

ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ ТА АЦЕТИЛЦИСТЕЇНУ НА СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ УРАЖЕННІ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського»

(м. Тернопіль)

Дана робота є фрагментом НДР «Пошук способів корекції уражень внутрішніх органів медикаментозного та іншого ґенезу», № державної реєстрації 0110U003642.

Вступ. Цитокіни продукуються багатьма клітинами організму, в тому числі клітинами Купфера у печінці, як при фізіологічних, так і патологічних станах. Зв'язуючись зі специфічними рецепторами, вони регулюють практично усі процеси у клітинах: проліферацію, міграцію, адгезію, апоптоз, міжклітинні зв'язки тощо. На поверхні гепатоцитів знайдено велику кількість рецепторів до різних цитокінів [2, 9]. Рецептори до ІЛ-1 β відіграють контролюючу роль у синтезі білка гепатоцитами. Рецептори до факторів росту здійснюють контроль за проліферацією гепатоцитів під час ембріогенезу та при гострій печінковій недостатності [8, 11]. Доведена важлива роль прозапального ІЛ-1 β у розвитку ураження печінки при вірусних гепатитах, цирозі, при дії ксенобіотиків [7, 8]. Він запускає каскад апоптозу гепатоцитів, міграцію нейтрофілів у вогнище ураження, запалення та системні запальні реакції [10, 12]. Численні дослідження також підтверджують роль протизапального ІЛ-10 у розвитку хронічних захворювань печінки та тяжкості її ураження. Тісний зв'язок між рівнем активності цитокінів та важкістю перебігу ураження печінки став підставою для використання показників вмісту цих сполук в якості ефективних біомаркерів медикаментозного ураження даного органа [6]. Водночас у літературі відсутності відомості про зміни рівня ІЛ-1 β та ІЛ-10 при медикаментозному ураженні печінки парацетамолом та його корекції тіоловмісними сполуками – ацетилцистеїном та тіотриазоліном.

Метою дослідження було встановити особливості впливу тіотриазоліну та ацетилцистеїну на рівень ІЛ-1 β , ІЛ-10 та активність амінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) у сироватці крові при гострому ураженні печінки парацетамолом.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 170-200 г, яких утримували за стандартних умов харчового, температурного та світлового режимів віварію. Піддослідних тварин поділили на групи: 1 – контроль (інтактні тварини), 2 – тварини,

яким вводили внутрішньошлунково парацетамол (ПАР) (1250 мг/кг у вигляді суспензії на 2% розчині крохмального гелю, протягом 2 діб) [3]; 3 і 4 – тварини, яким, окрім ПАР, паралельно з його першою ін'єкцією розпочинали введення (внутрішньоочеревинно, 1 раз на добу, протягом 2, 7, 14 діб) відповідно ацетилцистеїну (АЦЦ, 150 мг/кг) та тіотриазоліну (ТІО, 100 мг/кг). Через добу після останнього застосування препаратів тварин декапітували під тіопенталовим наркозом, дотримуючись принципів Європейської конвенції із захисту лабораторних тварин. У сироватці крові визначали: активність АлАТ, АсАТ (використовували стандартні набори ООО НПП «Филисит діагностика», Україна), концентрацію ІЛ-1 β та ІЛ-10 (методом імуноферментного аналізу). Отримані результати піддавали статистичній обробці у програмі Excel з використанням t-критерію Ст'юдента при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. У результаті проведених нами досліджень встановлено, що на другу добу експерименту у групі тварин, які отримували парацетамол, відбувалось збільшення вмісту ІЛ-1 β на 211,5%, з одночасним зниженням вмісту ІЛ-10 на 64,3%, порівняно з контрольною групою щурів (**табл. 1**).

Аналогічна тенденція відмічена у наступні два терміни дослідження. Зокрема, на сьому добу в уражених парацетамолом тварин відбувалось зростання рівня прозапального ІЛ-1 β на 126,6%, а вміст протизапального ІЛ-10 знижувався на 55,9%, на 14 добу вміст ІЛ-1 β був вищим на 101,3%, а рівень ІЛ-10 знижувався на 36,8%, порівняно з контролем (**табл.**).

Таким чином, найбільші зміни спостерігались на 2 добу експерименту, з частковим відновленням показників досліджуваних інтерлейкінів на 7 і 14 доби.

На порушення структури і функції клітинних мембран гепатоцитів за умов дії парацетамолу вказують отримані нами результати досліджень активності ферментів сироватки крові – АлАТ та АсАТ (**рис. 1, 2**). Зокрема, активність АлАТ на 2-у, 7-му та 14-ту доби дослідження зростала на 163,3% ($p < 0,001$), 42,3% ($p < 0,001$) та 74,1% ($p < 0,001$), АсАТ – на 118,2% ($p < 0,001$), 24,3% ($p < 0,05$), та 40,0% ($p < 0,005$), відповідно.

Зміни цитокінового профілю під впливом тіотриазоліну та ацетилцистеїну на тлі ураження печінки парацетамолом у різні терміни експерименту (M ± m)

Таблиця

Показник	Термін досліджу	Група тварин			
		Контроль	ПАР	ПАР + АЦЦ	ПАР+ТІО
ІЛ-1β, нг/л	2 доби	6,41±0,16	19,93±1,25*	12,43±1,19 #	10,38±1,09 *# є
	7 діб	6,41±0,16	14,50±0,34*	10,97±0,80 #	9,84±0,54 * є
	14 діб	6,41±0,16	12,88±0,72*	8,45±0,62 #	7,64±0,42 *# є
ІЛ-10, нг/л	2 доби	10,57±0,27	3,78±0,22*	7,77±0,11 #	8,45±0,21 *# є
	7 діб	10,57±0,27	4,65±0,24*	8,13±0,28 #	9,16±0,18 *# є
	14 діб	10,57±0,27	6,67±0,50*	9,27±0,24 #	9,47±0,64 #

Примітка: різниця достовірна (p<0,05): * – відносно контролю, # – відносно групи тварин, уражених парацетамолом, є – відносно групи тварин, які отримували ацетилцистеїн.

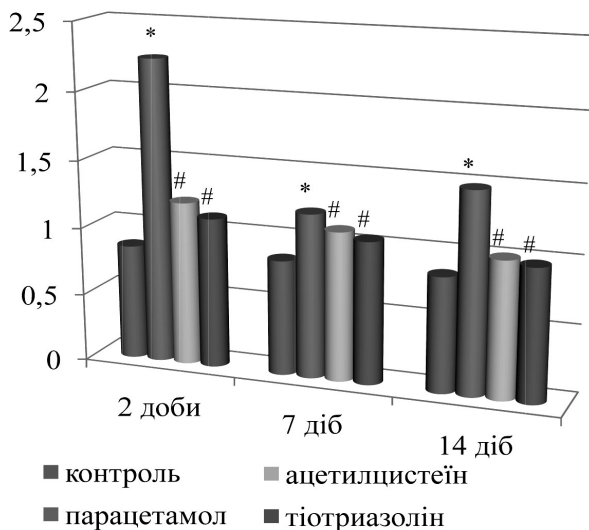


Рис. 1. Активність АлАт (мккат/л) у сироватці крові за умов корекції тіотриазоліном та ацетилцистеїном при гострому ураженні печінки парацетамолом.

Примітка: у цьому і наступному рисунках достовірність позначено відносно: * – контролю; # – показників групи тварин, уражених парацетамолом

Відомо, що співвідношення величин АсАТ/АлАТ (коефіцієнт де Рітца) вказує на джерело амінотрансфераз та при ураженні печінки становить більше 1 [1]. У нашому випадку він зростав до 1,12±0,07, 1,18±0,05 та 1,08±0,05 на 2-гу, 7-му та 14-ту доби дослідження. Таким чином, підвищення активності амінотрансфераз при дії парацетамолу зумовлене руйнуванням мембран гепатоцитів та виходом ферментів у міжклітинне середовище з пошкоджених ділянок органа.

Варто відзначити, що в уражених парацетамолом тварин активність АсАТ у відсотковому відношенні перевищувала аналогічний показник АлАТ. Значне переважання змін активності АсАТ над АлАТ може бути обумовлене виходом у кров як цитозольного ізоферменту АсАТ, так і мітохондріального, що спостерігається за умов пошкодження не лише плазматичних, а й мітохондріальних мембран [3].

При застосуванні ацетилцистеїну відбувалось зниження вмісту ІЛ-1β на 37,6, 24,3 та 34,4% на 2-гу, 7-му та 14-ту доби експерименту відповідно. Навпаки, рівень прозапального ІЛ-10 зростав на 106,1% на 2-гу добу експерименту, на 74,8% – на 7-му та на 38,9% – на 14-ту добу, порівняно з групою тварин, в яких викликали ураження печінки парацетамолом, але не вводили препарат (табл.).

У групі тварин, яким проводили корекцію тіотриазоліном, вміст ІЛ-1β знижувався на 47,9, 32,1, 40,7% на 2-гу, 7-му та 14-ту

доби експерименту відповідно. Рівень прозапального ІЛ-10 зростав на 124,1% на 2-гу добу експерименту та на 96,9% на 7-му добу, порівняно з групою тварин з ураженням печінки парацетамолом, в яких не проводили корекцію (табл.). Необхідно підкреслити, що під впливом тіотриазоліну на 14-ту добу відбувалась нормалізація рівня ІЛ-10. Суттєво, що даний препарат більшою мірою, ніж ацетилцистеїн, сприяв відновленню балансу вивчених цитокінів. Про це свідчить зниження вмісту ІЛ-1β на 16,5, 10,3, 9,6% та зростання рівня ІЛ-10 на 8,7, 12,7, 2,2% відповідно до термінів дослідження у цій серії дослідів, порівняно з групою тварин, в яких в якості коригуючого чинника використовували ацетилцистеїн (табл.).

Під впливом ацетилцистеїну активність АлАТ знижувалась на 45,9, 9,1, 31,7%, АсАТ – на 43,3, 15,9, 22,9%, відповідно до термінів експерименту, порівняно з тваринами, котрі отримували парацетамол (рис. 1, рис. 2).

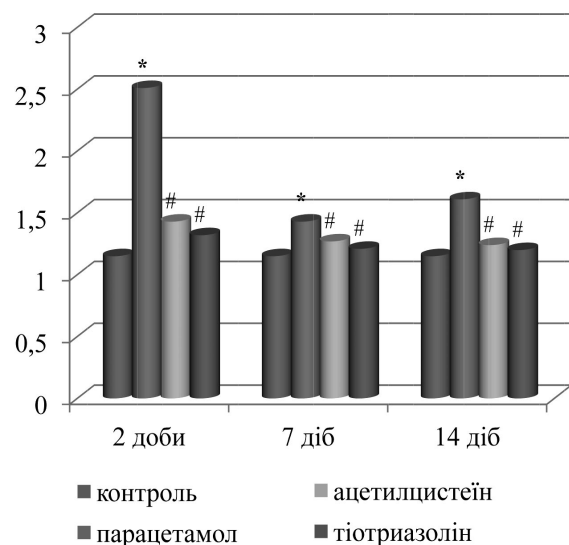


Рис. 2. Активність АсАт (мккат/л) у сироватці крові за умов корекції тіотриазоліном та ацетилцистеїном при гострому ураженні печінки парацетамолом.

Застосування тіотриазоліну супроводжувалося зменшенням у плазмі крові активності АлАТ на 50,4, 13,2 та 33,8%, АсАТ – на 47,4, 11,2 та 25,5% на 2-гу, 7-му та 14-ту доби експерименту, порівняно з тваринами, котрі отримували парацетамол (рис. 1, рис. 2). Активність АлАТ при застосуванні тіотриазоліну, порівняно з групою тварин, яким проводили медикаментозну корекцію ацетилцистеїном, достовірно зменшувалась на 7,7, 4,7, 3,2%, АсАТ – на 9,1, 4,6, 3,3%.

Таким чином, результати проведених нами експериментів підтверджують важливу роль цитокінових реакцій у розвитку ураження печінки парацетамолом. Причому наростання рівня прозапального цитокіну ІЛ-1 β , який синтезується клітинами Купфера та відповідає за процеси некрозу та апоптозу гепатоцитів, відбувається з одночасним зменшенням рівня у сироватці крові протизапального ІЛ-10 та активацією цитолітичних процесів у печінці. Під впливом тіоловмісних сполук – ацетилцистеїну і, особливо, тіотриазоліну рівень вивчених маркерів цитолізу гепатоцитів у сироватці крові суттєво знижується на тлі зменшення дисбалансу між рівнем про- і протизапального цитокінів. Отримані результати

підтверджують доведений іншими авторами зв'язок між рівнем зростання цитокінів та ступенем ушкодження печінки, зокрема у пацієнтів з гепатитом В, цирозом печінки, тяжкістю печінкової енцефалопатії [4, 5].

Висновки. У сироватці крові щурів, які отримували парацетамол у дозі 1250 мг/кг, встановлено підвищення концентрації прозапального цитокіну ІЛ-1 β та зниження протизапального ІЛ-10, зростання активності амінотрансфераз (АлАТ, АсАТ), коефіцієнта де Рітиса, що свідчать про цитолітичне ураження печінки.

Тіотриазолін, більшою мірою, ніж ацетилцистеїн, за умов гострого парацетамолового ураження печінки, сприяє зменшенню концентрації у сироватці крові прозапального цитокіну ІЛ-1 β та зростанню протизапального ІЛ-10, зниженню рівнів АлАТ, АсАТ, коефіцієнта де Рітиса.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати є підґрунтям для глибшого вивчення механізмів лікувально-профілактичної активності тіотриазоліну та ацетилцистеїну при ураженні печінки парацетамолом.

Література

1. Бабак О. Я. Клиническое значение и диагностическая тактика при повышении уровня трансаминаз в сыворотке крови при отсутствии клинических проявлений / О. Я. Бабак // Медицинский журнал «Искусство Лечения. Мистецтво лікування». – 2006. – № 8 (34). – <http://m-l.com.ua/?aid=884>.
2. Нікітін Є. В. Сучасні уявлення по систему цитокінів / Є. В. Нікітін, Т. В. Чабан, С. К. Сервецький // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 2. – С. 64–69.
3. Степанов Ю. М. Лекарственные поражения печени: патогенез, классификация, диагностика, лечение [Электронный ресурс] / Ю. М. Степанов, А. Ю. Филиппова, И. Н. Кононов // Провизор. – 2006. – № 5. <http://www.provisor.com.ua>.
4. Чабан Т. В. Вплив аміксину ІС на показники цитокінової мережі при лікуванні хворих на хронічний гепатит С / Т. В. Чабан // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2008. – Т. 9, № 1. – С. 51–54.
5. Akpolat N. Relationship between serum cytokines levels and histopathological changes in patients with hepatitis B / N. Akpolat, S. Yanshi, A. Godekmerdan [et al.] // WJG. – 2005. – Vol. 11, № 21. – P. 3260–3263.
6. Dasarathy S. Inflammation and Liver / S. Dasarathy // Journal of Parenteral and Enteral Nutrition. – 2008. – Vol. 32, №. 6. – P. 660–666.
7. Goral V. Relation between pathogenesis of liver cirrhosis, hepatic encephalopathy and serum cytokine level – what is the role of tumor necrosis factor- α ? / V. Goral, Y. Atayan, A. Kaplan // Journal of Chinese clinical medicine. – 2010. – Vol. 5, № 1. – P. 12–18.
8. Jan B. Ethanol, oxidative stress, and cytokine-induced liver cell injury / Jan B. John G. // Alcohol. – 2002. – Vol. 27, № 1. – P. 63–68.
9. Kopf M. Averting inflammation by targeting the cytokine environment / M. Kopf, M. Bachmann, B. Marsland // Nature reviews. Drug discovery. – 2010. – Vol. 9. – P. 703–718.
10. Kumagai K. Neutralization of IL-10 Exacerbates Cycloheximide-Induced Hepatocellular Apoptosis and Necrosis / K. Kumagai, K. Ito, Y. Ando [et al.] // Toxicologic Pathology. – 2009. – Vol. 37, № 4. – P. 536–546.
11. Sennikov S. Production of IL-10, TNF-alpha, IFN-gamma, TGF-beta1 by different populations of erythroid cells derived from human embryonal liver / Sennikov S., Krysov S., Silkov A. // Cytokine. – 2002. – Vol. 17, №4. – P. 221–225.
12. Zhang L. Interlekin-10 and chronic liver diseases / L. Zhang, X. Wang // WJG. – 2006. – Vol. 12, № 11. – P. 1681–1685.

УДК 615.235/.244-06:616.36-099:615.212

ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ ТА АЦЕТИЛЦИСТЕЇНУ НА СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ УРАЖЕННІ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

Вольська А. С.

Резюме. Вивчено патогенетичні ланки ураження печінки при гострому парацетамоловому отруєнні. Встановлено вищу гепатопротекторну активність тіотриазоліну порівняно з ацетилцистеїном, що підтверджується зменшенням концентрації прозапального цитокіну ІЛ-1 β та зростанням протизапального ІЛ-10 у сироватці крові, зниженням рівня цитолітичних процесів у печінці.

Ключові слова: печінка, парацетамол, тіотриазолін, ацетилцистеїн, інтерлейкіни.

УДК 615. 235/. 244-06:616. 36-099:615. 212

ВЛИЯНИЕ ТИОТРИАЗОЛИНА И АЦЕТИЛЦИСТЕИНА НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ПОРАЖЕНИИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

Вольская А. С.

Резюме. Изучены патогенетические звенья поражения печени при остром парацетамоловом отравлении. Установлено, что гепатопротекторная активность тиотриазолина выше, чем у ацетилцистеина, что подтверждается уменьшением концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ростом противовоспалительного ИЛ-10 в сыворотке крови, снижением уровней маркерных показателей цитолиза (АлАТ, АсАТ).

Ключевые слова: печень, парацетамол, тиотриазолин, ацетилцистеин, интерлейкины.

UDC 615. 235/. 244-06:616. 36-099:615. 212

Influence of Thiotriazoline and Acetylcysteine on Liver Damage in Acetaminophen Poisoning

Volska A. S.

Abstract . Introduction. Cytokine system has been studied in recent years. It has universal effect on the whole body and the general involvement in various pathological processes. IL -1 β plays an important role in triggering of the cascade of cytokine responses in the case of the liver lesion. Interleukin -10 (IL -10), one of the inflammatory cytokines, comes into notice of researchers as it is a long-term target in the treatment of chronic liver disease. However, there are no data on changes in the level of IL -1 β and IL -10 in medical paracetamol liver lesion.

Aim. Study of the effect of acetylcysteine and thiotriazoline on the level of IL-1 β , IL-10 and activity of aminotransferase in the blood serum in acute paracetamol liver lesion.

Materials and methods. The research was performed on white rats. The animals were divided into 4 groups. We investigated the blood serum of rats. Activity of *aminotransferase* and concentrations of IL-1beta and IL -10 were determined. The results were subjected to statistical analysis in Excel using Student's t-test at $p \leq 0,05$.

Results. It is known that the ratio of the values of AST / ALT (coefficient de Ritisa) indicates the source and aminotransferases in liver damage is more than one . In our case, it increased to $1,12 \pm 0,07$, $1,18 \pm 0,05$ and $1,08 \pm 0,05$ in the 2nd, 7th and 14th days of the study. Thus, increased activity of aminotransferases in the destruction caused by paracetamol membranes of hepatocytes and the release of enzymes in the intercellular environment of the damaged organ.

Thus, the results of our experiments confirm the important role of cytokine responses in the development of liver damage paracetamol. Moreover, the increase in the level of proinflammatory cytokine IL -1 β , which is synthesized by Kupffer cells and is responsible for the processes of necrosis and apoptosis of hepatocytes occurs with a simultaneous decrease in serum levels of anti-inflammatory IL -10 and activation of cytolytic processes in the liver. Influenced sh- compounds – acetylcysteine and especially Thiotriazoline level of the studied markers of cytolysis of hepatocytes in serum significantly reduced by reducing the background level of imbalance between pro-and anti-inflammatory cytokines.

These results confirm other authors demonstrated communications between the level of cytokines and growth degree of liver damage , especially in patients with hepatitis B, liver cirrhosis , the severity of hepatic encephalopathy .

Conclusions. The research results of *aminotransferase* activity indicate on the disturbance of the structure and function of the cell membrane of hepatocytes under conditions of paracetamol action.

It was found increased concentrations of anti-inflammatory cytokines IL -1 β and decreased anti-inflammatory IL-10, increased biochemical indices in the blood serum of rats, treated with toxic doses of paracetamol.

Thiotriazoline decreases the concentration of anti-inflammatory cytokine IL-1 β and increases anti-inflammatory IL-10 in serum and reduces the levels of indices of cytolysis more than under acetylcysteine administration in acute paracetamol liver lesion.

Key words: liver, paracetamol, thiotriazoline, acetylcysteine, interleukins.

Рецензент – проф. Скрипник І. М.

Стаття надійшла 22. 10. 2013 р.