

2. Синдром «сухого глаза» (клиника, диагностика, лечение). Методические рекомендации / Л. К. Мошетьова [и др.] // М.: РМАПО, 2002. – 24 с.

3. Ушакова, Л. И. Возникновение и развитие синдрома «сухого глаза» у больных первичной открытоугольной глаукомой / Л. И. Ушакова, О. Н. Шункевич // Глаукома: теории, тенденции, технологии. НРТ/Spectralis Клуб Россия – 2013: XI Международная конференция: сб. научн. ст. – М., 2013. – С. 260–264.

4. Хоупс, М. Лечение глаукомы препаратами, не содержащими консервантов, является важной и реалистичной целью будущего / М. Хоупс, Д. Бродвэй // European Ophthalmic Review. – 2010. – №4. – Р. 23–28.

5. Handbook of Pharmaceutical Excipients / Ed. by Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey, Siân C. Owen. – London: Pharm. Press, 2009. – 917 с.

6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». –

1-е вид. – Доповнення 4. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2011 – 540 с.

7. Жемерова, Е. Г. К вопросу контроля микробиологической чистоты лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ. Сообщение 1. Проверка пригодности методик определения общего числа жизнеспособных аэробных микроорганизмов / Е. Г. Жемерова, А. И. Кобзарь, Н. П. Хованская // Фармаком. – 2002. – №3. – С. 51–55.

Адрес для корреспонденции:

61001, Украина,
г. Харьков, площадь Восстания, 17,
Институт повышения квалификации
специалистов фармации
Национального фармацевтического
университета,
кафедра промышленной фармации и экономики,
тел.: (057) 757–55–49,
e-mail: promek-ipksf@nuph.edu.ua,
pphe_sp@zt.kharkov.ua,
Фетисова Е. Г.

Поступила 03.11.2015 г.

Е. А. Калько¹, С. М. Дроговоз¹, Н. В. Захарко², Н. В. Бездетко¹

**ДЕСИНХРОНОЗ БЕЛКОВОГО И ПУРИНОВОГО ОБМЕНОВ
ПРИ ПАРАЦЕТАМОЛОВОМ ГЕПАТИТЕ**

¹Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

²Ровенский государственный базовый медицинский колледж, г. Ровно, Украина

В данной статье представлены особенности десинхронозов белкового и пуринового обмена на модели острого парацетамолового гепатита у крыс с учетом циркадианного ритма и половой принадлежности животных. Согласно полученным данным, на фоне патологии в меньшей мере нарушается белковый обмен (содержание общего белка, альбумина и мочевины) в сравнении с пуриновым (уровень мочевой кислоты). Также в условиях парацетамолового гепатита смещаются акро- и батифазы, изменяется амплитуда суточного ритма содержания изучаемых показателей белкового и пуринового обмена. Полученные данные следует учитывать при анализе и интерпретации результатов доклинических хронофармакологических исследований перспективных и существующих гепатопротекторов.

Ключевые слова: парацетамол, токсичность, печень, обмен белков, десинхроноз, гепатит.

ВВЕДЕНИЕ

Стремительное усовершенствование и персонализация терапевтических подходов лечения пациентов выдвигают требования к назначению лекарств с учетом их

хроноэффективности и хронотоксичности [1]. Широко применяемая группа лекарственных средств для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей – гепатопротекторы, однако хронопортреты этих препаратов не установлены.

Парацетамоловый гепатит – модель острого поражения печени, используемая в экспериментальной фармакологии при доклиническом изучении гепатопротекторов, патогенез которой сходен с лекарственными гепатитами, возникающими вследствие приема лекарственных средств (ЛС) длительными терапевтическими курсами [2]. Информации относительно циркадианной зависимости действия токсических доз парацетамола на состояние белкового и пуринового обменов нет, что и обусловило актуальность проведения соответствующих исследований по их установлению.

Целью настоящего исследования было установить циркадианную зависимость между воздействием токсических доз парацетамола и изменением циркадианных ритмов белкового и пуринового обменов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на крысах двух полов на модели острого однодневного парацетамолового гепатита (март 2015 года). Контрольную патологию моделировали однократным введением парацетамола в дозе 1000 мг/кг крысы в виде суспензии на 2% растворе крахмального геля в следующие часы суток: 03.00; 09.00; 15.00; 21.00 [3]. Выбор часов для исследования аргументируется тем, что в хронофармакологии это средние часы в ночной, утренней, дневной и вечерней периоды суток [1]. Через 24 часа после введения парацетамола животных декапитировали с последующим забором биоматериала: кровь и ткань печени. Из цельной крови получали сыворотку согласно общепринятым методикам, в которой определяли уровень общего белка, альбумина, мочевины и мочевой кислоты (как базовых показателей белкового и пуринового обменов) с помощью стандартных диагностических наборов производства «Филисит-Диагностика» и «СпайнЛаб» [4].

В эксперименте использовали 128 крыс, в каждом из исследованных часовых периодов было по 8 самок и 8 самцов весом 170–220 г., а в дальнейшем для определения изучаемых показателей белкового и пуринового обменов брали по 6–7 проб сыворотки крови в каждой часовой группе самок и самцов. Выбор обоих полов животных обусловлен существующей информацией об отличии хронобиологической нормы показателей у самцов и самок [1]. Все вмеша-

тельства и эвтаназию животных проводили согласно биоэтическим нормам обращения с лабораторными животными (Страсбург, 1986) и I Национального конгресса по биоэтике (Киев, 2001) [5].

Экспериментальные данные обрабатывали с помощью стандартных пакетов статистических программ Cosinor-Analysis 2.4 for Excel 2000/XP и «Statistica 8.0». Применяли непараметрический критерий Манна-Уитни. При сравнении статистических показателей был принят уровень значимости $p < 0,05$ [6].

При анализе полученных данных определяли акрофазу (период суток, когда регистрируется максимальное значение исследованного показателя) и батифазу (период суток, когда регистрируется минимальное значение исследованного показателя), мезор (среднесуточный уровень) и амплитуду (наибольшее отклонение сигнала от мезора в обе стороны от средней) показателей белкового и пуринового обменов. Последние два показателя вычисляли с помощью программы Cosinor-Analysis 2.4 for Excel 2000/XP [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На фоне введения токсической дозы парацетамола установлено незначительное изменение уровня общего белка: у самок на 7–12%, у самцов на 9–20% в зависимости от изучаемой циркадианной группы контрольной патологии (таблица 1). Только в 03.00 у самок и самцов с парацетамоловым гепатитом снижение общего белка было достоверно значимо относительно интактных крыс. Поэтому мезор ритма общего белка у самок и самцов контрольной патологии в сравнении с интактными животными существенно не изменялся (таблица 2). Однако о развитии десинхроноза на фоне парацетамолового гепатита свидетельствует смещение с 03.00 на 15.00 периода акрофазы и с 15.00 на 03.00 батифазы ритма общего белка у животных двух полов, а также уменьшение на 47% у самок и на 69% у самцов амплитуды ритма данного показателя.

Уровень альбумина, как и общего белка у самок и самцов с парацетамоловым гепатитом, практически не изменялся, за исключением циркадианной группы контрольной патологии в 21.00: наблюдалась тенденция к снижению содержания альбумина на 10% у самок и на 15% у самцов (таблица 1).

Таблица 1 – Циркадианная зависимость влияния токсичности парацетамола на белковый и пуриновый обмены у крыс (n = 6–7) (M±SEM)

Показатели	Группа животных	03.00	09.00	15.00	21.00
		Самки			
Общий белок, г/л	ИК	80,22±4,05	75,06±2,05	71,06±4,16	73,60±2,44
	КП	69,97±1,41*	71,06±2,56	74,68±2,82	72,65±3,86
Изменения показателя		↓12%(*)	↓7%	–	–
Альбумин, г/л	ИК	41,85±1,52	37,31±1,18	42,26±0,90	45,17±3,48
	КП	41,23±0,90	40,88±1,13	38,88±2,25	40,79±1,55
Изменения показателя		–	–	–	↓10%
Мочевина, ммоль/л	ИК	13,61±1,53	12,10±1,03	11,51±1,12	12,43±1,11
	КП	9,75±0,21*	11,43±0,73	9,69±0,24	9,29±0,29*
Изменения показателя		↓28%(*)	–	↓15%	↓25%(*)
Мочевая кислота, мкмоль/л	ИК	13,16±1,01	14,24±1,37	12,44±0,83	13,07±0,73
	КП	15,14±1,62	24,07±0,90*	11,00±1,90	21,73±2,16*
Изменения показателя		↑15%	↑70%(*)	–	↑69%(*)
Показатели	Группа животных	03.00	09.00	15.00	21.00
		Самцы			
Общий белок, г/л	ИК	84,79±5,83	74,15±3,72	68,37±1,73	82,12±3,67
	КП	67,62±2,75*	68,32±1,40	71,37±2,56	72,45±5,70
Изменения показателя		↓20%(*)	↓9%	–	↓12%
Альбумин, г/л	ИК	41,85±1,30	38,03±1,59	38,91±3,46	47,56±4,02
	КП	41,79±1,72	40,98±2,15	38,16±1,64	40,44±2,39
Изменения показателя		–	–	–	↓15%
Мочевина, ммоль/л	ИК	11,02±1,46	9,19±0,54	10,37±0,65	10,20±0,97
	КП	11,42±0,47	8,94±0,20	9,17±1,16	9,12±0,57
Изменения показателя		–	–	–	–
Мочевая кислота, мкмоль/л	ИК	10,89±0,88	11,74±1,05	14,29±1,37	11,44±1,21
	КП	21,28±0,67*	15,05±0,55*	13,61±0,58	26,77±1,01
Изменения показателя		↑108%(*)	↑28%(*)	–	↑134%(*)

Примечание: n – количество животных в группе исследованного показателя; ИК – интактный контроль; КП – контрольная патология.

Таблица 2 – Хронобиологическая характеристика циркадианного ритма белкового и пуринового обменов интактных и контрольных животных (n = 6–7) согласно программы Cosinor-Analysis 2.4 for Excel 2000/XP (M±SEM)

Показатели	ИК		КП	
	Мезор	Амплитуда	Мезор	Амплитуда
Пол крыс				
Самки				
Общий белок, г/л	74,98±2,07	4,64±1,48	72,09±1,82	2,48±1,14
Альбумин, г/л	41,65±1,22	3,94±1,48	40,44±0,25	1,18±0,88
Мочевина, ммоль/л	12,41±0,55	1,06±0,34	10,04±0,25	1,07±0,30
Мочевая кислота, мкмоль/л	13,23±0,63	0,69±0,33	17,98±0,84	2,38±0,96
Показатели	ИК		КП	
	Мезор	Амплитуда	Мезор	Амплитуда
Самцы				
Общий белок, г/л	77,36±2,08	9,12±2,07	69,94±1,96	2,79±2,39
Альбумин, г/л	41,59±1,80	4,98±1,21	40,34±0,90	1,84±1,39
Мочевина, ммоль/л	10,20±0,62	0,6±0,72	9,66±0,34	1,13±0,28
Мочевая кислота, мкмоль/л	12,09±0,80	1,71±0,74	19,18±0,81	7,00±1,27

Примечание: n – количество животных в группе исследованного показателя; ИК – интактный контроль; КП – контрольная патология; М – среднее значение показателя в группе; m – ошибка среднего значения показателя в группе.

Мезор данного показателя не отличался от такого у интактных животных (таблица 2), тогда как амплитуда уменьшалась на 70% у самок и на 63% у самцов. Также у животных обоих полов смещалась акрофаза данного показателя с 21.00 на 03.00 и батифаза с 09.00 на 15.00 (таблица 1), что подтверждает развитие десинхроноза циркадианного ритма уровня альбумина в условиях патологии.

Отсутствие значимого изменения содержания общего белка и альбумина при парацетамоловом гепатите обусловлено острой формой моделирования патологии (однократное введение), тогда как существенное угнетение синтетической функции печени с последующим снижением уровня общего белка и его фракций (наблюдается при тяжелых поражениях печени) в экспериментальных исследованиях воспроизводится неоднократным введением токсического ксенобиотика при более длительном времени развития патологического процесса [3]. Однако смещение периодов акрофазы и батифазы свидетельствует о «сглаживании» циркадианного ритма содержания общего белка и альбумина, характерного интактным животным, и о развитии десинхроноза.

Мочевина – основной азотсодержащий продукт распада белков, а печень является единственным органом, где этот продукт синтезируется [7]. Мочевинообразование протекает в митохондриях гепатоцитов и представляет одну из важнейших характеристик обезвреживающей функции печени. При многих заболеваниях печени этот процесс нарушается [2, 7]. Так, согласно полученным экспериментальным данным при парацетамоловом гепатите у самок наблюдается более выраженное угнетение данного процесса в сравнении с самцами. В частности, содержание мочевины в сыворотке крови самок с гепатитом в 21.00 и 03.00 достоверно снижалось на 25% и 28% соответственно в сравнении с интактными животными, а в 15.00 наблюдается только тенденция к снижению данного показателя (на 15%) (таблица 1). Мезор ритма мочевины у самок с патологией уменьшался на 19% относительно интактных, при неизменной амплитуде ритма (таблица 2), тогда как у самцов в течение суток не наблюдается различий между содержанием мочевины у животных контрольной патологии и интактных. Мезор ритма данного показателя у самцов практически находился на одном уровне у животных контрольной патологии

и интактных, однако амплитуда ритма увеличивается на 88% в сравнении с интактным контролем (таблица 2).

К показателям обмена веществ относится мочева кислота как продукт распада нуклеиновых кислот и пуриновых оснований. У самок с гепатитом на фоне патологии в 09.00 и 21.00 уровень мочево кислоты достоверно увеличивается на 70% и 69%, а в контрольной патологии в 03.00 наблюдается только слабо выраженная тенденция к увеличению ее содержания (на 15%) (таблица 1). В результате этого мезор ритма данного показателя увеличивается на 36%, а амплитуда в 3,5 раза относительно интактных животных (таблица 2). Аналогично самкам у самцов на фоне патологии также наблюдается достоверное увеличение содержания мочево кислоты в циркадианном интервале 21.00, 03.00, 09.00 час на 134, 108 и 28% соответственно (таблица 1), что приводит к увеличению мезора ритма данного показателя на 59% и амплитуды в 4 раза в сравнении с интактными животными (таблица 2). Следует заметить, что у самок и самцов в 15.00 на фоне патологии не наблюдается увеличения содержания мочево кислоты.

Существенное увеличение уровня мочево кислоты на фоне патологического процесса может быть обусловлено угнетением активности фермента уриказы вследствие повреждения гепатоцитов, которая способствует превращению промежуточного продукта пуринового обмена мочево кислоты в конечный продукт алантоин. Последний процесс протекает только в организме крыс, но не в организме человека, для которого мочева кислота является конечным продуктом пуринового обмена [7]. Следовательно, можно предположить, что в периоды максимального повышения уровня мочево кислоты на фоне патологии происходит более выраженное угнетение активности уриказы и, как результат ингибирования, превращение мочево кислоты в конечный продукт алантоин. Более выраженное повышение уровня мочево кислоты у самцов в сравнении с самками может быть обусловлено проявлением гипоурикемического действия эстрогенов у последних [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Острый парацетамоловый гепатит характеризуется десинхронозом циркадиан-

ного ритма общего белка: смещаются периоды акрофазы (с 03.00 на 15.00) и батифазы (с 15.00 на 03.00), уменьшается амплитуда ритма на 47% у самок и 69% у самцов.

2. Аналогичный десинхроноз наблюдается с ритмом альбумина: смещаются периоды акрофазы (с 21.00 на 03.00) и батифазы (с 09.00 на 15.00), уменьшается амплитуда ритма на 70% у самок и на 63% у самцов.

3. При парацетамоловом поражении печени содержание мочевины уменьшается только у самок на 15–28%, что отображается снижением мезора на 19%, тогда как у самцов содержание мочевины практически не отличалось от такого у интактных животных, за исключением увеличения амплитуды ритма на 88%.

4. При парацетамоловом гепатите в 09.00 и 21.00 наблюдалось максимальное увеличение уровня мочевой кислоты у самок – на 70 и 69%, а у самцов в 21.00 и 03.00 – на 134–108%. У самок мезор ритма мочевой кислоты увеличивается на 35%, а амплитуда – в 3,5 раза, тогда как у самцов мезор – на 59% и амплитуда – в 4,0 раза.

5. При парацетамоловом гепатите выражено нарушается пуриновый обмен (по содержанию мочевой кислоты) и в меньшей мере изменяется уровень показателей белкового обмена, но изменяется их хроноритм: смещение периода акрофаз и батифаз циркадианного ритма, содержание общего белка и альбумина, а также уменьшается амплитуда ритмов данных показателей.

6. Полученные хроноособенности следует учитывать при моделировании парацетамолового гепатита, выборе пола животных для эксперимента и оценке хронопортета гепатопротекторов.

SUMMARY

K. O. Kalko, S. M. Drogovoz,
N. V. Zakharko, N. V. Bezdetko
DESYNCHRONOSIS OF PROTEIN
AND PURINE METABOLISMS
IN THE BACKGROUND
OF ACETAMINOPHEN HEPATITIS

This article presents the characteristics of desynchronosis of protein and purine metabolisms in the model of acute acetaminophen hepatitis in rats in view of circadian rhythm and sex animals. In particular, according to the results, in the background of pathology protein metabolism (total protein, albumin and urea), is less disturbed as compared with purine metab-

olism (uric acid level). Also, in the background of acetaminophen hepatitis acro- and batifazi shift and the amplitude of the circadian rhythm of the protein content of the studied parameters of protein and purine metabolisms varies.

The findings should be taken into account in the analysis and interpretation of the results of preclinical chronofarmacological studies of perspective and current hepatoprotective drugs.

Keywords: acetaminophen, toxicity, liver, metabolism of proteins, desynchronosis, hepatitis.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хронофармакология наглядно (Хронофармакология в таблицах и рисунках): Справочник – учебное пособие / С. М. Дрогвоз [и др.] – Х.: Титул, 2014. – 128 с.

2. Скакун, Н. П. Клиническая фармакология гепатопротекторов: монография / Н. П. Скакун, В. В. Шманько, Л. М. Охримович. – Тернополь: Збруч, 1995. – 272 с.

3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под ред. докт. мед. наук А. Н. Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Ч.1. – 944 с.

4. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В. С. Камышников. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т.1. – 495 с.

5. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. член-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.

6. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA – 3-е изд. / О. Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.

7. Біохімія: підручник / за загальною редакцією проф. А. Л. Загайко, проф. К.В. Александрової. – Х.: Вид-во «Форт», 2014 – 728 с.

Адрес для корреспонденции:

61002, Украина,
г. Харьков, ул. Мельникова, 12
Национальный фармацевтический университет,
кафедра фармакологии и лекарственной
токсикологии,
e-mail: kalko_sonkina@mail.ru,
тел.: +38 (057) 706 30 69,
+38 (096) 94 317 94,
Калько Е.А.

Поступила 02.12.2015 г.