

УДК 616.24.005.98:615.916:577.1.323.4: 546.22

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ОТРУЄННЯ ПАРАЦЕТАМОЛОМ НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО УРАЖЕННЯ СОЛЯМИ КАДМІЮ ТА СВИНЦЮ**Трубич Н.Я., Криницька І.Я.***Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського, кафедра медичної біохімії і клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль*

РЕЗЮМЕ: досліджено вплив гострого отруєння парацетамолом ($1/2 LD_{50}$) на тлі 30-денного введення кадмію хлориду і свинцю ацетату в субтоксичних дозах ($0,05 LD_{50}$) на показники ендогенної інтоксикації та стан плазматичних мембран у щурів. У плазмі крові визначали еритроцитарний індекс інтоксикації та молекули середньої маси, активність АсАТ та АлАТ. Встановлено, що прогресування патологічного процесу у печінці та виснаження компенсаторних можливостей спричиняється до зростання в динаміці показників ендогенної інтоксикації.

Ключові слова: парацетамол, важкі метали, регуляція, еритроцитарний індекс інтоксикації, молекули середньої маси.

Вступ. Парацетамол (ацетамінофен, АФ) широко використовується як анальгетичний та антипіретичний засіб і є відносно безпечним при прийомі в терапевтичних дозах. Разом із тим, не лише передозування АФ [1], але й застосування його за ряду умов (гострі та хронічні ураження печінки [2], неінсуліновий діабет, низький за вмістом білків раціон [3], вживання алкоголю [4] та ін.) здатні викликати некрози печінки людини та тварин різних видів [5]. Показано, що відповідальним за гепатотоксичну дію АФ є реактивний метаболіт – N-ацетил-p-бензохінонімін (NAPXІ), який утворюється із залученням цитохромів P-450 2E1 та 1A2 і ковалентно зв'язується з сульфгідрильними групами білків та глутатіону переважно в центролобулярних зонах печінки [9].

Оскільки детоксикація NAPXІ здійснюється за допомогою реакцій хімічної та ферментативної кон'югації з глутатіоном, при передозуванні АФ рівень його в печінці зменшується [14]. Це, в свою чергу, може призвести до порушення антиоксидантного статусу організму і активації окиснення та переокинення біосубстратів печінки, що мало б посилити токсичну дію NAPXІ.

Для з'ясування особливостей токсичного впливу гострого парацетамольного ураження велике значення мають порівняльні дослідження впливу парацетамолу та інших достатньо вивчених токсичних агентів. Серед останніх провідна роль належить важким металам, особливо солям кадмію та свинцю, що характеризуються їх високою стабільністю, міграцією та токсичністю [13]. Реальна загроза одночасного надходження в організм [1, 17] надає вивченню їх поєднаної дії особливої актуальності. Основними джерелами забруднення атмосфери кадмієм та свинцем є викиди теплоенергетичних підприємств і газоподібні викиди чорної та кольорової металургії [8]. Якщо гостре отруєння солями кадмію та свинцю добре вивчене, то хронічна комбіно-

вана дія на організм важких металів досліджена недостатньо.

Екзотоксикози, що виникають під впливом вказаних вище ксенобіотиків, характеризуються неспецифічним синдромом ендогенної інтоксикації. Останній не лише супроводжує гостру і хронічну патологію, але й сам по собі є важливим фактором їх патогенезу, визначає перебіг та наслідки захворювання [11]. Під час хвороби, при зсуві метаболізму в бік катаболічних реакцій у крові з'являється велика кількість проміжних та кінцевих продуктів обміну, біологічно активних речовин, продуктів деструкції органів і тканин, продуктів активного протеолізу, гідроперекисів ліпідів і білків. Пул цих речовин, окрім високомолекулярних речовин, включає і молекули середньої маси, з якими в основному і пов'язують поняття токсемії [6].

Даних щодо впливу парацетамолу на стан ендогенної інтоксикації в доступній нам літературі недостатньо, а робіт, в яких було б досліджено поєднану дію етанолу, свинцю та кадмію ми взагалі не знайшли.

Мета дослідження. Вивчити динаміку показників синдрому ендогенної інтоксикації у тварин з гострим отруєнням парацетамолом на тлі хронічного ураження солями кадмію та свинцю.

Матеріали та методи. Досліди проводили на білих статевозрілих щурах-самцях масою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію.

Хронічне токсичне ураження викликали шляхом внутрішньошлункового введення тваринам водного розчину кадмію хлориду в дозі 3,3 мг/кг маси тіла ($0,05 LD_{50}$) та свинцю ацетату в дозі 11 мг/кг ($0,05 LD_{50}$) протягом 30 днів.

Гостре парацетамольне отруєння моделювали шляхом дворазового внутрішньошлункового введення АФ в дозі 1250 мг/кг маси тіла ($1/2 LD_{50}$) у вигляді суспензії 2 % -ого крохмального гелю на 31-у і 32-у доби експерименту. Інтактним твари-

нам вводили відповідну кількість 2 % розчину крохмалю.

Групи піддослідних щурів досліджено чотири: I – інтактні; II – уражені парацетамолом; III – уражені кадмію хлоридом та свинцю ацетатом; IV – уражені кадмію хлоридом, свинцю ацетатом та парацетамолом. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом на першу, третю та п'яту доби від моменту припинення ураження згідно з правилами Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин [7]. Дослідженню підлягала плазма крові та гомогенат печінки.

Еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ) визначали методикою, в основі якої лежать уявлення про еритроцити як універсальний адсорбент, який дозволяє оцінити рівень ЕІ за зміною сорбційної здатності еритроцитів полярного, практично не проникного через їхню мембрану метиленового синього.

Визначення вмісту молекул середньої маси (МСМ) проводили згідно з методикою [12]. Із сироватки крові виділяли кислоторозчинну фракцію, яку отримували шляхом додавання до 0,2 мл сироватки 1,8 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти. Вміст молекул середньої маси визначали при довжині хвиль 254 (визначаються ланцюгові амінокислоти) та 280 нм (визначаються ароматичні амінокислоти). Активність аспартатамінотрансферази (АсАТ) та аланінамінотрансферази (АлАТ) визначали за методом [6].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з визначенням t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Згідно із сучасними уявленнями, МСМ – це гетерогенні сполуки різної природи та молекулярної маси. Так, при довжині хвилі 240-248 нм та 254-262 нм реєструються в основному продукти катаболізму білків, пептидів, що містять ланцюгові амінокислоти (МСМ₁); при 278-286 нм – складові розпаду білків, що містять ароматичні амінокислоти, нуклеїнових кислот – пурини, піримідини, рибозид сечової кислоти (МСМ₂) [6, 12]. Як показали наші дослідження (табл. 1), при гострому АФ отруєнні у тварин цей показник достовірно зростає уже на 1-у добу від часу потрапляння парацетамолу в організм – відповідно в 1,3 (МСМ₁) і 1,1 (МСМ₂) рази у порівнянні з інтактними щурами, що вказує на виражене збільшення як ланцюгових, так і ароматичних амінокислот у складі пептидних компонентів МСМ. Найвищого рівня вміст МСМ₁ і МСМ₂ сягнув на 3-ю добу після введення АФ. На 5-у добу експерименту ступінь вираженості інтоксикації у тварин, уражених АФ, дещо знизився в порівнянні з 3-ю добою, але рівня інтактних тварин досягнуто не було. Це, очевидно, свідчить про посилення в організмі деструктивних процесів під дією парацетамолу, а також про пригнічення детоксикуючої функції організму, що може призвести до порушення знешкодження ендогенних

токсинів і нагромадження внаслідок цього проміжних продуктів метаболізму.

Комбіноване введення АФ із солями кадмію та свинцю супроводжувалось значно інтенсивнішим зростанням показників інтоксикації. Максимальна величина вмісту середньомолекулярних пептидів спостерігалась на 1-у добу з моменту введення АФ і становила стосовно норми відповідно 193 (МСМ₁) і 144 % (МСМ₂) в плазмі крові.

Отже, гостре отруєння АФ на тлі 30-денного уведення субтоксичних доз кадмію хлориду і свинцю ацетату викликає більш виражені зміни, ніж окремішнє введенням АФ. Це свідчить про потенціювання токсичної дії цих токсикантів, що може бути наслідком як безпосереднього токсичного впливу, так і пригніченням функціональної активності системи детоксикації, внаслідок чого може порушуватись знешкодження ендо- і екзогенних токсинів.

Ще одним важливим і достовірним показником ступеня ендогенної інтоксикації є ЕІІ. Одночасно з нагромадженням середньомолекулярних пептидів у крові тварин наростає їх сумарний токсичний вплив на мембрани еритроцитів. Найвищий ступінь пошкодження еритроцитарних мембран у щурів, уражених парацетамолом, спостерігався на 3-ій день від часу дії ксенобіотика і склав 182 % від норми. На 5-ий день дії отрути ЕІІ, порівняно з інтактними тваринами, склав 162 %, що свідчить про зниження токсичного впливу парацетамолу на мембрани. Ступінь пошкодження еритроцитарних мембран у тварин із парацетамольним ураженням на тлі хронічного ураження солями кадмію та свинцю, як і вміст МСМ, лінійно зростає протягом експерименту. Максимальна величина ЕІІ спостерігалась на 1-ий день з моменту припинення дії токсинів і становила 201 % порівняно з інтактними щурами. Це свідчить про більш тривалу персистенцію токсичних метаболітів в організмі тварин за умови поєднаної дії ксенобіотиків.

Враховуючи, що еритроцитарні мембрани розглядаються як прототип плазматичних мембран всіх клітин організму, можна стверджувати про виражену мембранотропну дію парацетамолу, особливо в поєднанні з солями кадмію та свинцю. На порушення структури та функцій клітинних мембран вказують і результати досліджень активності цитозольних ферментів (АлАТ та АсАТ) у плазмі крові. Як відомо, пошкодження плазматичних мембран призводить до виходу ферментів із цитозоля, і їхній вміст свідчить про ступінь пошкодження мембран, що впливає на синдром ендогенної інтоксикації.

Проведені нами дослідження підтверджують мембранотропну дію парацетамолу та солей важких металів. На це вказує достовірне зростання активності АлАТ і АсАТ як при роздільному, так і при поєднаному введенні досліджуваних нами токсинів.

Аналізуючи результати роботи, варто відзначити, що у тварин, уражених парацетамолом, максимальна активність амінотрансфераз у плазмі крові спостерігалася на 3-ій день з моменту дії ксенобіотика і становила, відповідно, 257 (АлАТ) та 79 % (АсАТ) на 5-у добу, тоді як у щурів, які зазнали поєднаної дії ксенобіотиків – на 1-ий день експерименту (331 % – АлАТ та 85 % – АсАТ на 5-у добу) стосовно норми. Ймовірно, це вказує на те, що мембрани гепатоцитів у тварин, яким моделювали хронічну інтоксикацію важкими металами, більш уразливі до дії парацетамолу. Варто відзначити, що 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. У гомогенаті печінки показники як АлАТ, так і АсАТ істотно зменшувались, особливо у групі тварин із поєднаною інтоксикацією солями важких металів та парацетамолом, максимально низького рівня сягнули на 5-у добу експерименту, знизилась у 3,5 та 8,7 разу порівняно з інтактними.

Подальші дослідження показників ендогенної інтоксикації та стану плазматичних мембран можна продовжувати з метою впровадження в клінічну практику для покращення діагностики патологічних станів, обумовлених токсичним впливом парацетамолу та солей важких металів.

Таблиця 1

Вплив парацетамолу та солей важких металів на показники ендогенної інтоксикації (M±m)

Групи тварин									
Інтактні	Уражені парацетамолом			Уражені кадмію хлоридом та свинцю ацетатом			Уражені кадмію хлоридом та свинцю ацетатом, парацетамолом		
	1 доба, n=6	3 доба, n=6	5 доба, n=6	1 доба, n=6	3 доба, n=6	5 доба, n=6	1 доба, n=6	3 доба, n=6	5 доба, n=6
АлАТ, ммоль/(л × год), плазма крові									
0,302 ± 0,013	0,593 ± 0,019 p ₁ <0,01	0,775 ± 0,148 p ₁ <0,001	0,712 ± 0,019 p ₁ <0,001	0,677 ± 0,030 p ₁ <0,001	0,603 ± 0,023 p ₁ <0,001	0,665 ± 0,018 p ₁ <0,001	1,001 ± 0,028 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	0,913 ± 0,029 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05 p ₃ <0,001	0,938 ± 0,059 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
АсАТ, ммоль/(л × год), плазма крові									
0,084 ± 0,003	0,060 ± 0,002 p ₁ <0,001	0,064 ± 0,002 p ₁ <0,001	0,066 ± 0,009 p ₁ <0,05	0,037 ± 0,002 p ₁ <0,001	0,041 ± 0,002 p ₁ <0,001	0,053 ± 0,003 p ₁ <0,001	0,057 ± 0,002 p ₂ <0,001	0,068 ± 0,001 p ₂ <0,001	0,072 ± 0,002 p ₂ <0,02
АлАТ, ммоль/(кг × год), гомогенат печінки									
1,648 ± 0,41	0,473 ± 0,31 p ₁ <0,001	0,583 ± 0,25 p ₁ <0,001	0,522 ± 0,30 p ₁ <0,001	0,522 ± 0,30 p ₁ <0,001	0,333 ± 0,028 p ₁ <0,001	0,345 ± 0,26 p ₁ <0,001	0,203 ± 0,20 p ₁ <0,001	0,068 ± 0,19 p ₁ <0,001	0,047 ± 0,13 p ₁ <0,001
АсАТ, ммоль/(кг × год), гомогенат печінки									
1,790 ± 0,17	0,573 ± 0,25 p ₁ <0,001	0,613 ± 0,27 p ₁ <0,001	0,485 ± 0,26 p ₁ <0,001	0,572 ± 0,24 p ₁ <0,001	0,352 ± 0,25 p ₁ <0,001	0,293 ± 0,25 p ₁ <0,001	0,218 ± 0,21 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001	0,212 ± 0,25 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,02	0,205 ± 0,19 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,05
МСМ ₁ , плазма крові, ум.од.									
0,339 ± 0,010	0,453 ± 0,011 p ₁ <0,001	0,513 ± 0,029 p ₁ <0,001	0,469 ± 0,009 p ₁ <0,001	0,598 ± 0,015 p ₁ <0,001	0,650 ± 0,027 p ₁ <0,001	0,554 ± 0,015 p ₁ <0,001	0,655 ± 0,025 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,05	0,648 ± 0,017 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,1	0,664 ± 0,005 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
МСМ ₂ , плазма крові, ум.од.									
0,113 ± 0,069	0,134 ± 0,009 p ₁ <0,1	0,109 ± 0,007 p ₁ <0,1	0,103 ± 0,003 p ₁ <0,1	0,189 ± 0,003 p ₁ <0,05	0,227 ± 0,008 p ₁ <0,05	0,242 ± 0,008 p ₁ <0,05	0,163 ± 0,003 p ₂ <0,001	0,154 ± 0,004 p ₂ <0,001	0,145 ± 0,004 p ₂ <0,001
Еритроцитарний індекс інтоксикації, %									
32,26 ± 1,7	53,27 ± 1,05 p ₁ <0,001	58,8 ± 0,93 p ₁ <0,001	51,95 ± 1,92 p ₁ <0,001	80,18 ± 2,23 p ₁ <0,001	68,62 ± 1,77 p ₁ <0,001	66,98 ± 1,07 p ₁ <0,001	64,87 ± 1,76 p ₂ <0,05	56,22 ± 2,46 p ₂ <0,001	48,15 ± 2,42 p ₂ <0,001

Висновки. Гостре отруєння парацетамолом за умов тривалого введення солей кадмію та свинцю супроводжується більш вираженими змінами показників ендогенної інтоксикації та стану плазматичних мембран, ніж ізольоване ураження парацетамолом, на що вказує достовірне збільшення вмісту молекул середньої маси та еритроцитарного індексу інтоксикації. Максимальні зміни спостерігалися на третю добу від моменту введення парацетамолу.

тамолом, на що вказує достовірне збільшення вмісту молекул середньої маси та еритроцитарного індексу інтоксикації. Максимальні зміни спостерігалися на третю добу від моменту введення парацетамолу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабахаян Р.В. Отравление безрецептурными ненаркотическими анальгетиками / Р.В. Бабахаян. — Ремедиум. — 1999. — С. 7 — 8.
2. Баранов А.А. Оптимизация жаропонижающей терапии у детей раннего возраста с респираторными вирусными инфекциями / А.А. Баранов, Н.А. Геппе // Рос. педиатр. журн. — 1999. — №5. — С. 52 — 54.
3. Блюгер А.Ф. Успехи гепатологии / А.Ф. Блюгер, Л.А. Максимова, О.Я. Карташова и др. — Рига, 1975. — Вып. 5. — С. 397 — 425.
4. Блюгер А.Ф. Практическая гепатология / А.Ф. Блюгер, И.Н. Новицкий // Рига, 1984. — 405с.
5. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей / Под. ред. В.Т. Ивашкина. — М.: Издательский дом «М-Вести», 2002. — 416 с.
6. Габриэлян Н.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н.И. Габриэлян, В.И. Липатова // Лаб. дело. — 1984. — № 3. — С. 138—140.
7. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии / А.М. Горячковский — Одесса: Ок. Фа., 1994. — 415 с.
8. Грищенко С.В. Комплексная гигиеническая оценка суммарного суточного поступления тяжелых металлов в организм жителей экоризисного региона / С. В.Грищенко, Н.В. Гринь, М.Г.Степанова и др. // Довкілля та здоров'я. — 2004. — № 2 (29). — С. 5 — 9.
9. Ивашкин В.Т. Основные принципы метаболизма лекарств и безопасное применение парацетамола / В.Т. Ивашкин, В.П. Фисенко, М.В. Маевская // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 1999. — № 2. — С. 83—88.
10. Лужников Е.А. Неотложные состояния при острых отравлениях (диагностика, клиника, лечение) / Е.А. Лужников, Ю.Н. Остапенко, Г.Н. Суходолова. — М.: Медпрактика, 2001. — 220 с.
11. Оболенский С.В. Диагностика стадии эндогенной интоксикации и дифференцированное применение методов эфферентной терапии / С.В. Оболенский, М.Я. Малакова, А.Л. Ершов // Вестник хирургии. — 1991. — № 3. — С. 95 — 100.
12. Тогайбаев А.А. Метод определения эндогенной интоксикации / А.А.Тогайбаев, А.В. Кургузкин, И.В. Рикун, Р.М. Карибжанова // Лаб. дело. — 1988. — № 9. — С. 22 — 24.
13. Янчук В.В. Особливості комбінованої дії натрію нітрату та свинцю ацетату на рівні смертельних доз у щурів різного віку / Янчук В.В., Власик Л.І. // Буковинський медичний вісник. — 2002. — Т. 6, № 1. — С. 173 — 175.
14. Dart R.C. Treatment of pain or fever with paracetamol : a systemic review / R.C. Dart, E.K. Kuffner, B.H. Rumack // Am. J. Ther. 2000. — Vol. 7. — P. 123 — 134.
15. Goyer R.A. Toxic and essential metal interactions / R.A. Goyer // Annu Rev Nutr. — 1997. — Vol. 17. — P. 37 — 50.
16. Kaji T. Severe damage of cultured vascular endothelial cell monolayer after simultaneous exposure to cadmium and lead / T.Kaji, M.Suzuki, C.Yamamoto // Arch. Environ. Contam. and Toxicol. — 1995. — Vol. 28, № 2. — P. 168 — 172.
17. Margeli A. Effect of cadmium pretreatment on liver regeneration after partial hepatectomy in rats / A.Margeli, S.Theocharis, S.Skaltsas, A.Skopelitou // Arch. toxicol. — 1994. — Vol. 68, № 2. — P. 85 — 90.

SUMMARY

DYNAMICS OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS WITH ACUTE PARACETAMOL POISONING COMBINED WITH CADMIUM AND LEAD SALTS CHRONIC INTOXICATION

Trybuch N.Ya., Krynytska I.Ya.

The influence of separate and combined introduction of paracetamol and salts of heavy metals on indices of endogenous intoxication and plasma membranes state in rats was investigated. Erythrocyte index of intoxication, level of middle-mass molecules, AST and ALT activity was determined in blood plasma. It was defined, that the progression of the pathological process in the liver and the depletion of the compensatory capacity cause the increasing of endogenous intoxication indices.

Key words: paracetamol, heavy metals, regulation, erythrocyte index of intoxication, middle-mass molecules