

УДК 616-008.6-02:616.36-099:615.212]-085.225.21.272.4-092.9

І. Б. ІВАНУСА

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

ОКИСНЮВАЛЬНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ І СТАН ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ ГОСТРОМУ ТОКСИЧНОМУ УРАЖЕННІ АЦЕТАМІНОФЕНОМ НА ФОНІ ДОВГОТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ЕСТРОГЕНІВ ТА ПРОГЕСТИНІВ ПРИ КОРЕКЦІЇ ТІОТРИАЗОЛІНОМ

Досліджено вплив ацетамінофену на процес окиснювальної модифікації білків і показники ендогенної інтоксикації на фоні довготривалого введення естрогенів та прогестинів при корекції тіотриазоліном. Встановлено, що гостре ураження ацетамінофеном на фоні етинілестрадіолу і левоноргестрелу супроводжується достовірно вищим зростанням у плазмі крові вмісту МСМ, концентрації ОМБ та ЕП у крові тварин. Доведено, що тривале попереднє введення естрогенів та прогестинів посилює токсичну дію ацетамінофену, спричиняючи активацію катаболічних процесів, порушення структури і функції клітинних мембран та розвиток токсичного синдрому. Тіотриазолін посилює компенсаторну активацію анаеробного гліколізу, знижує пригнічення процесів окиснення у циклі Кребса зі збереженням внутрішньоклітинного фонду АТФ.

Ключові слова: левоноргестрел; етинілестрадіол; тіотриазолін; окиснювальна модифікація білків; молекула середньої маси; еритроцитарний індекс; ацетамінофен; ендогенна інтоксикація

ВСТУП

Одним з широко вживаних медикаментозних середників у світі і в Україні є ацетамінофен (АФ), який рутинно вважається найбільш безпечним серед обширної групи засобів з анагетичною/антипіретичною дією [10, 12, 13, 14, 15]. Разом з тим відомо, що передозування, а також застосування його на тлі провокуючих чинників (гострих та хронічних уражень печінки, низького вмісту білка в раціоні, алкоголізму тощо) може викликати некротичні зміни в клітинах печінки із наступним розвитком печінкової недостатності.

Оральні протизаплідні стероїди за оцінкою ряду дослідників використовують від 60 до 70 мільйонів жінок по всьому світу. Вони діляться на дві групи – ті, що містять комбінацію естрогенів та прогестинів, і тільки прогестини [1].

Оральні контрацептиви можуть взаємодіяти з іншими лікарськими засобами. З одного боку, вони самі виступають індукторами певних ізоформ мітросомних монооксигеназ, змінюючи метаболізм ряду лікарських речовин, з іншого, метаболізм ОК може змінюватися під впливом цілого ряду лікарських засобів, які підвищують або знижують рівень естрогенів чи прогестинів в організмі [11]. Це може слугувати причиною розвитку побічних реакцій.

Як антидот при отруєнні ацетамінофеном використовують попередник біосинтезу глутатіону (N-ацетилцистеїн). Але можливості його використання з профілактичною метою обмежені внаслідок наявності побічної дії, зокрема здатності провокувати виникнення алергічних реакцій. Це вимагає пошуку засобів з поліфункціональними властивостями, здатних запобігати утворенню реактивних метаболітів, сприяти глутатіонзалежній кон'югації та проявляти антиоксидантну активність і, відповідно, активно впливати на патогенез ураження печінки ацетамінофеном. Такими властивостями володіє препарат «Тіотриазолін» – похідне 1,2,4-триазолу [4, 7, 9].

Зважаючи на це, ми поставили перед собою мету дослідити вплив ацетамінофену на стан окиснювальної модифікації білків і вираженість ендогенної інтоксикації у щурів на тлі тривалого застосування естрогенів і прогестинів при корекції тіотриазоліном.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліди проводили на білих статевозрілих щурах-самках масою 200-220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію при вільному доступі до води.

Нами було проведено 2 серії експериментів. У першій токсичне ураження викликали шляхом одноразового внутрішньошлункового введення тваринам суспензії ацетамінофену у 2 % розчині крохмалю в

**ВМІСТ ОКИСНЕНО МОДИФІКОВАНИХ БІЛКІВ У КРОВІ І ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ
ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО ТА СУБХРОНІЧНОГО УРАЖЕННЯ АЦЕТАМІНОФЕНОМ ПІСЛЯ
40-ДОБОВОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЕТИНІЛЕСТРАДІОЛУ І ЛЕВОНОРГЕСТРЕЛУ
ТА ПРИ КОРЕКЦІЇ ТІОТРИАЗОЛІНОМ (M ± m)**

Показник	Досліджуваний матеріал	Група тварин				
		контроль, n = 6	ацетамінофен після 40-добового введення левоноргестрелу та етинілестрадіолу, n = 12		ацетамінофен після 40 добового введення левоноргестрелу, етинілестрадіолу, 1 та 7-добового введення тіотриазоліну, n = 12	
			одноразово, n = 6	7 діб, n = 6	одноразово, n = 6	7 діб, n = 6
ОМБ ₃₇₀ , ммоль/г білка	плазма крові	0,77 ± 0,02	2,45 ± 0,09* p ₁ < 0,001	1,45 ± 0,03* p ₁ < 0,001	0,98 ± 0,04*# p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,001	0,81 ± 0,01# p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,001
ОМБ ₄₃₀ ммоль/г білка	плазма крові	0,48 ± 0,04	1,88 ± 0,06* p ₁ < 0,001	1,13 ± 0,05* p ₁ < 0,001	1,04 ± 0,06*# p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	0,59 ± 0,02# p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,001
ОМБ ₃₇₀ ммоль/г білка	гомогенат печінки	1,39 ± 0,02	2,96 ± 0,07* p ₁ < 0,001	2,04 ± 0,05* p ₁ < 0,001	1,92 ± 0,03*# p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	1,46 ± 0,07# p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,001
ОМБ ₄₃₀ ммоль/г білка	гомогенат печінки	0,74 ± 0,03	2,82 ± 0,08* p ₁ < 0,001	1,56 ± 0,07* p ₁ < 0,001	1,58 ± 0,08*# p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	0,96 ± 0,06*# p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,001

Примітка. Тут і в табл. 2:

1) * – різниця вірогідна по відношенню до контрольних тварин;

2) # – різниця вірогідна по відношенню до тварин, уражених ацетамінофеном після 40-добового введення левоноргестрелу та етинілестрадіолу.

дозі 1250 мг/кг маси тіла (1/2 LD₅₀), у другій – суспензію ацетамінофену у 2 % розчині крохмалю у дозі 55 мг/кг, що відповідає вищій терапевтичній дозі, вводили протягом 7-ми діб. Левоноргестрел у 2 % розчині крохмалю тваринам обох серій вводили внутрішньошлунково у дозі 1,17 мг/кг маси тіла, а етинілестрадіол – в дозі 0,23 мг/кг маси тіла протягом 40 діб. Тіотриазолін тваринам вводили внутрішньочеревино в дозі 100 мг/кг.

У I серії експерименту піддослідних щурів поділили на 4 групи: 1-ша – інтактні (контроль); 2-га – уражені ацетамінофеном після 40-добового введення левоноргестрелу та етиніластрадіолу, 3-тя – уражені ацетамінофеном після 40-добового введення левоноргестрелу, етиніластрадіолу, добового введення тіотриазоліну.

У II серії експерименту піддослідних щурів поділили на 4 групи: 1-ша – інтактні (контроль); 2-га – тварини, яким вводили ацетамінофен протягом 7-ми діб після 40-денного введення левоноргестрелу та етинілестрадіолу, 3-тя – уражені ацетамінофеном після 40-добового введення левоноргестрелу, етиніластрадіолу, 7-добового введення тіотриазоліну.

Тварин виводили з експерименту з моменту припинення ураження шляхом етаназії за умов тіопенталового наркозу. Всі експерименти на щурах проводили відповідно до «Науково-практичних рекомендацій з утриманням лабораторних тварин та роботи з ними» [2].

Досліджували цільну кров, сироватку крові і гомогенат печінки. Вміст молекул середньої маси (МСМ)

визначали за методами, описаними у роботах [3, 6]. Еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ) визначали за методикою [8]. Інтенсивність окиснювальної модифікації білків визначали, виходячи з того, що в результаті цього процесу утворюються альдегідні і кетонні групи, які взаємодіють з 2,4-дифенілгідразиним з утворенням 2,4-дифенілгідрозонів, що мають характерний спектр поглинання [5]. Альдегідо- і кетопохідні нейтрального характеру реєстрували при λ = 370 нм (ОМБ₃₇₀), а основного – при λ = 430 нм (ОМБ₄₃₀). Кількісні показники обробляли статистично. Достовірність різниці між порівнювальними величинами визначали за t-критерієм Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Корекція тіотриазоліном призвела до вірогідного зменшення (табл. 1) вмісту окиснено модифікованих білків у плазмі крові і печінці уражених тварин. Зокрема, за одноразового введення ацетамінофену і корекції тіотриазоліном показник ОМБ₃₇₀ у плазмі крові знизився у 2,5 рази у порівнянні з ураженими тваринами, а у печінці – у 1,5 рази. У групі тварин, яким ацетамінофен вводили впродовж 7 діб, встановлено зниження, відповідно, в 1,8 і 1,4 рази порівняно з цими показниками у тварин контрольної групи.

Стосовно вмісту ОМБ₄₃₀, то зміни були аналогічними – за одноразового введення у плазмі крові і печінці тварин цей показник вірогідно знизився в 1,8 рази, за семиразового введення терапевтичної дози – відповідно, в 1,9 і в 1,6 рази порівняно з тваринами, яким корекцію не проводили.

Таблиця 2

**ПОКАЗНИКИ ЕНДОГЕННІ ІНТОКСИКАЦІЇ І СТАНУ ПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН У ЩУРІВ
ЗА УМОВ ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО ТА СУБХРОНІЧНОГО УРАЖЕННЯ АЦЕТАМІНОФЕНОМ
ПІСЛЯ 40-ДОБОВОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЕТИНІЛЕСТРАДІОЛУ І ЛЕВОНОРГЕСТРЕЛУ
ТА ПРИ КОРЕКЦІЇ ТІОТРИАЗОЛІНОМ (М ± m)**

Показник	Досліджуваний матеріал	Група тварин				
		контроль, n = 6	ацетамінофен після 40-добового введення левоноргестрелу та етинілестріадіолу, n = 12		ацетамінофен після 40-добового введення левоноргестрелу, етинілестріадіолу, 1 та 7-добового введення тіотриазоліну, n = 12	
			одноразово, n = 6	7 діб, n = 6	одноразово, n = 6	7 діб, n = 6
Еритроцитарний індекс інтоксикації, %	Кров	32,3 ± 2,73	84,65 ± 3,64* p ₁ < 0,001	65,42 ± 2,46* p ₁ < 0,001	52,14 ± 2,80*# p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,001	38,22 ± 2,31# p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,001
Молекули середньої маси ₁ , ум. од. екст.	Плазма крові	0,34 ± 0,02	0,94 ± 0,07* p ₁ < 0,001	0,67 ± 0,04* p ₁ < 0,001	0,42 ± 0,04# p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,001	0,38 ± 0,04# p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,001
Молекули середньої маси ₂ , ум. од. екст.	Плазма крові	0,11 ± 0,01	0,43 ± 0,02* p ₁ < 0,001	0,28 ± 0,002* p ₁ < 0,001	0,21 ± 0,02*# p ₁ < 0,01 p ₂ < 0,001	0,15 ± 0,01*# p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,001

Дослідження стану ендогенної інтоксикації показало, що ацетамінофен зумовлює розвиток в організмі експериментальних тварин низки патологічних процесів, які супроводжуються змінами (розпад тканин, зниження детоксикуючої функції печінки тощо). Тому наступним кроком нашої експериментальної роботи було вивчення еритроцитарного індексу інтоксикації за дії тіотриазоліну.

Еритроцитарний індекс інтоксикації при використанні тіотриазоліну у тварин з гострим ураженням ацетамінофеном після 40-добового застосування естрогенів і прогестинів знизився в 1,6 рази, а за 7-разового введення – в 1,7 рази і наближався до рівня контрольних тварин (табл. 2).

Як видно з наведених даних, під впливом тіотриазоліну в уражених тварин спостерігалася чітка тенденція до збільшення вмісту молекул середньої маси у плазмі крові щурів порівняно з тваринами контрольної групи (табл. 2). Показник МСМ₁ при корекції тіотриазоліном за умов одноразового застосування становив 45 % від рівня уражених тварин і наближався до показників у контрольних тварин, а за семидобового введення не відрізнявся достовірно від рівня у контрольній групі. Аналогічне зниження виявлено і стосовно МСМ₂ – корекція тіотриазоліном призводила до нормалізації цього показника.

Про негативний вплив ацетамінофену на плазматичні мембрани клітин, що супроводжується структурними змінами і підвищеною проникністю їх та виходом цитозольних ферментів, засвідчують дослідження аланін- і аспартамінотрансферази у плазмі крові щурів. Введення тіотриазоліну регулювало активність цитоплазматичних ферментів.

Таким чином, застосування тіотриазоліну у тварин з токсичним ураженням, викликаним введенням

ацетамінофену після 40-добового застосування етинілестріадіолу і левоноргестрелу, чинить позитивний вплив на стабілізацію плазматичних мембран клітин. Ці дані, як і показник ЕІ, очевидно, можуть служити опосередкованим критерієм значного покращення стану плазматичних мембран гепатоцитів.

ВИСНОВКИ

Підсумовуючи отримані результати, можна вказати на те, що рівень усіх показників ендогенної інтоксикації (МСМ, ЕІ) у тварин зазнавав позитивного впливу тіотриазоліну, що відображалося у зменшенні переважної більшості досліджуваних показників ендогенної інтоксикації і частковій їх нормалізації. Можна припустити, що позитивна дія тіотриазоліну на тлі токсичного ураження зумовлена його протекторною дією на мембрани гепатоцитів.

А отже, використання тіотриазоліну приводить до покращення функціонального стану печінки, відповідно зменшуючи вираженість захворювання, знижує інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення ліпідів, що зберігає антиоксидантні резерви організму тварин.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Бороян Р. Г. Клиническая фармакология для акушеров-гинекологов / Р. Г. Бороян. – М.: Медицинское информационное агентство, 1999. – 176 с.
2. Кожем'якін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко. – К.: Авіценна, 2002. – 156 с.
3. Лифшиц Р. И. Роль среднемoleкулярных пептидов крови в развитии кардиодепрессии при тер-

- мических ожогах / Р. И. Лифшиц, Б. М. Вальдман, И. А. Волчегорский, А. С. Лужевский // Бюл. экперим. биол. и медицины. – 1986. – Т. 101, № 3. – С. 280-282.
4. Мазур И. А. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение / [И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман и др.]. – Запоріжжя, 2005. – 160 с.
 5. Мещишен І. Ф. Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // Буковинський мед. вісник. – 1998. – Т. 2, № 1. – С. 156-158.
 6. Оськина В. В. Среднемолекулярные пептиды спинномозговой жидкости при гнойных менингитах / В. В. Оськина, К. И. Чекалина, Н. И. Габриэлян, В. В. Малеев // Лаб. дело. – 1987. – № 2. – С. 23-25.
 7. Стародуб Є. М. Тиотриазолін в комплексній терапії цирозів печінки / Є. М. Стародуб, О. Є. Самогальська, І. І. Мельник, Т. Б. Лазарчук // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: [зб. наук. статей]. – Вип. 8. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2002. – С. 206-210.
 8. Тогайбаев А. А. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун, Р. М. Карибжанова // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.
 9. Хворостинка В. Н. Эффективность применения тиотриазолина при хронических гепатитах и циррозах печени / В. Н. Хворостинка. – Харьковский мед. инт., 1992.
 10. Bond G. R. Population-based Incidence and Outcome of Acetaminophen Poisoning by Type of Ingestion / G. R. Bond, L. K. Hite // Academic Emergency Medicine. – 1999. – Vol. 6, № 11. – P. 1115-1120.
 11. DeLeve L. D. Mechanisms of drug-induced liver disease / L. D. DeLeve, N. Kaplowitz // Gastroenterol. Clin. N. Am. – 1995. – № 24. – P. 787-810.
 12. Schiodt F. V. Acetaminophen Toxicity in an Urban County Hospital / F. V. Schiodt, F. A. Rochling, D. L. Casey, W. M. Lee // New England J. of Medicine. – 1997. – Vol. 337, № 16. – P. 1112-1117.
 13. Simon T. Combined glutathione-S-transferase M1 and T1 genetic polymorphism and tacrine hepatotoxicity / [T. Simon, L. Becquemont, M. Mary-Krause et al.] // Clin. Pharmacol. Ther. – 2000. – Vol. 67, № 4. – P. 432-437.
 14. Zimmerman H. J. Toxic and drug-induced hepatitis / H. J. Zimmerman, W. C. Maddrey, L. Schiff, E. R. Schiff Diseases of the Liver. – 7th ed. – 1993. – P. 707-783.
 15. Wormhoudt L. W. Genetic polymorphisms of human N-acetyltransferase, cytochrome P450, glutathione-S-transferase, and epoxide hydrolase enzymes: relevance to xenobiotic metabolism and toxicity / L. W. Wormhoudt, J. N. Commandeur, N. P. Vermeulen // Crit. Rev. Toxicol. – 1999. – Vol. 29, № 1. – P. 59-124.

УДК 616-008.6-02:616.36-099:615.212]-085.225.21.272.4-092.9**И. Б. Ивануса****ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ И СОСТОЯНИЕ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧНОМ ПОРАЖЕНИИ АЦЕТАМИНОФЕНОМ НА ФОНЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТИНОВ ПРИ КОРРЕКЦИИ ТИОТРИАЗОЛИНОМ**

Исследовано влияние ацетаминофена на процесс окислительной модификации белков и показатели эндогенной интоксикации на фоне продолжительного введения эстрогенов и прогестинов при коррекции тиотриазолином. Установлено, что острое поражение ацетаминофеном на фоне этинилэстрадиола и левоноргестрела сопровождается достоверным увеличением в плазме крови содержания МСМ, концентрации ОМБ и ЭИИ в крови животных. Доказано, что предварительное продолжительное введение эстрогенов и прогестинов усиливает токсическое действие ацетаминофена, поскольку происходит активация катаболических процессов, нарушение структуры и функции клеточных мембран и развитие токсического синдрома. Тиотриазолин усиливает компенсаторную активацию анаэробного гликолиза, уменьшает угнетение процессов окисления в цикле Кребса с сохранением внутриклеточного фонда АТФ.

Ключевые слова: левоноргестрел; этинилэстрадиол; тиотриазолин; окислительная модификация белков; молекула средней массы; эритроцитарный индекс; ацетаминофен; эндогенная интоксикация

UDC 616-008.6-02:616.36-099:615.212]-085.225.21.272.4-092.9**I. B. Ivanusa****OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS AND ENDOGENOUS INTOXICATION STATE IN ACUTE TOXIC DAMAGE BY ACETAMINOPHEN AGAINST THE BACKGROUND OF LONG TERM INTRODUCTION OF ESTROGEN AND PROGESTIN WHILE BEING CORRECTED BY THIOTRIAZOLINE**

We have investigated the effect of acetaminophen on the process of oxidative modification of proteins and indices of endogenous intoxication against the background of long-term estrogen and progestin while being corrected by Thiotriazoline. It has been established that acute affection with acetaminophen against the background of ethinyl estradiol and levonorgestrel has been accompanied by a significantly higher growth in the plasma content of MSM, OMB and EII concentration in the blood of animals. It has been proved that prolonged administration of estrogen and previous progestin increases the toxic effects of acetaminophen, causing activation of catabolic processes, violation of the structure and function of cell membranes and the development of toxic syndrome. Thiotriazolin enhances a compensatory activation of anaerobic glycolysis, reduces inhibition of oxidation in the Krebs cycle with preservation of intracellular fund of ATP.

Key words: levonorgestrel; ethinyl estradiol; thiotriazolin; oxidative modification of proteins; the average molecule weight; erythrocytic index; acetaminophen; endogenous intoxication

Адреса для листування:
E-mail: bir1977@mail.ru.
Ивануса І. Б.

Надійшла до редакції
10.02.2015 р.