

# ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ОТРАВЛЕНИЙ

## ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕЙЦИНА И ЦИНКА СУЛЬФАТА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА, ВЫЗВАННЫХ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

В. М. Шейбак, В. Ю. Смирнов, М. В. Горецкая, Р. И. Кравчук<sup>1</sup>

Композиция, состоящая из лейцина и цинка сульфата (4:1) в дозе 100 мг/кг массы, оказывает гепатопротекторное действие, препятствуя изменениям ультраструктуры ткани печени и нарушениям метаболизма свободных аминокислот, вызываемым парацетамолом в токсической дозе.

**Ключевые слова:** парацетамол, лейцин, цинка сульфат, печень, морфология, аминокислоты

### ВВЕДЕНИЕ

Одним из самых безопасных неопиоидных анальгетиков считается парацетамол (ацетаминофен) [6]. Несмотря на то что гепатотоксичность этого соединения проявляется при передозировке, описаны случаи поражения печени и при употреблении его в терапевтических дозах [6, 10, 13]. Метаболизм парацетамола осуществляется путем конъюгирования с глюкуроновой кислотой или сульфатами. Токсичным является продукт окисления парацетамола системой цитохрома Р-450 — N-ацетил-р-бензохинонимин, который в свою очередь нейтрализуется, связываясь с глутатионом [8]. Лечение токсического поражения печени, как правило, предусматривает восстановление нарушенного гомеостаза глутатиона серусодержащими аминокислотами или их производными [11, 14]. Вместе с тем изучение возможности снижения токсичности парацетамола введением соединений природного происхождения, обладающих широким спектром биологической активности, также представляется перспективным.

Пул свободных аминокислот является интегральным показателем изменений в обмене веществ, охватывающим практически все метаболические пути, что позволяет использовать его не только для получения информации об общей направленности метаболических процессов, но и для определения эффективности коррекции возникающих нарушений [2 – 4].

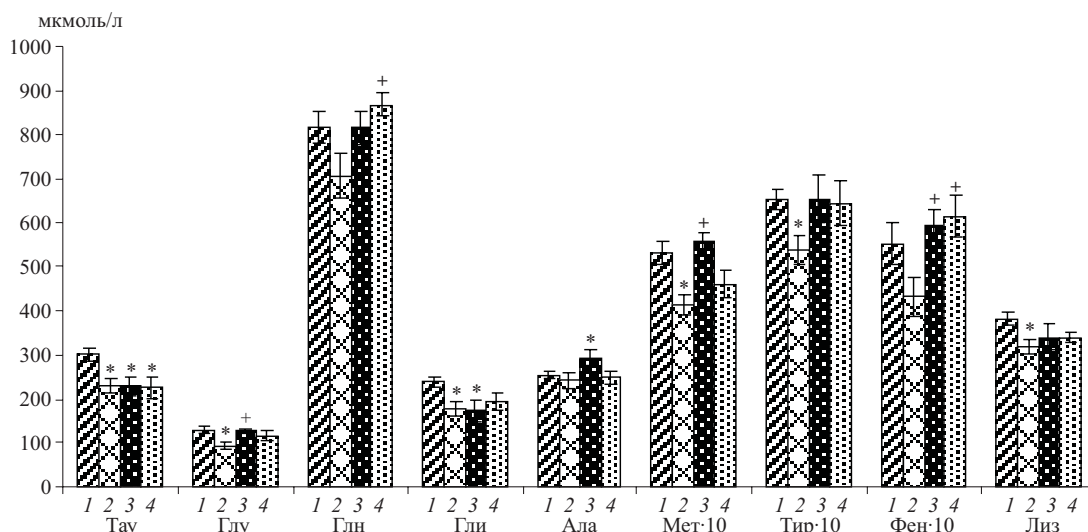
Целью работы было исследование эффективности лейцина и композиции, состоящей из аминокислоты лейцина и сульфата цинка, для коррекции метаболических нарушений, вызываемых парацетамолом.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 40 белых крысах-самках линии Вистар массой 170 – 200 г, получавших стандартный рацион вивария. Парацетамол (ацетами-

нофен, “Fluka”) вводили в желудок в виде взвеси в 2 % слизи крахмала 1 раз в день ежедневно в течение 5 дней в токсической дозе 750 мг/кг массы тела, что соответствует 1/4 – 1/6 DL<sub>50</sub>. Суточная норма лейцина для человека (1,1 – 1,2 г) обычно обеспечивается его поступлением в составе белковых пищевых продуктов растительного и животного происхождения. В наших экспериментах лейцин (“Fluka”) вводили дополнительно в желудок в дозе 100 мг/кг массы, а композицию, состоящую из аминокислоты лейцина и цинка сульфата (“Белреакхим”, хч), в дозе 100 мг/кг массы [5], соответственно через 30 мин после введения парацетамола. Через 24 ч после последнего введения парацетамола животных декапитировали. Электронно-микроскопическое изучение проводили в образцах печени от трех особей из каждой экспериментальной группы животных, фиксированных 1 % раствором четырехокси осмия на 0,1 М буфере Миллонига, рН 7,4 при 4° С в течение 2 ч. После дегидратации в спиртах восходящей концентрации и ацетоне образцы заливали в смесь эпон — аралдит. Из полученных блоков на ультрамикротоме MT-7000 ULTRA (США) готовили полутонкие срезы, которые окрашивали метиленовым синим. Препараты просматривали в световом микроскопе и выбирали участок для дальнейшего изучения ультраструктурных изменений (для соблюдения стандартности при окончательной заточке образца печени отбирали однотипные участки печеночной дольки). Затем изготавливали ультратонкие срезы, которые контрастировали 2 % раствором уранилацетата на 50 % метаноле и цитратом свинца. Препараты изучали в электронном микроскопе JEM-100 CX (Япония) при увеличениях × 7000 – 24000. В депротеинизированных 0,2 н. хлорной кислотой образцах плазмы крови определяли содержание свободных аминокислот на автоматическом анализаторе аминокислот Т339М (Чехия). Математическую обработку полученных данных проводили с использованием компьютерных программ из пакета Statistica.

<sup>1</sup> Гродненский государственный медицинский университет ЦНИЛ, Беларусь, Гродно, 230015, ул. Горького, 80.



Концентрация свободных аминокислот в плазме крови крыс при введении лейцина и его композиции с сульфатом цинка на фоне интоксикации парацетамолом (представлены только достоверные изменения).

1 — контроль, 2 — парацетамол, 3 — парацетамол + лейцин, 4 — парацетамол+лейцин+сульфат цинка.

Концентрации метионина (Мет), тирозина (Тир) и фенилаланина (Фен) увеличены в 10 раз. Различия достоверны ( $p < 0,05$ ) по сравнению: \* — с контролем; + — с группой, получавшей парацетамол.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В гепатоцитах всех зон долек печени животных, которым вводили парацетамол, наблюдалось усиление активности ядерного аппарата (увеличение размеров ядер, а также размера и количества ядрышек, часто тесно контактирующих с кариолеммой и содержащих преимущественно гранулярный компонент). В цитоплазме гепатоцитов перипортальной и интермедиальной зон долек наблюдалась умеренно развитая гранулярная эндоплазматическая сеть, с цистернами которой ассоциировались многочисленные рибосомы. Обнаруживалось множество свободных рибосом. Данные ультраструктурные изменения свидетельствуют об усилении биосинтеза белка как для нужд своих клеток, так и “на экспорт” [1, 7]. Введение животным лейцина не вызывало существенных ультраструктурных изменений в ткани печени. Отмечались признаки активации биосинтетических и обменных процессов, морфологическим подтверждением которых явились глубокие интердегитации латеральных поверхностей ге-

патоцитов, удлиненные микроворсинки со стороны сосудистого полюса гепатоцитов, многочисленные микроворсинки в желчных капиллярах. При одновременном введении парацетамола и лейцина наблюдали выраженные ультраструктурные изменения в ткани печени как со стороны гепатоцитов, так и микрососудистого русла: конденсацию хроматина в ядрах и их фрагментацию, гиперплазию митохондрий (сопровожаемую набуханием матрикса, атипизмом крист), изменение формы и наружных контуров органелл, утолщение мембран латеральных поверхностей гепатоцитов, гипертрофию желчных капилляров. На сосудистом полюсе гепатоцитов имел место локальный отек, деструктивные изменения эндотелиальных клеток, активация макрофагов. Одновременное введение парацетамола и композиции нивелирует деструктивные изменения, наблюдаемые в других опытных группах, получавших парацетамол.

Курсовое введение парацетамола вызывает достоверное снижение общего пула свободных аминокислот в плазме крови (таблица), что, вероятно, обуслов-

### Структура пула свободных аминокислот в плазме крови животных

Показатель	Контроль	Парацетамол	Парацетамол + лейцин	Парацетамол + композиция
Общее содержание аминокислот, мкмоль/л	3912 ± 119	3327 ± 169*	3765 ± 143	3913 ± 113
Заменимые аминокислоты / незаменимые аминокислоты	1,74 ± 0,025	1,77 ± 0,07	1,84 ± 0,134	1,87 ± 0,132
Аминокислоты с разветвленной углеродной цепью / ароматические аминокислоты	3,31 ± 0,063	3,63 ± 0,289	3,15 ± 0,149	3,16 ± 0,164
Глутамат / глутамин	0,16 ± 0,017	0,13 ± 0,011*	0,16 ± 0,0088	0,14 ± 0,013
Фенилаланин / тирозин	0,84 ± 0,064	0,82 ± 0,095	0,94 ± 0,087	0,97 ± 0,112

\* достоверно ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы животных.

лено усилением утилизации аминокислот. При этом соотношение суммарных концентраций заменимых и незаменимых аминокислот практически не изменялось. Усиливалось связывание аммиака и образование глутамина (таблица). Вызванное парацетамолом уменьшение в плазме крови уровней метионина (на 22 %), лизина (на 16 %) и тирозина (на 18 %), см. рисунок, вероятно, отражает активацию процессов биосинтеза белка. Анализируя изменения в пуле свободных аминокислот, следует заметить, что одной из причин снижения концентрации глицина может быть усиленное использование его в процессах детоксикации в печени [9, 15]. Уменьшение уровня метионина является, вероятно, причиной снижения концентрации его метаболита — таурина на 24 % (рисунок) и, возможно, связано с усилением его утилизации в реакциях конъюгации желчных кислот [3, 12]. У животных, одновременно получавших парацетамол и лейцин (см. рисунок), обнаруживалось снижение уровней только двух аминокислот — глицина и таурина. Одновременно в плазме крови увеличивалось содержание основной глюконеогенной аминокислоты — аланина. Введение композиции, содержащей лейцин и цинка сульфат, на фоне интоксикации фактически нивелировало биохимические изменения, вызываемые парацетамолом (рисунок). Отмечалось только снижение концентрации таурина. Анализ характера взаимосвязей аминокислот с разветвленной углеводородной цепью в данных группах животных показал, что достоверная положительная корреляционная связь между лейцином, с одной стороны, и валином и изолейцином — с другой, нарушалась только при введении композиции из лейцина и сульфата цинка и не изменялась при введении одного лейцина. Это может свидетельствовать о

различном характере механизма действия поступающего экзогенно лейцина и модулирующем действии сульфата цинка.

## ВЫВОД

Композиция лейцина и цинка сульфата обладает гепатопротекторным действием, препятствуя нарушениям ультраструктуры ткани печени и метаболическому дисбалансу в плазме крови, вызванным парацетамолом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Р. И. Кравчук, М. В. Горецкая, В. М. Шейбак, М. И. Бушма, *Ж. ГГМУ*, № 1, 48 – 52 (2005).
2. Л. И. Нефедов, *Мед. новости*, № 7, 9 – 13 (2000).
3. В. М. Шейбак, *Обмен свободных аминокислот и КоА при алкогольной интоксикации*, Гродно (1998).
4. В. М. Шейбак, *Здравоохранение*, № 6, 27 – 29 (1999).
5. В. М. Шейбак, М. В. Горецкая, В. Ю. Смирнов, Р. Е. Лис, Заявка на патент РБ № а 20050524, (2005).
6. Е. А. Ушкалова, *Педиатрия*, № 5, 88 – 93 (2004).
7. F. Burdan, Z. Siezienievska, and Z. Urbanowicz, *Hum-Exp-Toxicol. Nov*, **20**(11), 569 – 575 (2001).
8. J. G. Bessems, N. P. Vermeulen, *Crit-Rev-Toxicol. Jan*, **31**(1), 55 – 138 (2001).
9. H. Jaeschke, G. J. Gores., A. I. Cederbaum, et al., *Toxicol-Sci-Feb*, **65**(2), 166 – 176, (2002).
10. L. P. James, E. Wells, R. H. Beard, and H. C. Farrar, *J. Pediatr. May*, **140**(5), 522 – 526, (2002).
11. B. H. Lauterburg, *Am. J. Ther.*, May-Jun, **9**(3), 225 – 233 (2002).
12. R. Lourenco and M. Camili, *Nutr. Hosp.*, V. 17, № 6, 262 – 270, (2002).
13. B. H. Rumack, *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, **40**(1), 3 – 20, (2002).
14. F. N. Shirota, E. G. DeMaster, D. W. Shoeman, and H. T. Nagasawa, *Toxicol. Lett.*, Jun. 7, **132**(1), 1 – 8 (2002).
15. S. Vitols, *J. Intern. Med.*, Feb, **253**(2), 95 – 98, (2003).

Поступила 04.12.06

## USING LEUCINE AND ZINC SULFATE FOR THE CORRECTION OF METABOLIC DISTURBANCES INDUCED BY PARACETAMOL

V. M. Sheibak, V. Yu. Smirnov, M. V. Goretskaya, and R. I. Kravchuk

Grodno State Medical University, ul. Gor'kogo 80, Grodno, 230015, Belarus

A mixture of leucine and zinc sulfate (4 : 1; 100 mg/kg body weight) produces a hepatoprotective effect, preventing the ultrastructural injury of hepatic tissue and the disturbance of free amino acid metabolism caused by a toxic dose of paracetamol.