

Л.Б. Бондаренко, д.б.н., А.К. Воронина, к.б.н.,
Г.М. Шаяхметова, к.б.н., В.М. Коваленко, д.б.н.

ВПЛИВ ВІТАМІННОЇ КОМПОЗИЦІЇ "МЕТАВІТ" НА ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ВМІСТ СКЛАДОВИХ МЕМБРАН МІТОХОНДРІЙ КЛІТИН ПЕЧІНКИ ПРИ ОТРУЄННІ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ФОНІ ХРОНІЧНОГО АЛКОГОЛІЗМА

Інститут фармакології та токсикології АМН України, Київ

У механізмах реалізації токсичного ефекту парацетамолу поряд із ковалентним зв'язуванням його високо реактивного метаболіту N-ацетил-4-бензохіноніміну з макромолекулами гепатоцитів [1], значна роль належить активації вільнорадикальних процесів та зумовленому ними оксидативному стресу [2]. Вільні радикали, утворювані в результаті біоактивації у цитохром Р450-залежних реакціях, ініціюють процеси перекисного окислення ліпідів у бічних ланцюгах фосфоліпідів клітинних мембран [3]. Це, у свою чергу, може позначитись на фізико-хімічних властивостях внутріклітинних мембран та на функціонуванні зв'язаних з ними ферментних систем, відповідальних як за метаболізм ксенобіотиків, так і за процеси життєдіяльності самої клітини [4].

Метою даної роботи було вивчення можливості корекції порушень процесів перекисного окислення ліпідів та вмісту фосфоліпідів і різних фракцій холестерину у мембранах мітохондрій клітин печінки при ураженні органу парацетамолом на фоні хронічного алкоголізму та застосуванні вітамінної композиції "Метавіт".

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

В експериментах використовували білих щурів-самців (маса тіла

160-170г), яких утримували на стандартному раціоні віварія. Методом рандомізації щурів розподілили на 4 групи (не менше 6 тварин у кожній): 1-а група - інтактні тварини, які утримувались на протязі 10 міс в стандартних умовах віварію (контроль), 2-а група - тварини, які утримувались на протязі 10 міс в стандартних умовах віварію і яким за 24 год до знеживлення одноразово через зонд вводили до шлунку парацетамол в дозі 500мг/кг (0.5 LD₅₀) у вигляді суспензії в 2% розчині крохмального геля [5]. 3-я група - тварини, у яких експериментальний алкоголізм моделювали даючи без обмежень на протязі 10 міс замість води 15%-ний водний розчин етанолу [6] і яким за 24 год до знеживлення одноразово через зонд вводили до шлунку парацетамол в дозі 500мг/кг. Тваринам 4-ї групи (також алкоголізованим) одночасно з парацетамолом внутрішлунково вводили досліджувану вітамінну композицію "Метавіт" в дозі 50 мг/кг маси тіла.

Через 24 год після останнього введення парацетамолу щурів знеживлювали методом черв'якової дислокації. Для подальших досліджень відбирали печінку, яку гомогенізували в 0.05М трис-НСІ буфері, рН 7.4. Мітохондріальну та постмітохондріальну фракції одержували методом [7]. Екстрагували ліпідну фракцію у системі мета-

нол:хлороформ (1:2). Вміст різних фракцій холестерину встановлювали за методом [8], що базується на їх взаємодії з хлористим залізом, оцтовою та сірчаною кислотами. Коefіцієнт етерифікації, що є важливою функціональною пробою печінки, розраховували як відношення ефірноз'язаного холестерину до загального [8]. Вміст загальних фосфоліпідів, малонового діальдегіду та гідроперекисів визначали як в роботі [8]. Білок визначали по Лоурі [9]. Статистичну обробку даних проводили загальноприйнятими методами.

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

Окисний стрес є однією з ключових ланок патогенезу ушкодження печінки, що виникає внаслідок дії алкоголю та парацетамолу. Підвищення перекисного окислення ліпідів відбувається за рахунок посиленого утворення активних форм кисню та зниження рівня ендогенних антиоксидантів [10].

Свідченням розвитку оксидативного стресу у наших експериментах є зростання швидкості аскорбатзалежного накопичення МДА (рис.1) в постмітохондріальній фракції печінки. "Метавіт", введений одночасно з парацетамолом, виявив високі антиоксидантні властивості, нормалізуючи інтенсивність ліпоперекислення.

Аналогічні результати були отримані при дослідженні рівня гідроперекисів ліпідів у мітохондріальній фракції (рис.2), де як сам парацетамол, так і парацетамол на фоні хронічного алкоголізму призводив до значного зростання даного показника, а застосування "Метавіту" вело до його зниження.

Відомо, що активація перекисного окислення в печінці викликає порушення структурно-функціональних властивостей та складу біомембран. Зокрема, присутність гідроперекисів зумовлює розлад цілісності функціонування мітохондрій, що є важливим фактором порушень клітини при отруєннях етанолом та парацетамолом [11].

Результати дослідження вмісту фосфоліпідів та різних фракцій холестерину у мітохондріях клітин печінки наведені у таблиці. Як сам парацетамол, так і парацетамол на фоні хронічного алкоголізму призводили до зростання вмісту загаль-

них фосфоліпідів, загального та вільного холестерину у мітохондріях клітин печінки. Такі зміни можуть обумовити значні порушення фізико-хімічних та структурно-функціональних властивостей даних біомембран. Зокрема, одним з механізмів порушення енергоутворення в мітохондріях клітин печінки є модифікація фосфоліпідного складу їх мембран [12]. Експерименти на культурі клітин показали, що збільшення відносного вмісту холестерину у мембранах клітин веде до підвищення їх мікрров'язкості, зниженню активності мембранозв'язаних ферментів та посиленню процесів поділу [13]. Порушення мембран мітохондрій неминуче позначається на енергетичному обміні клітини та усіх метаболічних перетвореннях, які протікають з використанням енергії [14,15].

Застосування "Метавіту" дозволило нормалізувати вміст фосфоліпідів та різних фракцій холестерину у мітохондріях клітин печінки.

Таким чином, в результаті проведених досліджень показано, що алкоголізація тварин веде до посилення впливу парацетамолу в дозі 500 мг/кг на мітохондрії клітин печінки: інтенсифікації процесів перекисного окислення ліпідів, порушення вмісту фосфоліпідів та різних фракцій холестерина. Застосування полівітамінної композиції "Метавіт" справляє позитивний вплив на усі досліджувані показники, що свідчить про наявність у неї антиоксидантного і мембранопротекторного ефекту.

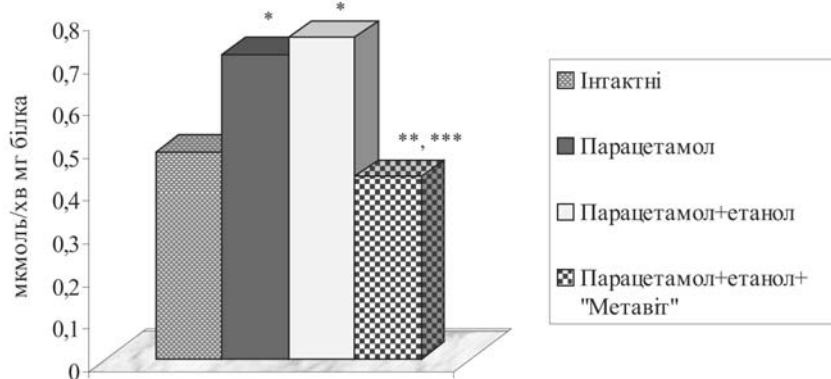


Рисунок 1. Швидкість аскорбатзалежного утворення малонового діальдегіду в постмітохондріальній фракції печінки щурів при введенні парацетамолу в дозі 500мг/кг на фоні експериментального алкоголізму та вплив на даний показник композиції "Метавіт".

*- зміни вірогідні по відношенню до інтактних тварин;

** - зміни вірогідні по відношенню до щурів, що одержували парацетамол;

***- зміни вірогідні по відношенню до щурів, що одержували парацетамол на фоні алкоголізму.

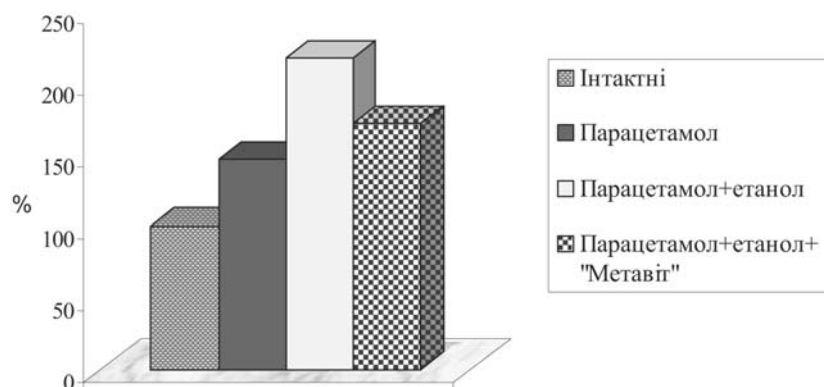


Рисунок 2. Рівень накопичення гідроперексидів в мітохондріальній фракції печінки щурів при введенні парацетамолу в дозі 500мг/кг на фоні експериментального алкоголізму та вплив на даний показник композиції "Метавіт".

Таблиця

Вміст ліпідів в мітохондріях клітин печінки щурів при отруєнні парацетамолом на фоні хронічного алкоголізму і застосуванні полівітамінної композиції "Метавіт" (мг/мг білка, $M \pm m$, $n=6$)

Показник	Інтактні тварини	Парацетамол	Парацетамол + алкоголізм	Парацетамол + алкоголізм + "Метавіт"
Вільний холестерин	0.052±0.001	0.088±0.006*	0.084±0.002*	0.072±0.011
Загальний холестерин	0.067±0.001	0.105±0.008	0.097±0.02*	0.078±0.009**
Етерифікований холестерин	0.018±0.001	0.017±0.003	0.013±0.004	0.016±0.002
Загальні фосфоліпіди	0.076±0.03	0.090±0.005*	0.078±0.002	0.078±0.003

Примітки: *- зміни вірогідні по відношенню до інтактних тварин;

** - зміни вірогідні по відношенню до щурів, отруєних парацетамолом.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Rogers L.K., Moorthy B., Smith T.V.// Chem.Res.Toxicol. — 1997. — 10, N4. — P.47 — 476.
- 2 Hinson J.A.// Rev. Biochem. Toxicol. — 1980. — 2. — P.103 — 129
- 3 Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. — Киев: Наукова думка, 1989. — 157с.
- 4 DeMatteis F.-In: Heme and Hemoproteins (F. DeMatteis, W.N.Aldridge, Eds.), 1978. — New York:Springer — Verlag. — P.95 — 128
- 5 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.
- 6 Буров Ю.В., Ведерников Н.Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма. — М.: Медицина, 1985. — 240с.
- 7 Guenderich F.P. Analysis and Characterization of Enzymes// Principles and Methods of Toxicology, Ed. By A.W.Hayes, Raven Press, Ltd., New York, 1989. — P.777 — 814.
- 8 Колб В.Г., Камышников В.С. Клиническая биохимия. — Минск: Беларусь, 1976. — 312с.
- 9 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.
- 10 Thummel K.E., Lee C.A., Kunze K.L. et al. Oxidation of acetaminophen to N — acetyl — p — aminobenzoquinoneimine by human CYP3A4// Biochem.Pharmacol. — 1993. — V.45. — P.1563 — 1569.
- 11 Herold M., Spiteller G. Enzymatic production of hydroperoxydes of insaturated fatty acids by injury of mammalian cells // Chem.and Phys.Lipids. — 1996. — V.79, N2. — P.113 — 121.
- 12 Лескова Г.Ф., Архипенко Ю.В. Фосфолипидный состав митохондрий печени при экспериментальном геморрагическом шоке // Бюл.эксперим.биол.и мед. — 1997. — 24,№7. — С.43-45.
- 13 Иванова Л.И., Халилов Э.М., Арчаков А.И. и др. Изменение свойств плазматических мембран нормальных и опухолевых клеток при встраивании холестерина// Бюл.эксперим.биол.и мед. — 1984. — №4. — С.450-452.
- 14 Walborg E.F., Starling J.J., Davis E.M. et al. Carcinogens: Identif. And Mech.Act. 31st Annu.Simp. Fundam. Cancer Res.,1978. — New York, 1979. — P.381-398.
- 15 Меркурьева Р.В., Литвинов Н.Н. Метаболические механизмы отделенных эффектов химических факторов окружающей среды — канцерогенного, эмбриотоксического, гонадотоксического, мутагенного, геронтологического // Вестн.АМН СССР. — 1985. — №1. — С.50-53.

Л.Б.Бондаренко, А.К.Воронина, А.Н.Шаяхметова,
В.Н.Коваленко

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИННОЙ КОМПОЗИЦИИ "МЕТАВИТ" НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И СОДЕРЖАНИЕ СОСТАВЛЯЮЩИХ МЕМБРАН МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО АЛКОГОЛИЗМА

Показано, что алкоголизация белых крыс приводила к усугублению эффекта парацетамола в дозе 500 мг/кг на митохондрии клеток печени: интенсификации процессов перекисного окисления липидов, нарушению содержания фосфолипидов и различных фракций холестерина. Применение поливитаминной композиции "Метавит" оказало положительное влияние на все исследуемые показатели, что свидетельствует о наличии у нее выраженного антиоксидантного и мембранопротекторного эффекта.

L.B.Bondarenko, A.K.Voronina, A.N.Shayakhmetova,
V.N.Kovalenco

VITAMIN COMPOSITION "METAVIT" EFFECT ON LIPID PEROXIDATION AND MEMBRANE CONTENTS OF MITOCHONDRIA IN RAT LIVER CELLS IN CONDITIONS OF PARACETAMOL POISONING WITH CHRONIC ALCOHOLISM

In experiments on albino male rats possibilities of liver cells mitochondria changes correction in conditions of paracetamol poisoning with chronic alcoholism by vitamin composition Metavit have been investigated. As a result of experiments it was shown that animal alcoholization caused increasing of paracetamol effects (dose 500mg/kg b.w.) on liver cells mitochondria: stimulating lipid peroxidation, changing phospholipids and cholesterol contents in membranes. Use of polyvitamin composition Metavit allowed partially normalization of all investigated parameters due to its expressed antioxidant and membranoprotective effect.