© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2009
УДК 616.36 — 099 — 08: 546.17] — 36.8

Ефективність застосування попередників синтезу оксиду азоту при гострому токсичному ураженні печінки

О.М.Олещук

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я.Горбачовського
Тернопіль, Україна

Проведено експериментальне вивчення впливу попередників синтезу оксиду азоту амінокислоти L-аргінінутапрепаратуглутаргіну на показники функціонального стану печінки пригостромутоксичномугепатиті,викликаному чотирихлористим вуглецем. Встановлено, що ураження печінки тетрахлорметаном поряд з метаболічними порушеннями супроводжується зниженням вмісту нітрит-аніону, одного з кінцевих продуктів метаболізму оксиду азоту, у гомогенатах досліджуваного органа. Проведені нами дослідження показали, що L-аргінін та глутаргін при їх повторному введенні сприяють покращенню метаболічних процесів у печінці при її токсичному ураженні, що проявляється пригніченням процесів переокислення мембранних ліпідів, тенденцією до відновлення функціонального стану мітохондрій та активності антиоксидантних ферментів та відбувається на тлі активації синтезу оксиду азоту в ураженому органі.

Ключові слова: печінка, гепатит, чотирихлористий вуглець, L-аргінін, глутаргін.

ВСТУП

З моменту відкриття наприкінці XX століття молекули оксиду азоту (NO) накопичилось багато наукових даних щодо цієї надзвичайно простої за своєю хімічною будовою та складної за біологічною, фізіологічною та патофізіологічною активністю молекули. Найбільше вивчена роль оксиду азоту та речовин-попередників його синтезу при серцево-судинних захворюваннях. Значно менше відомостей про його значення при інших патологічних процесах, зокрема при ураженнях печінки [15]. Відомо, що NO може проявляти як гепатотоксичну, так і гепатозахисну дію [12, 14]. Тому цікаво було дослідити вплив глутаргіну — нового вітчизняного препарату, діючою речовиною якого є L-аргініну L-глутамат — сіль 2 амінокислот: глутамінової кислоти та аргініну [6]. Відомо, що власне з L-аргініну в організмі за участю ферментів сімейства NOS утворюється оксид азоту [10, 15]. Ця амінокислота відіграє також важливу роль у детоксикації аміаку, беручи участь у синтезі печінкою сечовини [12].

Метою даного дослідження було встановлення впливу амінокислоти L-аргініну та препарату глутаргіну на метаболічні процеси в печінці при гострому токсичному гепатиті, викликаному чотирихлористим вуглецем.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на 36 білих щурах-самцях лінії Wistar масою 170-210 г. Тетрахлорметан (CCl_4) вводили внутрішньоочеревинно одноразово з розрахунку 2 г/кг маси тіла у вигляді 50% олійного розчину на оливковій олії [1]. Інтактні тварини отримували ідентичний об'єм розчинника. L-аргінін та глутаргін вводили відповідно в дозі 25 мг/кг та 45 мг/кг протягом 2 днів, уперше через 6 год. після введення токсичного агента. Дослідження проводили на 72-й год. експерименту. У гомогенатах печінки визначали вміст ТБК-активних продуктів (ТБК), гідроперекисів ліпідів (ГПЛ), кількість відновленого глутатіону (Г-SH), активність супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ), сукцинатдегідрогенази (СДГ), цитохромоксидази (ЦХО), кількість кінцевого продукту метаболізму оксиду азоту нітрит-аніону NO_2^- визначали за допомогою реактиву

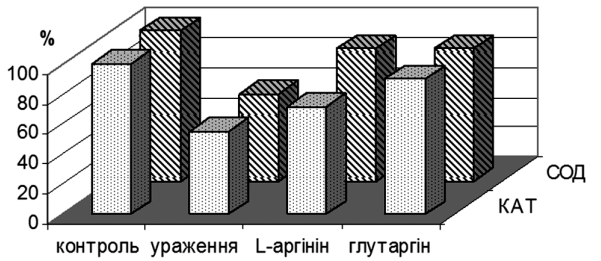

Рис. 1. Вплив L-аргініну та глутаргіну на активність трансаміназ при гострому токсичному гепатиті.

Гріса. У сироватці крові визначали активність АлАТ та АсАТ (за допомогою стандартних наборів реактивів «Фелісіт»), каталази, кількість ТБК-активних продуктів, церулоплазміну (Ц) та сечовини (за допомогою стандартного набору реактивів «Фелісіт»). Статистичну обробку результатів досліджень проводили, використовуючи t-критерій Стьюдента, за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Про пошкодження мембран гепатоцитів при гострому токсичному CCL_4-гепатиті свідчить відмічене в наших дослідах вірогідне зростання активності маркерних ферментів цитолізу АлАТ та АсАТ (відповідно у 2,5 та 1,9 разу) (рис. 1). Встановлено, що ураження супроводжується зниженням вмісту в гомогенатах печінки кінцевого продукту метаболізму оксиду азоту NO_2^- на 18%. Дослідженнями інших авторів встановлено, що за умов ураження печінки відбувається зниження активності конститутивної Ca^{2+}-залежної NOS, а також зміна розташування цієї ізоформи ферменту з транслокацією до ядра гепатоцита, що призводить до зниження її функціональної активності [10]. Вміст сечовини в сироватці крові за умов ураження вірогідно зростає на 35%.

Одним із основних механізмів, за допомогою якого тетрахлорметан реалізує свою гепатотоксичну дію, є, як відомо, активація процесів вільно-радикального окислення [1]. Згідно з результатами наших досліджень, вміст таких продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), як ГПЛ та ТБК, зростає відповідно на 73% і 44% (рис. 2).

Одночасно в печінці спостерігається достовірне зниження активності ферментів антиоксидантного захисту (рис. 3). Так, через 72 год. активність СОД та КАТ в гомогенатах печінки зменшується на 42% та 45% відповідно. На думку В.А.Костюка [3], зниження в печінці активності цитоплазматичних антиоксидантних ферментів на 2-3 добу після ураження тетрахлоретаном залежить від пригнічення білкового синтезу, що є результатом полірибосомальної дисоціації та зміни концентрації цитозольного кальцію і, меншою мірою, прямого інактивуючого впливу продуктів вільно-радикальних реакцій. Вміст Ц у сироватці крові, за нашими даними, компенсаторно зростає на 32%, що вказує на виконання ферментом своєї функції перехоплювача в позаклітинному середовищі реакційних інтермедіатів [8]. При гострому токсичному гепатиті відбувається виснаження пулу Г-SH, кількість якого в печінці зменшується на 35%, що підтверджується результатами досліджень інших науковців [11]. Відомо, що ураження чотирихлористим вуглецем призводить до порушення тканинного дихання [1]. Нами встановлено, що активність мітохондріальних ферментів СДГ та ЦХО за умов гепатиту знижується на 23% та 22% відповідно, що може свідчити про інгібування транспорту електронів по дихальному ланцюгу.

Введення L-аргініну та глутаргіну при CCl_4-гепатиті призводить до зниження активності АлАТ (на 14% та 33%) та АсАТ (на 11% та 29%) (рис. 1), що свідчить про наявність у досліджу-

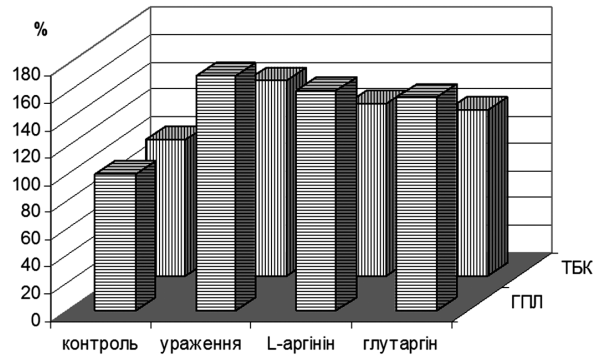

Рис. 2. Показники ПОЛ при введенні L-аргініну та глутаргіну при токсичному гепатиті.

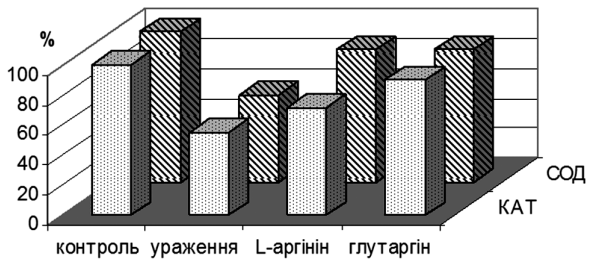

Рис. 3. Деякі показники антиоксидантної системи при введенні L-аргініну та глутаргіну при токсичному CCl_4-гепатиті.

ваних речовин цитопротекторної дії та узгоджується з результатами інших дослідників [2, 6]. Підвищення вмісту в гомогенатах печінки NO_2^- під впливом L-аргініну та глутаргіну (в 1,3 і 1,2 разу відповідно) порівняно з ураженням є результатом зростання концентрації субстрату окислення. Повторне застосування L-аргініну та глутаргіну супроводжується підвищенням активності КАТ на 18% і 35%, СОД — в 1,3 та 1,3 разу відповідно, активність Ц вірогідно не змінюється. Вміст Г-SH за введення препаратів збільшується на 32% та 31% відповідно, зменшується кількість ГПЛ (на 11% та 16%) та ТБК (на 17% і 22%). Пригнічення процесів ПОЛ за час введення прекурсорів синтезу оксиду азоту підтверджується результатами досліджень інших науковців [5, 29, 30]. Як свідчать результати нашого експерименту, за час введення препаратів спостерігається тенденція до зростання активності мітохондріальних ферментів СДГ та ЦХО. Вміст сечовини в сироватці крові під впливом препаратів зростає, що може свідчити про активацію орнітинового циклу метаболізму L-аргініну. Таким чином, проведені дослідження показали, що покращення функціонального стану печінки при гострому токсичному гепатиті при введенні глутаргіну значною мірою відбувається за рахунок L-аргініну, що входить до його складу. Наші дослідження, які свідчать про доцільність застосування препаратів, що є попередниками оксиду азоту при ураженні печінки, підтверджуються даними інших науковців. Так, S.Kakumitsu та співавт. [13] відмітили покращення стану хворих із цирозом після інфузії L-аргініну за рахунок підвищення синтезу оксиду азоту, підсилення печінкового кровотоку, зменшення синусоїдального опору в печінці. Включення цитраргініну, який також є препаратом L-аргініну, в комплексну терапію гострих токсичних гепатитів сприяє ліквідації астено-вегетативного, больового та диспепсичного синдромів, нормалізації розмірів та консистенції печінки [2].

ВИСНОВКИ

1. Токсичне ураження печінки тетрахлорметаном поряд з метаболічними порушеннями супроводжується зниженням в гомогенатах печінки концентрації нітрит-аніону — одного з кінцевих продуктів метаболізму оксиду азоту.

2. Амінокислота L-аргінін та препарат глутаргін при їх повторному введенні при гострому токсичному CCL_4-гепатиті призводять до покращення функціонального стану печінки, що проявляється активацією синтезу оксиду азоту в ураженому органі, пригніченням процесів переокислення мембранних ліпідів, тенденцією до відновлення функціонального стану мітохондрій та активності антиоксидантних ферментів.

3. Отримані дані свідчать про доцільність пошуку ефективних гепатопротекторів серед препаратів-попередників синтезу оксиду азоту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени. — К.: Здоров'я, 1989. — 168 с.
2. Драгомирецкая Н.В. // Суч. гастроентерологія. — 2002. — №3 (9). — С.97-99.
3. Костюк В.А. // Биохимия — 1991. — Т.56. — Вып.10. — С.1878-1885.
4. Круглова О.В., Декалюк И.В. / Мат. наук.-практ. конференції «Глутаргін — нові принципи фармакотерапії захворювань печінки». — Харків, 2003. — С.45-48.
5. Меркулова Ю.В., Белостоцкая Л.И., Вертяева О.И. и соавт. // Провізор. — 1997. — №5. — С.18-19.
6. Меркулова Ю.В., Гомон О.Н., Чайка Л.А. / Мат. наук.-практ. конференції «Глутаргін — нові принципи фармакотерапії захворювань печінки». — Харків, 2003. — С.7-10.
7. Меркулова Ю.В., Чайка Л.О., Гомон О.Н. та ін. // Ліки. — 2004. — №1-2. — С.91-98.
8. Санина О.Л., Бердинских Н.К. // Вопр. мед. химии. — 1986. — №5. — С.7-14.
9. Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G. // Biochem J. — 2001. — Vol.357 (3), №1. — P.593-615.
10. Bhimani E.K., Serracino-Inglott F., Sarela A.I. et al. // J. Surg. Res. — 2003. — Vol.113. — №1. — P.172-178.
11. Cabre M., Camps J., Paternain J.L., Ferre N., Joven J. // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. — 2000. — №27 (9). — P.694-699.
12. Chen T., Zamora R., Zuckerbraun B., Billiar T.R. // Curr. Mol. Med. — 2003. –№6. — P.519-526.
13. Kakumitsu S., Shijo H., Yokoyama M. et al. // Hepatology. — 1998. — №27 (2).– P.377-382.
14. Laskin J.D., Heck D.E., Gardner C.R., Laskin D.L. // Antioxid. Redox. Signal. — 2001. — Vol.3. — P.261-271.
15. Sandison A., Evans T.W. // Anaesthesia. — 1999. — Vol.54. — P.411-412.

О.М.Олещук. Эффективность применения предшественников синтеза оксида азота при остром токсическом поражении печени. Тернополь, Украина.

Ключевые слова: *печень, гепатит, четыреххлористый углерод, L-аргинин, глутаргин.*

Проведено экспериментальное изучение влияния предшественников синтеза оксида азота аминокислоты L-аргинина и препарата глутаргина на показатели функционального состояния печени при остром токсическом гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом. Установлено, что

поражение печени тетрахлорметаном вместе с метаболическими нарушениями сопровождается снижением содержания нитрит-аниона, одного из конечных продуктов метаболизма оксида азота, в гомогенатах исследуемого органа. Проведенные нами эксперименты показали, что L-аргинин и глутаргин содействуют улучшению метаболических процессов в печени при ее токсическом поражении, что проявляется угнетением процессов перекисного окисления мембранных липидов, тенденцией к возобновлению функционального состояния митохондрий и активности антиоксидантных ферментов, что происходит на фоне активации синтеза окиси азота в пораженном органе.

O.M.Oleshchuk. Efficiency of usage of nitric oxide precursors at acute toxic liver injury. Ternopil, Ukraine.

Key words: *liver, hepatitis, tetrachlor carbon, L-arginine, glutargin.*

The influence of precursors of nitric oxide synthesis aminoacid L-arginine and agent glutargin introductions on indexes of liver functional state under the acute toxic hepatitis cause by introduction of tetrachlormethane has been experimentally studied. It has been determined that toxic liver injury is accompanied by metabolic disturbances and decreasing of nitric-anion concentration as one of the nitric oxide metabolism products in investigated organ. The experimental results shows that L-arginine and glutargin assists to enhance metabolic processes in the toxic organ, through depression of lipid peroxidation process, tendencies to renewal of mitochondrial functional state and antioxidant enzymes in the liver, via activation of nitric oxide synthesis in damaged organ.

Надійшла до редакції 1.09.2009 р.