

ВЛИЯНИЕ L-КАРНИТИНА НА ПРОЦЕССЫ ЭНЕРГООБЕСПЕЧИВАЮЩЕГО ОКИСЛЕНИЯ В ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ С ОСТРЫМ ОТРАВЛЕНИЕМ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ФОНЕ ПИЩЕВОЙ ДЕПРИВИЦИИ

Гембаровский Н.В.¹, Клищ И.Н.¹, Марущак М.И.¹

ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского», Тернополь, Украина (46001, Тернополь, майдан Воли 1), e-mail: m_shvaluk@mail.ru

Проведено исследование влияния L-карнитина на процессы энергообеспечивающего окисления в печени животных с острым отравлением парацетамолом на фоне пищевой депривации. Установлено, что при экспериментальном токсическом поражении парацетамолом на фоне пищевой депривации происходит угнетение процессов энергообеспечения гепатоцитов, которое характеризуется снижением в ткани печени крыс сукцинатдегидрогеназной активности на 59,3 %, цитохромоксидазной активности на 46,6 % ($p < 0,001$) и рост H^+ -АТФ-азной активности на 112,7 % от уровня показателей интактных животных. При этом применение L-карнитина сопровождается частичным восстановлением активности процессов микросомального и энергообеспечивающего окисления, улучшением состояния плазматических и субклеточных мембран гепатоцитов. Так, до окончания эксперимента цитохромоксидазная активность в печени белых крыс составила 156 % ($p < 0,001$) по сравнению с показателем группы животных, пораженных ПА на фоне пищевой депривации.

Ключевые слова: отравление парацетамолом, пищевая депривация, L-карнитин, сукцинатдегидрогеназа, цитохромоксидаза, H^+ - АТФ-аза

EFFECT OF L-CARNITINE ON ENERGY-PROVIDING PROCESSES IN THE RAT'S LIVER IN CASE OF ACUTE PARACETAMOL POISONING DURING FOOD DEPRIVATION

Gembarovsky M.V.¹, Klishch I.M.¹, Marushchak M.I.¹

SHEE "I.YA. Horbachevsky Ternopil State Medical University", Ternopil, Ukraine (46001, Ternopil, Voli street 1), e-mail: m_shvaluk@mail.ru

We have done the study of the L-carnitine influence on the energy-providing processes in the rat's liver in case of acute paracetamol poisoning during food deprivation. It was found that in experimental acute paracetamol poisoning in case of food deprivation occurs inhibition of hepatocyte energy processes, which is characterize by reduction in liver tissue of rats succinate dehydrogenase on 59,3 %, cytochromoxidase activity on 46,6 % ($p < 0,001$) and increasing H^+ ATPase activity on 112,7 %. At the same time, the use of L-carnitine is accompanied by a partial restoration process of microsomal oxidation and energy supplying activity, upgrading of plasma and subcellular membranes of hepatocytes. Thus, before the end of the experiment in the liver cytochrome oxidase activity in white rats was 156% ($p < 0,001$) compared to the group of animals affected PA against food deprivation.

Keywords: paracetamol poisoning, food deprivation, L-carnitine, cytochromoxidase, succinate dehydrogenase, H^+ ATPase

Введение

Одним из наиболее употребляемых медикаментозных препаратов в Украине и мире является парацетамол (ацетаминофен), который считается самым безопасным среди обширной группы средств с анальгетическим / антипиретическим действием [5]. Механизмы токсического действия парацетамола (ПА) достаточно подробно изучены и связаны с образованием его реактивного метаболита – N-ацетил-p- парабензохинонимина (NAPXI), который является результатом метаболизма ацетаминофена с участием CYP 2E1 и CYP 1A2 . Важную роль в детоксикации NAPXI играет глутатионовая система [7-9].

Как антидот при отравлении ПА используют предшественник биосинтеза глутатиона (N-ацетилцистеин). Возможности его использования с профилактической целью ограничены через наличие побочных эффектов, в частности, способность провоцировать возникновение аллергических реакций и бронхоспазма [1]. Это требует поиска средств с полифункциональными свойствами, которые способны предотвращать образование реактивных метаболитов и, соответственно, активно влиять на патогенез поражения печени парацетамолом. Одним из таких медикаментозных средств есть карнитин, который владеет отчетливыми антиоксидантными свойствами [2, 4].

Целью нашего исследования было изучить влияние L-арнитина на активность ферментов, которые обеспечивают процессы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования в митохондриях, выделенных из печени животных с острым отравлением парацетамолом на фоне пищевой депривации.

Материал и методы исследования

Для изучения процессов энергообеспечивающего окисления в условиях токсического поражения ПА на фоне пищевой депривации и их коррекции карнитином использовали белых беспородных крыс – самцов, содержащихся на стандартном рационе вивария при свободном доступе к воде. Токсическое поражение ПА вызвали путем однократного внутрижелудочного введения животным суспензии ацетаминофена в 2% растворе крахмала в дозе 1250 мг/кг (1/2 LD₅₀). В каждую исследовательскую группу было включено 6 животных. Пищевую депривацию животным вызывали путем их содержания в условиях полного пищевого голодания при достаточном доступе к воде. С целью коррекции вызванных нарушений внутрибрюшинно вводили ежедневно в дозе 50 мг/кг фармакопейный 20 % раствор L-карнитина, предварительно разведенный в 10 раз изотоническим раствором натрия хлорида, во все дни проведения эксперимента [3].

Через 3 и 7 суток проводили эвтаназию крыс путем ввода тиопентала натрия в дозе 90 мг/кг массы животного, соблюдая правила гуманного отношения к животным. Определяли в гомогенатах тканей печени концентрацию сукцинатдегидрогеназы (СДГ), цитохромоксидазы (ЦХО) и H⁺-АТФ-азы [6]. Полученные результаты статистически обрабатывали, вычисляли среднюю арифметическую вариационного ряда (M), стандартную ошибку средней арифметической (m) и достоверность различий (p).

Результаты исследования и их обсуждение. Токсическое поражение парацетамолом на фоне пищевой депривации уже через 3 суток эксперимента приводит к достоверному угнетению процессов энергообеспечения гепатоцитов, на что указывает снижение в ткани печени крыс сукцинатдегидрогеназной активности на 54,4 %, цитохромоксидазной активности на 43,2 % (p<0,001) и рост H⁺-АТФ-азной активности на 93,1 % от уровня

показателей интактных животных. Длительность токсического поражения парацетамолом и пищевой депривации сопряжена с подальшими изменениями исследуемых показателей, о чем свидетельствует углубление угнетения уровней СДГ и ЦХО на фоне увеличения Н⁺-АТФ-азной активности через 7 суток эксперимента.

Из представленных в таблице 1 результатов видно, что препарат способствует достоверному ($p < 0,001$) повышению активности СДГ в подопытных животных как через 3, так и через 7 суток (рис. 1). Это может свидетельствовать о преобладании в энергетике гепатоцитов использования в качестве субстрата янтарной кислоты в качестве альтернативного источника тканевого дыхания, окисление которого не зависит от соотношения окисленной и восстановленной форм никотинамидных коферментов.

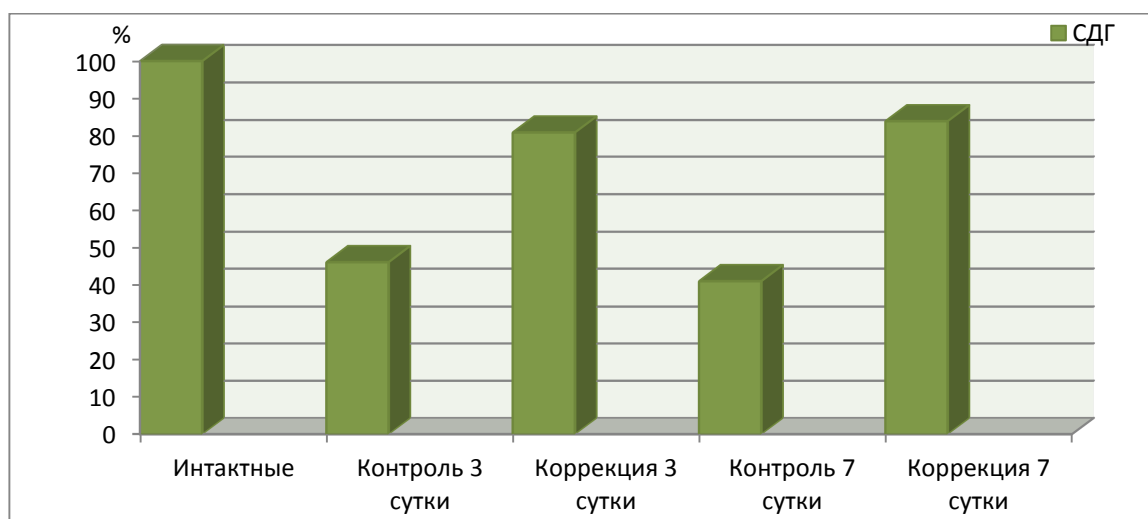


Рис. 1. Динамика активности СДГ в печени крыс с токсическим поражением парацетамолом на фоне пищевой депривации до и после коррекции L-карнитином.

Вероятно под влиянием L-карнитина увеличивается активность цитохромоксидазы. До окончания эксперимента цитохромоксидазная активность в печени белых крыс составила 156 % ($p < 0,001$) по сравнению с показателем группы животных, пораженных ПА на фоне пищевой депривации.

Таблица 1

Активность митохондриальных ферментов в печени крыс с токсическим поражением парацетамолом на фоне пищевой депривации до и после коррекции L-карнитином, $M \pm m$

Показатель	Группа животных		
	Интактные	Поражение парацетамолом на фоне пищевой депривации	Поражение парацетамолом на фоне пищевой депривации, коррекция L-карнитином

		3 сутки n=6	7 сутки n=6	3 сутки n=6	7 сутки n=6
СДГ, ммоль/ (кг×мин)	8,82± 0,19	4,02±0,09 p ₁ <0,001	3,59±0,11 p ₁ <0,002	7,18±0,19 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	7,42±0,24 p ₁ <0,002 p ₂ <0,001
ЦХО, ммоль/ (кг×мин)	9,06± 0,11	5,15±0,14p ₁ <0,001	4,84±0,11 p ₁ <0,001	7,46±0,20 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	7,54±0,21 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
H ⁺ -АТФ-аза ммоль/ (кг×мин)	345,0± 13,4	666,2± 8,5 p ₁ <0,001	733,8±9,3 p ₁ <0,001	436,3± 11,7 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	368,5± 12,4 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001

Примечания:

1. p₁ – достоверность различий по сравнению с интактными животными;
2. p₂ – достоверность различий по сравнению с животными, пораженными парацетамолом на фоне пищевой депривации.

Активность протонной АТФ-азы при условии применения L-карнитина достоверно снижалась по сравнению с пораженными крысами во все сроки эксперимента (рис. 2). На 3-и сутки она составила 65 % (p<0,001) от уровня показателя группы животных, пораженных парацетамолом на фоне пищевой депривации. Через семь суток показатели практически достигли уровня интактных животных.

Следовательно, применение L-карнитина вызывало восстановление активности ферментных систем, обеспечивающих окисление субстратов, транспорт электронов дыхательной цепью и преобразование трансмембранного потенциала в энергию макроэргических связей, что способствовало нормализации показателей поглощения кислорода и улучшения энергообеспечения пораженных парацетамолом на фоне пищевой депривации митохондрий гепатоцитов.

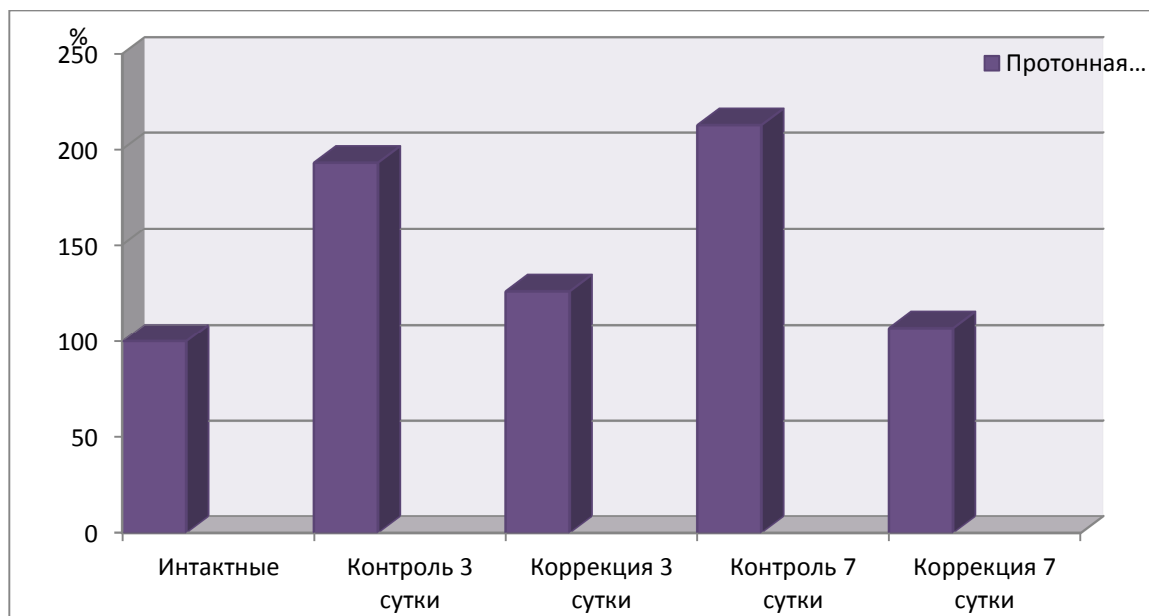


Рис. 2. Активность Н⁺-АТФ-азы в печени крыс с токсическим поражением парацетамолом на фоне пищевой депривации до и после коррекции L-карнитином.

Выводы

1. Токсическое поражение парацетамолом на фоне пищевой депривации через 7 суток эксперимента приводит к достоверному угнетению процессов энергообеспечения гепатоцитов, на что указывает снижение в ткани печени крыс сукцинатдегидрогеназной активности на 59,3 %, цитохромоксидазной активности на 46,6 % ($p < 0,001$) и рост Н⁺-АТФ-азной активности на 112,7 % от уровня показателей интактных животных.
2. Применение L-карнитина с целью коррекции нарушений метаболических процессов, вызванных острым отравлением парацетамолом на фоне пищевой депривации сопровождается частичным восстановлением активности процессов митохондриального и энергообеспечивающего окисления, улучшением состояния плазматических и субклеточных мембран гепатоцитов.

Список литературы

1. Абрамова О. Вплив гіпоксії та адаптація до неї на активність ферментів метаболізму глутатіону у щурів / О. Абрамова // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2006. - № 42. – С. 22-25.
2. Антиоксидантні засоби – необхідні компоненти комплексної фармакотерапії / Н. О. Горчакова, С. А. Олійник, К. Г. Гаркава [та ін.] // Фітотерапія в Україні. – 2000. - № 1. – С. 7-13.

3. Арутюнян А. В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма (методические рекомендации) / А. В. Арутюнян, Е. Е. Дубинина, Н. Н. Зыбина. – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 100 с.
4. Вивчення дезінтоксикаційних властивостей фібрабету на тваринах за умов комбінованої дії тетрахлорметану, нітриту натрію та рентгенівського опромінення / Л. С. Фіра, О. В. Благодарова, Б. Р. Бойчук, Д. В. Козак // Наукові записки Тернопільського педуніверситету імені В. Гнатюка. Серія: Біологія. – 2000. – Вип. 4 (11). – С. 83-86.
5. Викторов А. П. Проблемы применения анальгетиков-антиперетиков в соответствии с критериями их безопасности / А. П. Викторов, В. Г. Кучер, А. В. Кашуба // Український ревматологічний журнал. – 2006. - № 2 (24). – С.4-9.
6. Интенсивность свободнорадикального окисления и каталитические свойства NADP-изоцитратдегидрогеназы в печени крыс в норме и при токсическом гепатите / Л. В. Матасова, Е. М. Андреещева, Т. Н. Попова [и др.] // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 2. – С. 153-160.
7. Миляков М. Н. Возможный механизм и патофизиологическая значимость регуляции активности супероксиддисмутазы свободными радикалами кислорода / М. Н. Миляков, В. В. Шабанов // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, № 2. – С. 130-137.
8. Нариси вікової токсикології / За ред. І. М. Трахтенберга. – К.: Авіцена, 2005. – 256 с.
9. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова]. – К.: Авіцена, 2002. – 156 с.

Рецензенты:

Бондаренко Ю.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского», г. Тернополь.

Корда М.М., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой медицинской биохимии, декан факультета иностранных студентов ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского», г. Тернополь.