протизапального ІЛ-10 у сироватці крові, підвищенню активності реакцій першої фази системи біотрансформації ксенобіотиків, що є проявом позитивного впливу на структурно-функціональний стан біомембран гепатоцитів, зокрема гладкого ендоплазматичного ретикулула.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: печінка, парацетамол, тіотриазолін, ацетилцистеїн.

ВСТУП. Частота захворювань печінки зростає з кожним роком як в Україні, так і в інших країнах світу. За даними ВООЗ, ураження печінки займає третє місце після серцево-судинної та онкологічної патологій. Це пов'язано з погіршенням екологічного стану навколишнього середовища, зниженням рівня життя людей, якості споживаних харчових продуктів, збільшенням вживання недоброякісного алкоголю, значним розповсюдженням інфекційних та вірусних захворювань [2].

Парацетамол (ПАР) – засіб, який широко використовують у фармакотерапії в ролі активного анальгетика/антипіретика, як самостійно, так і в складі комбінованих препаратів [4]. Аналіз літературних даних свідчить про те, що не лише передозування ПАР, але й застосування його в терапевтичних дозах протягом тривалого часу може призвести до гострого ураження печінки [11]. Однією з причин розвитку гострої печінкової недостатності на тлі застосування ПАР є активація монооксигеназ ендоплазматичного ретикулула печінки, зокрема індукція родини цитохромів Р-450, перш за все його ізоформи Р-450 2Е1, що супроводжується накопиченням токсичних метаболітів ПАР та зниженням антиоксидантного статусу [6].

Як антидот при гострому отруєнні ПАР використовують попередник біосинтезу глутатіону

N-ацетилцистеїн, однак його застосування обмежується наявністю побічної дії, зокрема здатністю провокувати алергічні реакції, бронхоспазм [5]. Це вимагає пошуку засобів, здатних запобігати утворенню реактивних метаболітів ПАР, сприяти його глутатіонзалежній кон'югації та проявляти антиоксидантну активність і, відповідно, активно впливати на патогенез ураження печінки ПАР [6, 10]. Одним з таких медикаментозних середників є тіотриазолін, що характеризується вираженими антиоксидантними властивостями, що доведено в експерименті та клініці.

Метою даного дослідження було попередити гепатотоксичність парацетамолу, з'ясувати інтенсивність ліпідної пероксидації, стан антиоксидантної системи, активність процесів енергозабезпечення у печінці білих щурів за її ураження парацетамолом та можливість її корекції за допомогою тіотриазоліну й ацетилцистеїну в експерименті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 170–200 г, яких утримували за стандартних умов харчового, температурного та світлового режимів віварію. Тварин було поділено на такі групи (n=6): 1-ша – інтактні; 2-га – тварини, яким вводили внутрішньошлунково ПАР (1250 мг/кг, у вигляді суспензії

у 2 % розчині крохмального гелю, протягом 2 діб) [6]; 3-тя і 4-та – тварини, яким, окрім ПАР, паралельно з його першою ін'єкцією розпочинали вводити (внутрішньочеревно, 1 раз на добу, протягом 7 діб), відповідно, ацетилцистеїн (АЦЦ, 150 мг/кг) та тіотриазолін (ТІО, 100 мг/кг). Через добу після останнього застосування препаратів тварин декапітували під тіопенталовим наркозом, дотримуючись принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

У гомогенатах тканин печінки визначали: вміст гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [1], ТБК-активних продуктів (ТБП) [3]; активність супероксиддисмутази (СОД) [12], каталази [7]; вміст відновленого глутатіону (ВГ) [13]; активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) [5], цитохромоксидази (ЦХО) [8]. У сироватці крові – вміст ІЛ-1 β , ІЛ-10, N-деметилазу, р-гідроксилазу активність. Отримані результати піддавали статистичній обробці у програмі Excel із використанням t-критерію Стьюдента при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Систему цитокинів активно досліджують в останні роки, що пов'язано з її універсальною дією на весь організм та широким залученням до різноманітних патологічних процесів [14]. Важливу роль у запуску каскаду цитокинових реакцій, у тому числі й при ураженні печінки, серед багатьох інших відіграє ІЛ-1 β [14], серед прозапальних цитокинів особливу увагу дослідників викликає інтерлейкін-10 (ІЛ-10) як перс-

пективна мішень при терапії хронічних захворювань печінки [15]. Водночас у літературі відсутні відомості про зміни рівня ІЛ-1 β та ІЛ-10 при медикаментозному ураженні печінки парацетамолом.

У результаті проведених нами досліджень встановлено, що у групі тварин, які отримували парацетамол, збільшувався вміст ІЛ-1 β на 126,6 % з одночасним зниженням вмісту ІЛ-10 на 55,93 % порівняно з контрольною групою щурів (табл. 1).

Встановлено, що при ураженні ПАР у гомогенатах печінки відбувалась активація процесів пероксидного окиснення ліпідів, що підтверджувалось зростанням вмісту ГПЛ і ТБП на 21,4 та 124,1 % відповідно порівняно з контролем. Одночасно зменшувалась активність компонентів антиоксидантної системи: СОД і каталази – на 45,6 та 39,7 % відповідно (табл. 2).

Відомо, що при активації процесів перекиснення мембранних ліпідів знижується енергозабезпечення клітин внаслідок пошкодження мітохондрій. У наших дослідах виявлено порушення функціонування електронно-транспортного ланцюга мітохондрій у печінці, про що свідчило зменшення активності ЦХО на 50,9 % та СДГ на 62,8 %.

Головним місцем метаболізму ПАР є печінка. Більша частина введеної дози, а саме 40–60 %, метаболізується шляхом кон'югації з глюкуроною кислотою під дією глюкуронілтрансферази до глюкуронату, ще 20–40 % кон'югується із сульфатною кислотою під дією сульфотрансферази до сульфату. Утворені сполуки є нетоксичними і виводяться через нирки

Таблиця 1 – Зміни цитокинового профілю під впливом тіотриазоліну та ацетилцистеїну на тлі ураження печінки парацетамолом ($M \pm m$)

Показник	Група тварин			
	контроль	ПАР	ПАР+АЦЦ	ПАР+ТІО
ІЛ-1 β , нг/л	6,41 \pm 0,16	14,50 \pm 0,34*	10,97 \pm 0,80*#	9,84 \pm 0,54*#
ІЛ-10, нг/л	10,57 \pm 0,27	4,65 \pm 0,24*	8,13 \pm 0,28*	9,16 \pm 0,18*

Примітка. Тут і в наступних таблицях: різниця достовірна ($p < 0,05$) * – відносно контролю; # – відносно ПАР; ° – відносно ПАР+АЦЦ.

Таблиця 2 – Вплив тіотриазоліну та ацетилцистеїну на показники систем прооксиданти/антиоксиданти та мітохондріального транспорту електронів у печінці тварин при гострому парацетамоловому отруєнні ($M \pm m$, $n=6$)

Показник	Група тварин			
	контроль	ПАР	ПАР+АЦЦ	ПАР+ТІО
ГПЛ, ум. од. 10^3 /кг	5,10 \pm 0,29	6,19 \pm 0,08*	5,47 \pm 0,27*#	5,27 \pm 0,11*#
ТБК-АП, мкмоль/кг	6,73 \pm 0,27	15,08 \pm 0,38*	7,65 \pm 0,23*#	6,96 \pm 0,13*#°
СОД, ум. од./л	5,07 \pm 0,10	2,76 \pm 0,08*	3,56 \pm 0,10*#	4,03 \pm 0,05*#°
Каталаза, кат/л	7,99 \pm 0,08	4,82 \pm 0,18*	7,32 \pm 0,41*#	7,60 \pm 0,23*#
СДГ, ммоль/(кг·хв)	9,29 \pm 0,25	3,46 \pm 0,51*	5,31 \pm 0,22*	5,56 \pm 0,13*#
ЦХО, ммоль/(кг·хв)	12,05 \pm 0,98	7,72 \pm 0,32*	8,61 \pm 0,54*	9,08 \pm 0,14*#°
ВГ, ммоль/кг	2,27 \pm 0,04	1,37 \pm 0,07*	1,53 \pm 0,04*#	1,73 \pm 0,01*#°

[9]. Близько 15 % препарату біотрансформується у дві фази. Реакції першої фази перебігають в ендоплазматичному ретикулумі з участю цитохрому Р-450 (а саме його ізоформи СYP2E1). В результаті прямої двохелектронної оксидації утворюється активний метаболіт ПАР N-ацетил-Р-бензохінонімін (NAPQI), який на етапі другої фази зв'язується із сульфгідрильними групами глутатіону під дією глутатіон-трансферази й утворює нетоксичну меркаптуринову кислоту, що виводиться нирками. Провідну роль у пошкодженні печінки відіграє посилення процесів ліпідної пероксидації, що супроводжується пригніченням другої фази біотрансформації ПАР, з накопиченням високореактивних метаболітів, які ініціюють її пошкодження. У наших дослідах вміст ВГ вірогідно зменшувався в 1,7 раза проти аналогічного показника у контрольних тварин. Спостерігали зниження N-деметилазної активності на 7,5 % та р-гідроксилазної – на 58,4 % відносно здорових тварин (табл. 3).

У групі тварин, яким проводили корекцію ТІО, встановлено зниження вмісту ІЛ-1 β на 32,1 %, зростання рівня прозапального ІЛ-10 на 96,9 % (табл. 1). У щурів, яким проводили корекцію АЦЦ, зменшувався вміст ІЛ-1 β на 24,3 %, зростає рівень прозапального ІЛ-10 на 74,8 % (табл. 1). Тіотриазолін більшою мірою, ніж ацетилцистеїн, сприяв відновленню балансу вивчених цитокінів. Про це свідчили зниження вмісту ІЛ-1 β на 10,3 % та зростання рівня ІЛ-10 на 8,7 %.

При дослідженні гепатозахисної активності ТІО, за умов гострого ураження печінки ПАР, встановлено, що у 4-й групі рівні ГПЛ і ТБП у печінці зменшувались на 14,9 та 53,8 % відповідно порівняно з контрольною патологією (табл. 2). При застосуванні АЦЦ у гомогенатах печінки вміст ГПЛ і ТБП знижувався у 3-й групі, порівняно з 2-ю, на 11,6 та 49,3 % відповідно. Під впливом ТІО вміст ГПЛ і ТБК-активних продуктів зменшувався на 3,6 та 9,2 % відповідно порівняно з групою тварин, які отримували АЦЦ.

Активність СОД і каталази у групі тварин, які одержували як коригувальний чинник ТІО, зростала на 46 та 57,7 %, активність СДГ і ЦХО –

на 60,7 та 17,6 %, рівень ВГ збільшувався на 26,3 % (табл. 2). У щурів, які отримували АЦЦ, активність СОД та каталази підвищувалась на 28,9 і 51,9 %, рівень ВГ збільшувався на 11,7 %, активність мітохондріальних СДГ і ЦХО зростала на 53,5 та 11,5 % відповідно порівняно з 2-ю групою (табл. 2). При застосуванні ТІО активність СОД і каталази у цій серії дослідів перевищувала відповідний показник у групі тварин, в яких здійснювали корекцію ацетилцистеїном, на 13,2 та 3,8 %, СДГ і ЦХО – 4,7 та 5,5 % відповідно.

Під впливом ТІО спостерігали підвищення N-деметилазної активності на 4,5 % та р-гідроксилазної – на 97,0 % (табл. 3). Під впливом АЦЦ відзначали зростання N-деметилазної активності у печінці на 4,1 % та р-гідроксилазної активності реакції – на 89,5 % (табл. 3). При порівнянні впливу тіотриазоліну й ацетилцистеїну на активність реакцій першої фази біотрансформації ксенобіотиків в ураженій парацетамолом печінці не було відмічено достовірної різниці між цими групами.

ВИСНОВКИ. 1. Гостре парацетамолове ураження печінки супроводжується зростанням інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів зі зменшенням активності супероксиддисмутази, каталази та вмісту відновленого глутатіону, порушенням функціонування мітохондріального ланцюга транспорту електронів, що супроводжується погіршенням функціональної здатності органа.

2. При застосуванні тіотриазоліну більшою мірою, ніж при введенні ацетилцистеїну, за умов гострого парацетамолового ураження печінки, відбуваються зменшення концентрації прозапального цитокіну ІЛ-1 β та зростання протизапального ІЛ-10 у сироватці крові.

3. Тіотриазолін при його лікувально-профілактичному введенні тваринам з гострим ураженням печінки, спричиненим парацетамолом, знижує інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів (зменшення кількості гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів), збільшує активність та вміст компонентів антиоксидантної системи (підвищення активності супероксиддисмутази, каталази,

Таблиця 3 – Вплив тіотриазоліну та ацетилцистеїну на активність N-деметилазної та р-гідроксилазної реакцій у печінці щурів при гострому парацетамоловому отруєнні (M \pm m)

Показник	Група тварин			
	контроль	ПАР	ПАР+АЦЦ	ПАР+ТІО
N-деметилазна активність, ммоль/(кг·хв)	2,14 \pm 0,04	1,98 \pm 0,03*	2,06 \pm 0,06**	2,07 \pm 0,06**
р-гідроксилазна активність, ммоль/(кг·хв)	0,322 \pm 0,009	0,13 \pm 0,006*	0,25 \pm 0,08**	0,26 \pm 0,08**

вмісту відновленого глутатіону), покращує функціонування мітохондріального електронно-транспортного ланцюга (збільшення активності сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази).

4. Тіотриазолін та ацетилцистеїн при їх лікувально-профілактичному введенні тваринам

з гострим ураженням печінки, викликаним парацетамолом, сприяють підвищенню активності реакцій першої фази системи біотрансформації ксенобіотиків (N-деметилазної та р-гідроксилазної), що є проявом їх позитивного впливу на структурно-функціональний стан біомембран гепатоцитів, зокрема гладкого ендоплазматичного ретикулула.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Буеверов А. О. Общие представления о лекарственных поражениях печени / А. О. Буеверов // Клини. перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2002. – № 4. – С. 7–11.
3. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
4. Гепатопротекторы-антиоксиданты в терапии больных с хроническими диффузными заболеваниями печени / И. И. Дегтярева, И. Н. Скрыпник, А. В. Невойт [и др.] // Новые медицинские технологии. – 2002. – № 6. – С. 18–23.
5. 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.
6. Комплексная оценка эффективности эссенциале Н при хронических гепатитах и циррозах печени по результатам динамической межфазной тензиометрии крови / Н. Б. Губергриц, О. Ю. Череватская, К. В. Иванова [и др.] // Укр. мед. часопис. – 2000. – № 1/15. – С. 21–49.
7. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
8. Кривченкова Р. С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Р. С. Кривченкова // Современные методы в биохимии / Р. С. Кривченкова Отд ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 47–49.
9. Мазур И. А. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение / И. А. Мазур, И. А. Волошин, И. С. Чекман. – Запорожье, 2005. – 146 с.
10. Минушкин О. Н. Некоторые гепатопротекторы в лечении заболеваний печени / О. Н. Минушкин // Лечащий врач. – 2002. – № 6. – С. 55–58.
11. Роль антиоксидантной системы в патогенезе токсического гепатита / Я. И. Гонский, М. М. Корда, И. Н. Клищ, Л. С. Фира // Пат. физ. и эксперим. тер. – 1996. – № 2. – С. 43–45.
12. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
13. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. – 1959. – № 82. – P. 70–77.
14. Neutralization of IL-10 Exacerbates Cycloheximide-Induced Hepatocellular Apoptosis and Necrosis / K. Kumagai, K. Ito, Y. Ando [et al.] // Toxicologic Pathology. – 2009. – 37, № 4. – P. 536–546.
15. Sennikov S. Production of IL-10, TNF-alpha, IFN-gamma, TGF-beta1 by different populations of erythroid cells derived from human embryonal liver / S. Sennikov, S. Krysov, A. Silkov // Cytokine. – 2002. – 17, № 4. – P. 221–225.

ВЛИЯНИЕ ТИОТРИАЗОЛИНА И АЦЕТИЛЦИСТЕИНА ПРИ ИХ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ВВЕДЕНИИ НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ОСТРОМ ПОРАЖЕНИИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

Резюме

Изучены патогенетические звенья поражения печени при остром отравлении парацетамолом. Установлена более высокая гепатопротекторная активность тиотриазолина по сравнению с ацетилцистеином, что подтверждается более существенным уменьшением продуктов пероксидного окисления мембранных липидов, нормализацией активности антиоксидантной системы и восстановлением энергоснабжающих процессов митохондрий в печени. Установлено, что тиотриазолин способствует уменьшению концентрации провоспалительного цитокина ИЛ-1 β и возрастанию противовоспалительного ИЛ-10 в сыворотке крови, повышению активности реакций первой фазы системы биотрансформации ксенобиотиков, что является проявлением положительного влияния на структурно-функциональное состояние биомембран гепатоцитов, в частности гладкого эндоплазматического ретикула.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: печень, парацетамол, тиотриазолин, ацетилцистеин.

A. S. Volska
I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

INFLUENCE THIOTRIAZOLINE AND ACETYLCYSTEINE ON THE STATE OF THE LIVER IN ACUTE POISONING WITH PARACETAMOL

Summary

Study of pathogenetic links of liver damage in acute poisoning with paracetamol. The installed higher hepatoprotective activity Thiotriazoline than acetylcysteine which is confirmed by a significant reduction product of membrane lipid peroxidation, normalization of antioxidant activity and recovery utility processes in liver mitochondria. Established that thiotriazolin reduces the concentration of proinflammatory cytokine IL-1 β and increased anti-inflammatory IL-10 in serum, increased activity of phase 1 reactions of biotransformation of xenobiotics, which is a manifestation of a positive impact on the structural and functional state of biological membranes of hepatocytes, such as smooth endoplasmic reticulum.

KEY WORDS: liver, paracetamol, thiotriazolin, acetylcysteine.

Отримано 29.10.13

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