

УДК 57.044 : 615.27

КОРРЕКЦИЯ ПРЕПАРАТОМ «ТАУЦИН» ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ В ПЛАЗМЕ КРЫС С ХОЛЕСТАЗОМ»

А.Ю. Пашко¹, К.М. Бушма²,
О.А. Борисенко¹, М.И. Бушма¹

¹УО «Гродненский государственный медицинский университет» МЗ Республики Беларусь, кафедра фармакологии им. профессора М.В. Кораблева, 230005, г. Гродно, Беларусь

²УО «Гродненский государственный медицинский университет» МЗ Республики Беларусь, кафедра анестезиологии и реаниматологии, 230017, г. Гродно, Беларусь

У крыс с холестатическим поражением печени (перевязка общего желчного протока в течение 13 дней) комбинация таурина с цинка диаспаратом в соотношении компонентов 50 г/молей: 1 г/молю («тауцин-50») в дозе 0,5 г/кг обладает гепатозащитным действием, судя по улучшению маркерных биохимических показателей гепатотоксичности в плазме. По мере увеличения периода холестаза до 21 дня и нарастания степени тяжести гепатопатии, «тауцин-20» в вышеуказанной дозе также обладает равноэффективным гепатозащитным действием.

Ключевые слова: крысы, холестаз, маркерные биохимические показатели гепатотоксичности в плазме, комбинация таурина с цинка диаспаратом, гепатозащитное действие.

Введение. Таурин в качестве лекарственного средства применяют при хронической сердечной недостаточности, интоксикации сердечными гликозидами и сахарном диабете (дибикор); травмах глаз, дистрофических заболеваниях роговицы и катаракте (тауфон); как гепатопротектор (в составе комплексного лекарственного средства «тавамин») [1]. Неорганические и органические (цинка аспарат и оротат, оксалат и цитрат, фитат и ацетат) соли цинка широко применяют не только наружно, но и в комбинированной терапии заболеваний печени и соединительной ткани, детском церебральном параличе, гипогонадизме и гипопинемии [2,3].

В настоящей исследовании изучены гепатозащитные свойства комбинации таурина с цинка диаспаратом у крыс с холестатическим поражением печени.

Материалы и методы исследования. Условия проведения исследований. Проведено 2 серии опытов.

Первая серия. Опыты проведены на 24 нелинейных белых крысах-самцах массой 350 – 400 г в соответствии с Хельсинской декларацией о гуманном обращении с животными. Холестаз,

длительностью 13 дней, моделировали путем перевязки общего желчного протока выше мест впадения протоков поджелудочной железы. Крысам второй опытной группы вводили комбинацию таурина с цинка диаспаратом, составленную по принципу 1 г/моль цинка диаспартата (0,35 г) + 50 г/молей таурина (6,25 г) («тауцин-50»). Его начинали вводить через 24 часа после перевязки протока (в желудок в виде взвеси в слизи крахмала, 0,5 г/кг/день в течение 11 дней). Группой сравнения служили крысы с холестазом (первая опытная группа), которым вводили слизь крахмала. Ложнооперированным животным (контроль) производили те же манипуляции, за исключением перевязки протока, и вводили слизь крахмала. Через 24 часа после последнего введения веществ крыс лишали корма в течение 1 суток, декапитировали, собирали кровь и получали плазму.

Вторая серия. Опыты проведены на 24 нелинейных белых крысах-самцах массой 250 – 300 г. Детали эксперимента представлены в первой серии. Длительность холестаза при этом составляла 21 день. Испытывали «тауцин-20» (таурин – 20 г/молей + цинка диаспаратат – 1 г/моль). Его вводили в дозе 0,5 г/кг/день в течение 19 дней.

Пашко Анастасия Юрьевна (Pashko Anastasiya Urjevna), ассистент и аспирант кафедры фармакологии им. профессора М.В. Кораблева УО «Гродненский государственный медицинский университет» МЗ Республики Беларусь, 230005, г. Гродно, Республика Беларусь, anfstas@inbox.ru

Бушма Кирилл Михайлович (Bushma Kiryll Mikhailovich), кандидат медицинских наук, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии, 230017, г. Гродно, Республика Беларусь,

Борисенко Ольга Александровна (Borisenok Olga Alexandrovna), кандидат медицинских наук, ассистент кафедры фармакологии им. профессора М.В. Кораблева УО «Гродненский государственный медицинский университет» МЗ Республики Беларусь, 230005, г. Гродно, Республика Беларусь

Бушма Михаил Иванович (Bushma Mihail Ivanovich), доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии им. профессора М.В. Кораблева УО «Гродненский государственный медицинский университет» МЗ Республики Беларусь, 230005, г. Гродно, Республика Беларусь, pharma@grsmu.by

О степени выраженности гепатопатии судили по данным показателей гепатотоксичности в плазме крови крыс. Определение спектра биохимических параметров выполняли с помощью анализатора KONELAB 30i (Финляндия). В плазме определяли активность аланинамино- и аспаргатаминотрансфераз (АлАТ, АсАТ) модифицированным, оптимизированным кинетическим методом в соответствии с рекомендациями Международной Федерации Клинической химии, γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП) – кинетическим методом по Перзияну и Слику [4], щелочной фосфатазы (ЩФ) – методом Бессея, Лоури и Брока [5]; содержание общего билирубина и его фракций определяли в реакции взаимодействия с диазотированной сульфаниловой кислотой по Йендрашику [6].

Количественную оценку полученных результатов проводили методом непараметрической статистики Манна-Уитни, применяя поправку

Бонферрони с использованием пакета программ «Statistica» 6.0.437.0 для Windows (StatSoft, Inc., США), лицензионный номер 31415926535897 [7].

Результаты и обсуждение. Холестаз у крыс длительностью 13 дней сопровождается поражением печени. Об этом свидетельствует увеличение в плазме активности АлАТ и АсАТ, ГГТП и ЩФ на 157 и 132, 76 и 99%, соответственно. Содержание общего и неконъюгированного билирубина возрастает в 46 и 39 раз. Регистрируется отсутствующий у ложнопериорированных крыс конъюгированный билирубин (табл. 1).

Комбинация таурина с цинка диаспаратом («тауцин-50») обладает гепатозащитным действием. Под ее влиянием снижается активность АлАТ и АсАТ, ГГТП и ЩФ, а также содержание общего, неконъюгированного и конъюгированного билирубина на 21-89 % (табл. 1).

Увеличение продолжительности холестаза до 21 дня ассоциируется с более выраженным пора-

Таблица 1

Влияние «тауцин-50» (в желудок в виде взвеси в слизи крахмала, 0,5 г/кг/день – 11 доз) на биохимические показатели гепатотоксичности в плазме крыс с холестазом (перевязка общего желчного протока в течение 13 дней)

Изучаемые показатели	Условия опыта		
	Ложная операция (n=8)	Холестаз (n=8)	Холестаз + «тауцин-50» (n=8)
АлАТ (Ед/л)	35,0 (32,0; 37,5)	90,0 (81,0; 97,5) <u>0,00 (0,0008)</u> -	49,0 (40,5; 57,5) <u>7,00 (0,008)</u> <u>3,50 (0,003)</u>
АсАТ (Ед/л)	37,5 (32,5; 40,5)	87,0 (73,5; 95,0) <u>0,00 (0,0008)</u> -	51,5 (43,0; 65,0) <u>7,50 (0,010)</u> <u>4,00 (0,003)</u>
ГГТП (Ед/л)	4,5 (4,2; 5,0)	7,9 (7,5; 8,3) <u>0,00 (0,001)</u> -	4,7 (4,1; 5,4) <u>26,00 (0,817)</u> <u>0,00 (0,001)</u>
ЩФ (Ед/л)	209,0 (200,0; 212,0)	415,0 (392,0; 428,0) <u>0,00 (0,001)</u> -	328,0 (300,0; 370,0) <u>5,5 (0,009)</u> <u>2,00 (0,002)</u>
Билирубин (мкмоль/л): общий,	4,1 (3,9; 4,3)	190,0 (184,0; 205,0) <u>0,00 (0,0008)</u> -	26,7 (17,8; 40,7) <u>0,00 (0,0008)</u> <u>0,00 (0,0008)</u>
неконъюгированный,	4,1 (3,9; 4,3)	158,5 (129,5; 163,2) <u>0,00 (0,0008)</u> -	23,3 (17,2; 27,3) <u>0,00 (0,0008)</u> <u>0,00 (0,0008)</u>
конъюгированный.	0	31,5 (26,5; 58,7) <u>0,00 (0,0008)</u> -	3,4 (1,2; 12,4) <u>4,00 (0,003)</u> <u>1,50 (0,001)</u>

Примечание: – Первая строка цифр: перед скобками – значения Me; в скобках – 25% и 75% квантили. Вторая и третья строки цифр: перед скобками – U – значения критерия Манна-Уитни; в скобках – значения p. Его статистически значимые величины (с учетом поправки Бонферрони) выделены полужирным шрифтом.

жением печени крыс. Активность АлАТ и АсАТ, ГГТП и ЩФ при этом увеличивается, соответственно, на 211 и 178, 121 и 120%. Содержание общего билирубина, а также его неконъюгированной и конъюгированной фракций повышается соответственно в 49, 56 и 26 раз (табл. 2).

В этих условиях опыта иное соотношение таурина с цинка диаспаратом («тауцин-20») также обладает гепатозащитным действием. Об этом свидетельствует снижение в плазме активности АлАТ и АсАТ, ГГТП и ЩФ на 48 и 39, 44 и 36%, а также содержания общего, конъюгированного и неконъюгированного билирубина на 67, 72 и 33%

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что у крыс с перевязкой общего желчного протока в течение 13 и 21 дня регистрируется поражение печени (судя по изменениям биохимических маркерных показателей гепатотоксичности в плазме), более выраженное с увеличением продолжительности холестаза. В механизме развития холестатического гепа-

тозогепатита играет роль нарушение эвакуации желчи. Высокие концентрации в ней желчных кислот, обладающих детергентным действием, оказывают цитотоксическое действие на гепатоциты. Повреждаются их мембраны, особенно богатые фосфолипидами. Следствием повреждения плазматических мембран гепатоцитов является выход из них в плазму цитозольных ферментов (АлАТ, АсАТ, ГГТП, ЩФ). Развивается гипербилирубинемия, как следствие блокады экскреции пигмента с калом. Повышенный уровень конъюгированного билирубина не связан с активацией процессов его глюкуроконъюгации, а обусловлен его выходом в плазму через поврежденную плазматическую мембрану [8].

Комбинация таурина с цинка диаспаратом («тауцин-50», «тауцин-20») обладает гепатозащитным действием. Это проявляется в улучшении маркерных биохимических показателей гепатотоксичности в плазме. Гепатозащитное действие «тауцин», по-видимому, обусловлено гепатоза-

Таблица 2

Влияние «тауцин-20» (в желудок в виде взвеси в слизи крахмала, 0,5 г/кг/день – 19 доз) на биохимические показатели гепатотоксичности в плазме крыс с холестазом (перевязка общего желчного протока в течение 21 дня)

Изучаемые показатели	Условия опыта		
	Ложная операция (n=8)	Холестаз (n=8)	Холестаз + «тауцин-20» (n=8)
АлАТ (Ед/л)	34,5 (32,0; 36,5)	107,5 (101,5; 114,0) <u>0,00 (0,0008)</u> -	56,5 (48,5; 66,5) <u>0,00 (0,0008)</u> 0,00 (0,0008)
АсАТ (Ед/л)	39,5 (38,0; 41,5)	110,0 (102,5; 113,5) <u>0,00 (0,0008)</u> -	67,0 (61,5; 72,5) <u>0,00 (0,0008)</u> 0,00 (0,0008)
ГГТП (Ед/л)	4,2 (4,0; 4,5)	9,3 (8,3; 9,9) <u>0,00 (0,0008)</u> -	5,2 (5,0; 5,8) <u>0,00 (0,0008)</u> 0,00 (0,0008)
ЩФ (Ед/л)	206,5 (193,0; 215,0)	456,0 (423,0; 479,0) <u>0,00 (0,0008)</u> -	294,0 (268,0; 303,0) <u>0,00 (0,0008)</u> 0,00 (0,0008)
Билирубин общий: (мкмоль/л)	4,1(3,9; 4,4)	200,0 (189,0; 211,0) <u>0,00 (0,0008)</u> -	66,0 (59,0; 75,0) <u>0,00 (0,0008)</u> 0,00 (0,0008)
неконъюгированный	3,2 (2,9; 3,6)	177,5 (168,0; 191,0) <u>0,00 (0,0008)</u> -	50,5 (42,0; 62,5) <u>0,00 (0,0008)</u> 0,00 (0,0008)
конъюгированный	0,9 (0,3; 1,1)	23,0 (20,0; 28,0) <u>0,00 (0,0008)</u> -	15,5 (13,0; 17,5) <u>0,00 (0,0008)</u> 7,50 (0,009)

Примечание: – Первая строка цифр: перед скобками – значения Me; в скобках – 25% и 75% квартили. Вторая и третья строки цифр: перед скобками – U – значения критерия Манна-Уитни; в скобках – значения p. Его статистически значимые величины (с учетом поправки Бонферрони) выделены полужирным шрифтом.

щитными свойствами входящих в его состав компонентов. Известна способность аминокислоты таурина обезвреживать гепатотоксичные желчные кислоты с образованием нетоксичных таурохолатов. Кроме того, он обладает антиоксидантным цитопротекторным действием [1,9]. Гепатозащитное действие цинка может быть опосредовано его ролью в качестве кофактора более 200 ферментов внутриклеточного метаболизма, в том числе и ферментов антиоксидантной защиты клеток (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза) [2,10].

Выводы. 1. У крыс с холестазом (перевязка общего желчного протока в течение 13 и 21 дня) развивается поражение печени (судя по увеличению в плазме активности АЛАТ и АсАТ, ГГТП и ЩФ, общего билирубина и его фракций), более выраженное с увеличением его продолжительности.

2. Комбинация таурина с цинка диаспаратом в г/молярном соотношении компонентов 50: 1 («тауцин-50» - 11 доз) и 20: 1 («тауцин-20» - 19 доз) в дозе 0,5 г/кг обладает равноэффективным гепатозащитным действием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. Москва: Новая волна; 2005.
2. *Бут-Гусаим Л.Ст., Герашченко Н.В., Блошко Т.Е.* Перспективы использования препаратов цинка в перинатологии. Материалы научнопрактической конференции посвященной 60 лет службе скорой помощи и 10 лет УЗ «ГКО СМП». 5-7 сентября 2005. Гродно: ГрГМУ; 2005.

3. *Truong-Tran A.Q.* et al. The role of zinc in caspase activation and apoptotic cell

REFERENCES:

1. *Mashkovskij M.D.* Drugs. Moskva: Novaja volna; 2005 (in Russian).
2. *But-Gusaïm L.St., Gerashchenko N.V., Bloshko T.E.* Prospects of use of preparations of zinc in a perinatologi. Materialy nauchnoprakticheskoy konferentsii posvyashchennoy 60 let sluzhbe skoroy pomoshchi i 10 let UZ «GKO SMP». 5-7 sentyabrya 2005. Grodno: GrGMU; 2005 (in Russian).
3. *Truong-Tran A.Q.* et al. The role of zinc in caspase activation and

death. *Biometals.* 2001; 14: 315-330.

4. *Schumann G.* et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. Part 3. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of lactate dehydrogenase. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2002; 40: 643-648.

5. *Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И.* Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов

apoptotic cell death. *Biometals.* 2001; 14: 315-330.

4. *Schumann G.* et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. Part 3. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of lactate dehydrogenase. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2002; 40: 643-648.

5. *Gavrilov V.B., Mishkorudnaya M.I.* Spectrophotometric determination

of lipid hydroperoxide content in the plasma of blood. *Laboratornoye delo.* 1983; 3: 33-36.

6. *Камышников В.С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике Т. 2. Минск: «Беларусь»; 2002.

7. *Реброва О.Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Москва: МедиаСфера; 2002.

8. *Stiehi A.* Disturbances of bile acid metabolism on cholestasis. *Clin. Gastroenterol.* 1977; 6: 35-67.

of lipid hydroperoxide content in the plasma of blood. *Laboratornoye delo.* 1983; 3: 33-36 (in Russian).

6. *Kamyshnikov V.S.* Handbook of clinical and biochemical laboratory diagnosis T. 2. Minsk: «Belarus»; 2002 (in Russian).
7. *Rebrova O.Yu.* Statistical analysis of medical data. Moskva: MediaSfera; 2002 (in Russian).

8. *Stiehi A.* Disturbances of bile acid metabolism on cholestasis. *Clin.*

9. *Harada H.* et al. Oral taurine supplementation prevents the development of ethanol-induced hypertension in rats. *Hypertens Res.* 2000; 23: 277-284.

10. *Formigari A., Irato P., Santon A.* Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: biochemical and cytochemical aspects. *Comp. Biochem. Physiol. Pt. C.* 2007; 146: 443-459

Gastroenterol. 1977; 6: 35-67.

9. *Harada H.* et al. Oral taurine supplementation prevents the development of ethanol-induced hypertension in rats. *Hypertens Res.* 2000; 23: 277-284.

10. *Formigari A., Irato P., Santon A.* Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: biochemical and cytochemical aspects. *Comp. Biochem. Physiol. Pt. C.* 2007; 146: 443-459.

A.U. Pashko¹, K.M. Bushma², O.A. Borisenok¹, M.I. Bushma¹

CORRECTION WITH «TAUCINE» OF HEPATOTOXICITY PARAMETERS IN PLASMA OF RATS WITH CHOLESTASIS

¹Educational Institution «Grodno State Medical University» M.V. Korablev Chair of Pharmacology, Ministry of Health of the Republic of Belarus; 230005, Grodno, Belarus

²Educational Institution «Grodno State Medical University»; Chair of Anaesthesiology and Intensive Care, Ministry of Health of the Republic of Belarus, 230017, Grodno, Belarus

In rats with liver cholestatic injury (common bile duct ligation during 13 days), a combination of taurine with zinc diaspартate in the ratio of 50 g/mole to 1 g/mole («taucine-50») in dose of 0.5 g/kg shows a hepatoprotective effect judging from improvement of marker biochemical indicators of hepatotoxicity in plasma. As the period of cholesterase increases up to 21 days and hepatopathy is worsenig, «taucine-20» in the above mentioned dose also produces an equivalent hepatoprotective effect.

Keywords: rats, cholestasia, marker biochemical indicators of hepatotoxicity in plasma, combination of taurine with zinc diaspартate, hepatoprotective action

Переработанный материал поступил в редакцию 05.03.2015 г.