

Л.Б.Бондаренко, д.б.н, А.К.Воронина, к.б.н,
В.Н.Коваленко, д.б.н.

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ВИТАМИННОЙ КОМПОЗИЦИИ "МЕТАВИТ" ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО АЛКОГОЛИЗМА

Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины, Киев

Способность парацетамола метаболизировать в организме с образованием высокореактивного метаболита N-ацетил-4-бензохинонимина, ковалентно связывающегося с макромолекулами гепатоцитов [1], а также активировать процессы формирования в печени свободных радикалов, тем самым, обуславливая развитие оксидативного стресса [2], является причиной гепатотоксичности данного соединения. В присутствии этанола, являющегося индуктором цитохрома P-450 2E1, возрастает токсичность парацетамола и, как следствие, степень поражения печени как за счет увеличения интенсивности образования N-ацетил-4-бензохинонимина [3], так и в результате ослабления детоксикационных систем организма (истощения пула восстановленного глутатиона) [4]. Кроме того, в результате дальнейшей активации процессов перекисного окисления липидов в клетках нарушается структура мембран и изменяется активность различных ферментных систем [5]. В этих условиях введение соединений с антиоксидантными и мембраностабилизирующими свойствами позволяет частично нормализовать эти нарушения [5].

Целью данной работы являлось изучение возможности снижения нарушений в печени в условиях отравления парацетамолом на фоне хронического алкоголизма с помощью витаминной композиции "Метавит".

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В экспериментах использовали белых крыс-самцов (масса тела 160-170 г). Методом рандомизации крыс

распределили на 4 группы (не менее 6 животных в каждой): 1-я группа — интактные животные, которые содержались на протяжении 10 мес в стандартных условиях вивария (контроль), 2-я группа — животные, которые содержались на протяжении 10 мес в стандартных условиях вивария и которым за 24 ч до забоя однократно с помощью зонда вводили в желудок парацетамол в дозе 500 мг/кг ($1/2 LD_{50}$) в виде суспензии в 2% растворе крахмального геля [6], 3-я группа — животные, у которых алкоголизм моделировали, используя без ограничений на протяжении 10 мес вместо воды 15% водный раствор этанола [7], и которым за 24 ч до забоя однократно через зонд вводили в желудок парацетамол в дозе 500 мг/кг ($1/2 LD_{50}$) [6]. Животным 4-й группы (также алкоголизированным) одновременно с парацетамолом внутрижелудочно вводили исследуемую витаминную композицию "Метавит" в дозе 50 мг/кг массы тела.

Через 24 ч после последнего введения парацетамола и композиции "Метавит" крыс умерщвляли путем цервикальной дислокации. Для дальнейших исследований отбирали сыворотку крови и печень, которую гомогенизировали в 0.05M трис-HCl буфере, pH 7.4. Содержание различных фракций холестерина определяли по методу [8], основанному на их взаимодействии с хлористым железом, уксусной и серной кислотами. Коэффициент этерификации, являющийся важной функциональной пробой печени, представляли как отношение эфирносвязанного холестерина к общему [8]. Состав общих фосфолипидов опре-

деляли как в работе [8]. В сыворотке крови изучали активность 5'-нуклеотидазы по методу [9]. Активность АЛАТ и АсАТ в сыворотке крови, как индикаторов целостности мембран гепатоцитов, определяли с помощью биотестов "Филисит-Диагностика" (Украина). Содержание гликогена в печени и глюкозы в крови определяли с помощью антронового реактива [10], содержание белка — по методу Лоури [11]. Статистическую обработку данных проводили по общепринятым методам.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Активность аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы представлена в табл. 1. Из приведенных данных видно, что если введение самого парацетамола повышало активность аланинаминотрансферазы на 123% по сравнению с интактными животными, то применение парацетамола на фоне алкоголизации животных увеличивало этот показатель на 461%. Введение композиции "Метавит" достоверно снижало активность данного фермента по сравнению с группой 3 на 17%.

В случае аспартатаминотрансферазы различия в степени выраженности эффектов самого парацетамола и изучаемого препарата на фоне алкоголизации еще более выражены. В группе 2 по сравнению с интактными животными отмечено повышение активности аспартатаминотрансферазы на 44%, а в группе 3 — на 160%. В данном случае более выражено и корректирующее влияние "Метавита" — в группе 4 по сравнению с группой 3 активность аспартатаминотрансферазы достоверно снижена на 31%.

Введение одного парацетамола не вызывало достоверных изменений активности 5'-нуклеотидазы (табл. 1) по сравнению с нормой, тогда как на фоне алкоголизации приводило к возрастанию на 18% активности данного фермента, являющегося маркером нарушений холестаза в организме [12]. Поражение печени, очевидно, сопровождается не только гепатоцитоллизом, на что указывают изменения активностей аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы, но также и высвобождением части молекул 5'-нуклеотидазы из поврежденных мембранных структур в цитозоль,

Таблица 1

Активность ферментов в сыворотке крови крыс при отравлении парацетамолом на фоне хронического алкоголизма и использовании поливитаминовой композиции "Метавит" ($M \pm m$, $n=6$)

Фермент	Интактные животные	Парацетамол	Парацетамол + алкоголизм	Парацетамол + алкоголизм + "Метавит"
Аланинаминотрансфераза, мкмоль/мл • ч	$0,10 \pm 0,07$	$2,23 \pm 0,33^*$	$5,60 \pm 0,33^*, **$	$4,64 \pm 0,25^*, **, ***$
Аспартатаминотрансфераза, мкмоль/ мл • ч	$2,17 \pm 0,13$	$3,13 \pm 0,45^*$	$5,65 \pm 0,19^*, **$	$3,93 \pm 0,10^*, ***$
5'-нуклеотидаза, нмоль/мг белка • мин	$1,19 \pm 0,12$	$1,01 \pm 0,04$	$1,41 \pm 0,07^{**}$	$0,73 \pm 0,01^*, ***$

Примечания: в этой и табл.2 и 3

*- $P < 0,05$ по отношению к интактным животным;

** - $P < 0,05$ по отношению к крысам, отравленным парацетамолом;

*** - $P < 0,05$ по отношению к крысам, которые получали парацетамол на фоне хронической алкоголизации.

подобно тому, как это происходит при токсическом гепатите, вызванном тетрахлорметаном [13].

Использование поливитаминовой композиции "Метавит" достоверно снижало активность 5'-нуклеотидазы по сравнению с группой 1 и с группой 3, что свидетельствует о холестаза нормализующем и гепатопротекторном действии.

При введении парацетамола отмечается тенденция к возрастанию уровня общего холестерина в сыворотке крови (табл. 2), а на фоне хронической алкоголизации регистрируется достоверное повышение данного показателя. Это может быть связано с нарушением процессов биосинтеза желчных кислот, протекающих с вовлечением биогенного холестерина, на что указывают также и изменения уровня активности

5'-нуклеотидазы. Введение "Метавита" позволило уменьшить содержание общего холестерина в сыворотке крови.

Уровень общих фосфолипидов в сыворотке крови снижался как под влиянием самого парацетамола, так и при введении его на фоне алкоголизации, что может быть следствием усиленного расщепления данных веществ фосфолипазами, обусловленного повышением содержания перекисных производных их жирнокислотных цепей, наблюдаемого при данных патологиях [14]. Введение "Метавита" нормализовало содержание общих фосфолипидов в сыворотке, вероятно, за счет ингибирования процессов перекисного окисления липидов.

Поражение печени как под влиянием самого парацетамола, так и

при введении его на фоне алкоголизации приводило к нарушению обмена глюкозы и гликогена (табл. 3). Поливитаминовая композиция "Метавит" нормализовала содержание гликогена.

Таким образом, хроническая алкоголизация животных приводит к усугублению гепатотоксического эффекта парацетамола: повышение активностей ферментов-маркеров гепатоцитолитического действия (аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы), маркера процессов холестаза (5'-нуклеотидазы), нарушение обмена глюкозы, фосфолипидов и холестерина. Применение поливитаминовой композиции "Метавит" оказывает позитивное действие, что свидетельствует о наличии гепатопротекторного эффекта.

Таблица 2

Содержание липидов (мг%) в сыворотке крови крыс при отравлении парацетамолом на фоне хронического алкоголизма и использовании поливитаминовой композиции "Метавит" ($M \pm m$, $n=6$)

Показатели	Интактные животные	Парацетамол	Парацетамол + алкоголизм	Парацетамол + алкоголизм + "Метавит"
Свободный холестерин	91.32 ± 10.96	125.07 ± 15.50	130.35 ± 3.67	107.52 ± 12.45
Общий холестерин	159.09 ± 7.64	189.26 ± 17.67	$187.24 \pm 0.80^*$	171.67 ± 20.91
Этерифицированный холестерин	67.32 ± 6.62	61.62 ± 6.79	56.90 ± 4.40	64.16 ± 11.20
Общие фосфолипиды	118.24 ± 9.00	110.66 ± 9.22	$93.21 \pm 4.50^*$	$113.11 \pm 1.97^{***}$

Содержание глюкозы в сыворотке крови и гликогена в печени крыс при отравлении парацетамолом на фоне хронического алкоголизма и использовании поливитаминной композиции "Метавит" ($M \pm m$, $n=6$)

Показатель	Интakтные животные	Парацетамол	Парацетамол + алкоголизм	Парацетамол + алкоголизм + "Метавит"
Глюкоза, мг%	52.50 ± 1.75	54.26 ± 2.29	$59.39 \pm 0.50^*$	$56.68 \pm 0.56^*, ***$
Гликоген, мг/г ткани	22.28 ± 1.08	21.84 ± 1.79	21.51 ± 1.03	22.80 ± 0.80

ЛИТЕРАТУРА

- Rogers L.K., Moorthy B., Smith C.V. Acetaminophen binds to mouse hepatic and renal DNA at human therapeutic doses// Chem.Res.Toxicol. — 1997. — V.10, N 4. — P.470 — 476.
- Hinson J.A. Biochemical toxicology of acetaminophen// Rev. Biochem. Toxicol. — 1980. — N2. — P.103 — 129.
- Lee S.S.T. Role of CYP 2E1 in the hepatotoxicity of acetaminophen// J.Biol.Chem. — 1996. — V.271, N 20. — P.12063 — 12067.
- Schidt F.V., Lee W.M. Acetaminophen hepatotoxicity: the rest of the story// Gastroenterology. — 1998. — V.114, N5. — P.1105 — 1106.
- Шаяхметова Г.М., Коваленко В.М., Бондаренко Л.Б., Кузьменко Г.В. Антиоксидантна ефективність похідного? — токоферолацетату з укороченим бічним ланцюгом за умов гострого отруєння щурів парацетамолом// Укр.біохім.журн. — 2000. — Т.72, № 2. — С.61 — 67.
- Дроговоз С.М., Сальников С.И., Скакун Н.П., Слышков В.В. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холеспазмолитической, холелитиазной и гепатопротекторной активности новых лекарственных средств. — К.: ФКМЗ Украины, 1994. — 46с.
- Буров Ю.В., Ведерников Н.Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма. — М.: Медицина, 1985. — 240с.
- Колб В.Г., Камышиников В.С. Клиническая биохимия. — Минск: Беларусь, 1976. — 312с.
- Heppel L.A., Hilmoe R.J. 5' — Nucleotidases// Meth.Enzymol. — 1955. — 2. — P.5546 — 5550.
- Seifter S., Dayton S., Noreic B. et al. The estimation of glycogen with antron reagent// Arch.Biochem.Biophys. — 1950. — V.25, N1. — P.191-200.
- Lowry o.h., Rosedrough N.N., Farr A.L. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent// J.Biol.Chem. — 1951. — 193. — P.265 — 275.
- Banditeelli S., Baiocchi Ch., Pesi R. et al. The phosphotransferase activity of cytosolic 5' — nucleotidase: a purine analog phosphorylating enzyme// Int / J /Biochem. And Cell Biol. — 1996. — 28, N6. — P.711-720.
- Chagova de Sanchez V., Hernandez — Munoz R., Ganez H et al. Possible mechanism of adenosine protection on carbon CCL4 hepatotoxicity. Role of adenosine byproducts and glutathione peroxidase// J.Biochem. Toxicol. — 1995. — 10, N1. — P.41-50.
- Herold M., Spitteler G. Enzymatic production of hydroperoxides of unsaturated fatty acids by injury of mammalian cells// Chem.and Phys. Lipids. — 1996. V.79, N2. — P.113-121.

Л.Б.Бондаренко, А.К.Воронина, В.М.Коваленко

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНИЙ ЕФЕКТ ВІТАМІННОЇ КОМПОЗИЦІЇ "МЕТАВІТ" ПРИ ОТРУЄННІ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ФОНІ ХРОНІЧНОГО АЛКОГОЛІЗМА

Показано, що алкоголізація тварин приводить до посилення гепатотоксичного ефекту парацетамолу: підвищення активностей ферментів-маркерів гепатоцитолізу (аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази), маркера процесів холестази (5'-нуклеотидази), порушення обміну глюкози, фосфоліпідів і холестерину. Застосування полівітамінної композиції Метавіт сприяло нормалізації більшості показників, що є свідченням наявності гепатопротекторного ефекту.

L. Bondarenko, A. Voronina, V. Kovalenko

METAVIT VITAMIN COMPOSITION HEPATOPROTECTIVE EFFECT IN CONDITIONS OF PARACETAMOL POISONING WITH CHRONIC ALCOHOLISM

In experiments on albino male rats possibilities of pathologic liver changes correction in conditions of paracetamol poisoning with chronic alcoholism by Metavit vitamin composition have been investigated.

As a result of experiments it was shown that animal alcoholization caused increasing of paracetamol hepatotoxic effects (dose 500mg/kg b.w.): increasing of hepatocytolysis markers activities (ALT, AST), of cholestasis markers activities (5'-nucleotidase), disturbances of glucose, phospholipids and cholesterol metabolisms. Use of Metavit polyvitamin composition allowed partially normalization of all investigated parameters due to its expressed hepatoprotective effect.