

УДК 613.6.01:613.6.02:613.6.06

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ОКСИМЕТИЛУРАЦИЛА ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

Тимашева Г.В., Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Смолянкин Д.А., Хуснутдинова Н.Ю.,
Байгильдин С.С.

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа, Россия

Гепатотоксическим действием обладают многие химические вещества, применяемые на производстве, в том числе тетрахлорметан и многие другие. В современных условиях значительно возросло применение парацетамола, который может быть гепатотоксичным при передозировке.

Цель исследования: изучение метаболических нарушений в печени и оценка корректирующего влияния препарата пиримидинового ряда – оксиметилурацила при острой интоксикации тетрахлорметаном и парацетамолом в высоких дозах.

Материал и методы. В экспериментах на крысах вводили тетрахлорметан перорально в дозе 2 г/кг массы животного. Второй токсикант – парацетамол однократно внутривентрикулярно в дозировке 1 г/кг массы тела. Проведены биохимические исследования сыворотки крови крыс.

Результаты. Сравнение степени биохимических изменений у экспериментальных животных при остром поражении печени тетрахлорметаном или парацетамолом позволило констатировать, что оксиметилурацил обладает положительным гепатопротекторным эффектом, что проявляется в коррекции активности ферментов, восстановлении белково-синтетической функции гепатоцитов. Результаты исследований позволяют рекомендовать использование оксиметилурацила для коррекции гепатотоксических эффектов при острых поражениях.

Ключевые слова: острая интоксикация, тетрахлорметан, парацетамол, гепатопротекторное действие, оксиметилурацил.

Для цитирования: Тимашева Г.В., Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Смолянкин Д.А., Хуснутдинова Н.Ю., Байгильдин С.С. Экспериментальная оценка эффективности применения оксиметилурацила при остром токсическом поражении печени. *Медицина труда и экология человека.* 2020; 4:79-86

Для корреспонденции: Тимашева Гульнора Вильевна канд. биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», gulnara-vt60@yandex.ru.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2020-10411>

EXPERIMENTAL ESTIMATION OF THE EFFICIENCY OF OXYMETHYLURACIL IN ACUTE TOXIC LIVER DAMAGE

Timasheva G.V., Repina E.F., Karimov D.O, Smolyankin D.A, Khusnutdinova N.Y, Baigildin S.S.

Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia

The problem of acute poisoning, with intoxication of which the leading syndrome is liver damage, remains very urgent at the present time. Many chemicals used in production have a hepatotoxic effect, including carbon tetrachloride and many others. Medicines can also be toxic to the liver. In modern conditions, the use of paracetamol has increased significantly, which can be hepatotoxic due to overdose. It seems relevant to study metabolic disorders in the liver and assess the corrective effect of the pyrimidine series drug - oxymethyluracil in acute intoxication with carbon tetrachloride and paracetamol in high doses. Tetrachloromethane was administered orally at a dose of 2 g / kg of animal weight. The second toxicant is paracetamol, which was administered once intragastrically. Biochemical studies of rat blood serum were carried out. Comparison of the degree of biochemical changes in experimental animals with acute damage to the liver with carbon tetrachloride or paracetamol in case of overdose made it possible to state that OMU has a positive hepatoprotective effect, which is manifested in the correction of enzyme activity, restoration of the protein-synthetic function of hepatocytes. The research results allow us to recommend the use of oxymethyluracil for the correction of hepatotoxic effects in acute lesions.

Key words: acute intoxication, carbon tetrachloride, paracetamol, hepatoprotective effect, oxymethyluracil.

Citation: Timasheva G.V., Repina E.F., Karimov D.O., Smolyankin D.A., Khusnutdinova N.Yu., Baigildin S.S. Experimental assessment of the effectiveness of oxymethyluracil application in acute toxic liver damage. *Occupational Health and Human Ecology*. 2020; 4:79-86

Correspondence: Gulnara V. Timasheva, CSc. (Biology), Associate Professor, Leading Researcher at the Department of Toxicology and Genetics with the Experimental Clinic of Laboratory Animals of the Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, gulnara-vt60@yandex.ru.

Financing. The study had no financial support.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2020-10411>

Проблема острых отравлений, при интоксикации которых ведущим синдромом является поражение печени, остается весьма актуальной в настоящее время. Известно, что одним из первых звеньев при поражении печени токсико-химического генеза является активация свободно-радикальных процессов, а именно перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1,2,3]. При инициации ПОЛ происходит прямое повреждающее действие токсикантов на мембраны с развитием цитолиза на клеточном уровне, который расценивается как мембраноповреждающий эффект, начало гипоксического и свободно-радикального некробиоза.

Гепатотоксическим действием обладают многие химические вещества, применяемые на производстве, такие как дихлорэтан, тетрахлорметан и многие другие. Как известно, лекарственные препараты также могут оказывать токсическое влияние на печень. В последнее время значительно возросло применение парацетамола. Препарат обладает

гепатотоксичностью, развивающейся преднамеренной передозировкой либо непреднамеренным проглатыванием (терапевтический несчастный случай), что может привести к серьезным повреждениям и некрозу печени у людей и животных [4,5,6,7].

На основании многолетних исследований на моделях экспериментального поражения печени химическими токсикантами (дихлорэтаном, хлорфенолом, полихлорированными бифенилами) при длительных сроках интоксикации, проведенных в отделе токсикологии ФБУН «УФНИИ медицины труда и экологии человека», установлен выраженный гепатопротективный эффект препаратов пиримидинового ряда – оксиметилурацила и его производных [3,8,9,10,11]. ОМУ обладает высокой активностью при ингибировании свободно-радикальных процессов, способен усиливать репаративные процессы и восстанавливать функции клеточных мембран. В связи с этим представляется актуальным изучение корректирующего влияния ОМУ на ранних сроках интоксикации печени различными токсикантами.

Цель работы – сравнительная оценка эффективности применения оксиметилурацила на ранних сроках воздействия тетрахлорметана и парацетамола.

Материалы и методы

Эксперименты проводились на половозрелых крысах-самцах массой 200-220 г. Все исследования проводились с соблюдением принципов, изложенных в Европейской Конвенции (г. Страсбург, Франция, 1986) [12].

При моделировании токсического повреждения печени животным опытных групп вводили однократно тетрахлорметан (ТХМ) в дозе 2 г/кг массы животного, в качестве носителя и контрольного вещества (отрицательный контроль) использовали рафинированное оливковое масло. Вторым токсикантом – парацетамол, который вводили однократно внутривенно в дозе 1 г/кг массы животного, носителем и контрольным веществом был 1% раствор крахмала. Для корректирующего действия после интоксикации ТХМ и парацетамолом использовали оксиметилурацил (ОМУ) в дозе 50 мг/кг (5-гидрокси-6-метилурацил), синтезированный в Институте химии Уфимского Федерального исследовательского центра РАН [11]. ОМУ вводили по 2 схемам: дважды через 1 и 24 часа или 4-кратно через 1, 24, 48 и 72 часа после токсиканта. Все животные были разделены в группы по 7 особей в каждой: 1-я группа – контроль по ТХМ, 2-я А группа – получала ТХМ (забой через 24 часа), 2-я Б группа – получала ТХМ (забой через 72 часа), 3-я А группа – ТХМ + ОМУ (через 1 и 24 часа после токсиканта), 3-я Б группа – ТХМ + ОМУ (через 1, 24, 48, 72 после токсиканта), 4-я – контроль по парацетамолу, 5-я А группа - парацетамол (забой через 24 часа), 5-я Б группа - парацетамол (забой через 72 часа), 6-я А группа – парацетамол + ОМУ (через 1 и 24 часа после токсиканта), 6-я Б группа - парацетамол + ОМУ (через 1, 24, 48, 72 часа после токсиканта). Животных выводили из эксперимента путем декапитации через 1 час после последнего введения ОМУ.

На фотометре лабораторном медицинском «Stat Fax 3300» (производство США, фирма «Awareness Technology») были выполнены биохимические исследования, отражающие метаболические процессы в печени: активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы, показатели липидного (холестерина и триглицеридов) и белкового обменов (общий белок,

фракции альбумина и α_1 , α_2 , β , γ глобулинов), показатель антиоксидантной системы (мочевая кислота) с использованием реагентов ООО «Вектор-Бест» [13].

Обработка результатов анализов выполнена с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows» с использованием критериев Стьюдента, Манни-Уитни, Бонферрони. Различия признавали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

После введения ТХМ через 24 и 72 часа определялись признаки цитолиза и холестаза, что проявлялось в повышении активности ферментов печени АСТ, АЛТ лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы (рис. 1). При этом активность АЛТ через 24 часа увеличилась в 2,0 раза, АСТ – на 52,0%, щелочной фосфатазы – на 55,2% по сравнению с животными группы контроля ($p < 0,01$), через 72 часа - в 2,1 раза, на 39,4 и 28% соответственно. Определялось снижение уровня холестерина и повышение уровня мочевой кислоты при воздействии ТХМ через 24 и 72 часа. Корректирующее введение ОМУ дважды (через 1 и 24 часа) на фоне воздействия ТХМ привело к восстановлению практически до уровня контрольной группы активности АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы, а именно их активность снижалась на 37,5; 32,0 и 26,0% ($p < 0,01$) соответственно, по сравнению с группой 2А.

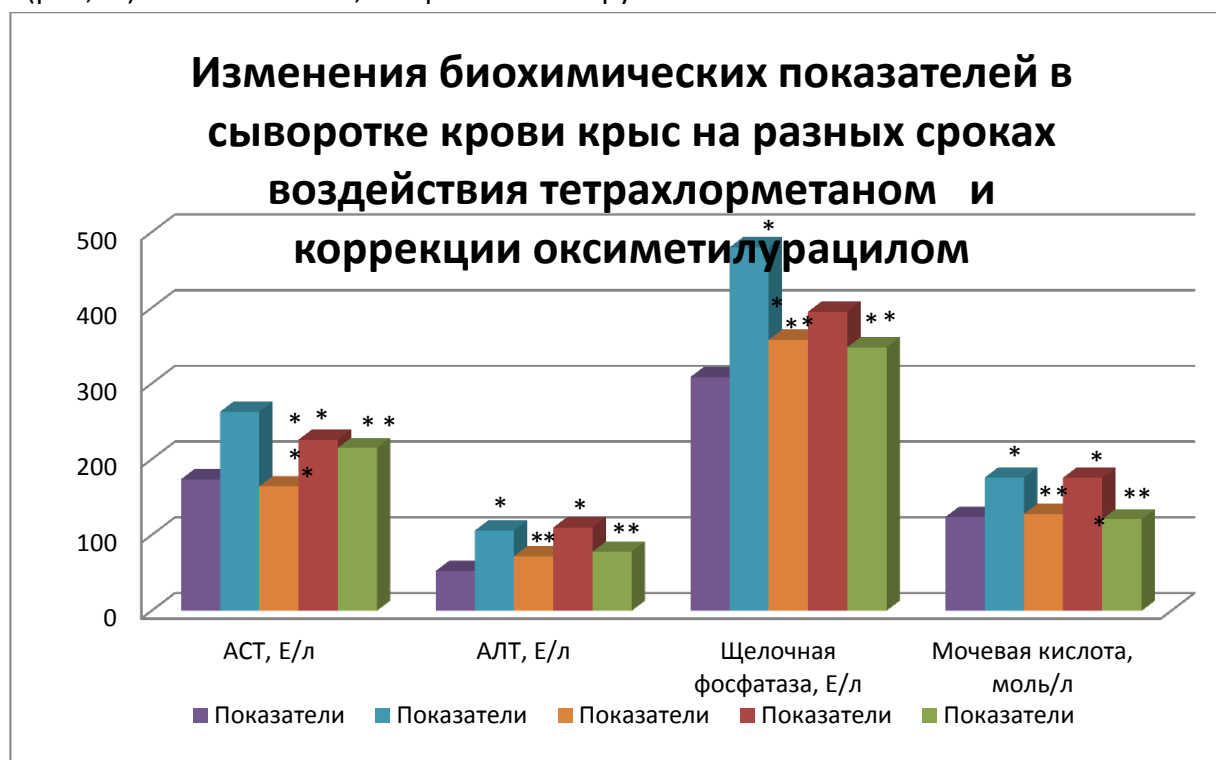


Рис. 1. Изменения биохимических показателей в сыворотке крови крыс на разных сроках воздействия тетрахлорметаном и коррекции оксиметилурацилом

Примечание. * – статистически значимая разница между животными групп 1и 2А; 2Б ($p < 0,05$); ** – статистически значимая разница между группами 2А и 3А, 2Б и 3Б ($p < 0,05$).

Одновременно воздействие ТХМ приводило к изменению белкового спектра сыворотки крови у животных опытных групп, что проявлялось в понижении содержания белка, альбуминов, коэффициента отношения альбуминов к глобулинам, повышении α_1 - и α_2 -глобулиновых фракций по сравнению с животными контрольной группы, характеризующих нарушение метаболизма в печени и наличие признаков острых

воспалительных процессов (рис. 2). После лечебного введения ОМУ было отмечено улучшение в показателях метаболических процессов печени: повышение общего белка и альбуминовой фракции, снижение содержания мочевой кислоты.

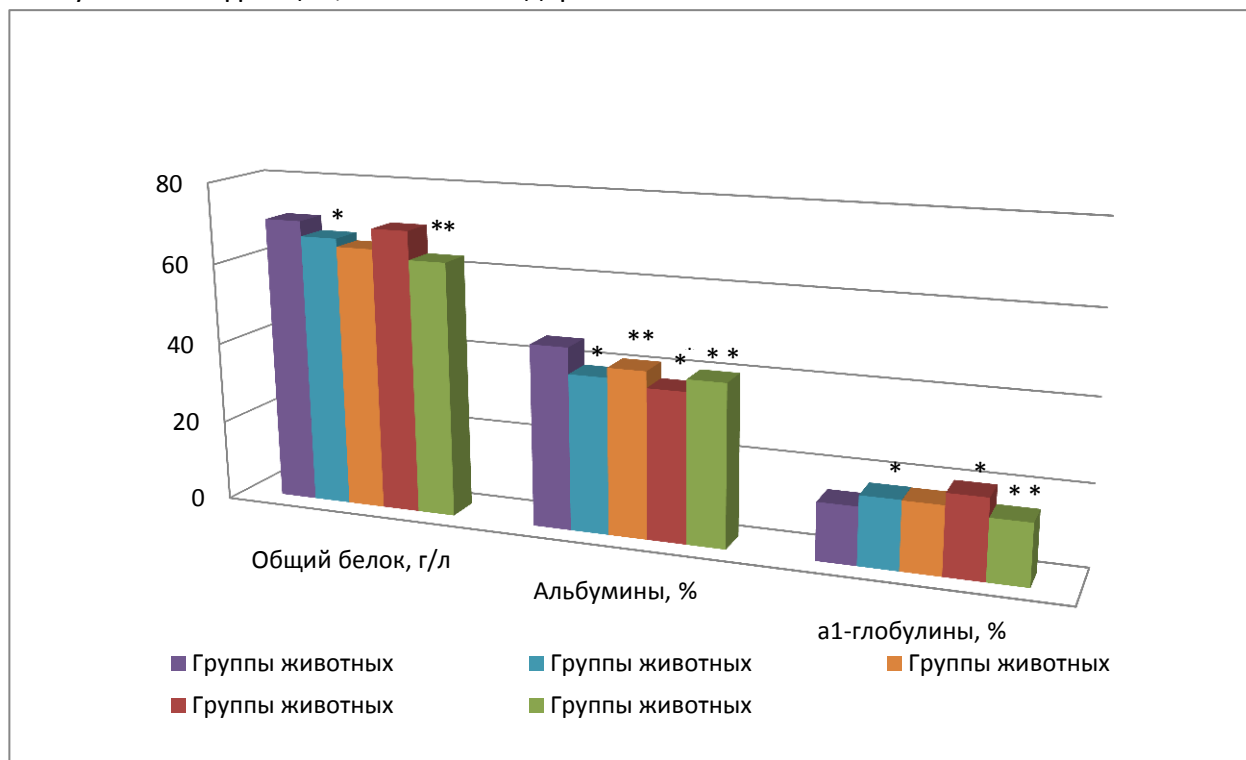


Рис. 2. Показатели белкового спектра сыворотки крови крыс при воздействии тетрахлорметаном и после коррекции оксиметилурацилом

Примечание. * – статистически значимая разница между животными групп 1 и 2А; 2Б ($p < 0,05$); ** – статистически значимая разница между группами 2А и 3А, 2Б и 3Б ($p < 0,05$).

Следовательно, оксиметилурацил уже на ранних сроках купирует гиперферментемию, что указывает на мембраностабилизирующий эффект препарата. Восстановление белково-синтетической функции печени свидетельствует о гепатозащитном действии оксиметилурацила на моделях поражения печени тетрахлорметаном.

Экспериментальные исследования после введения парацетамола выявили также энзимопатию (повышение их активности), нарушение в показателях липидного белкового обменов: повышение уровня холестерина и триглицеридов через 24 и 72 часа воздействия, снижение уровня белка, повышение α_1 - и α_2 -фракции глобулинов. Следует отметить, что изменения были менее выражены по сравнению с действием тетрахлорметана (рис. 3, 4).

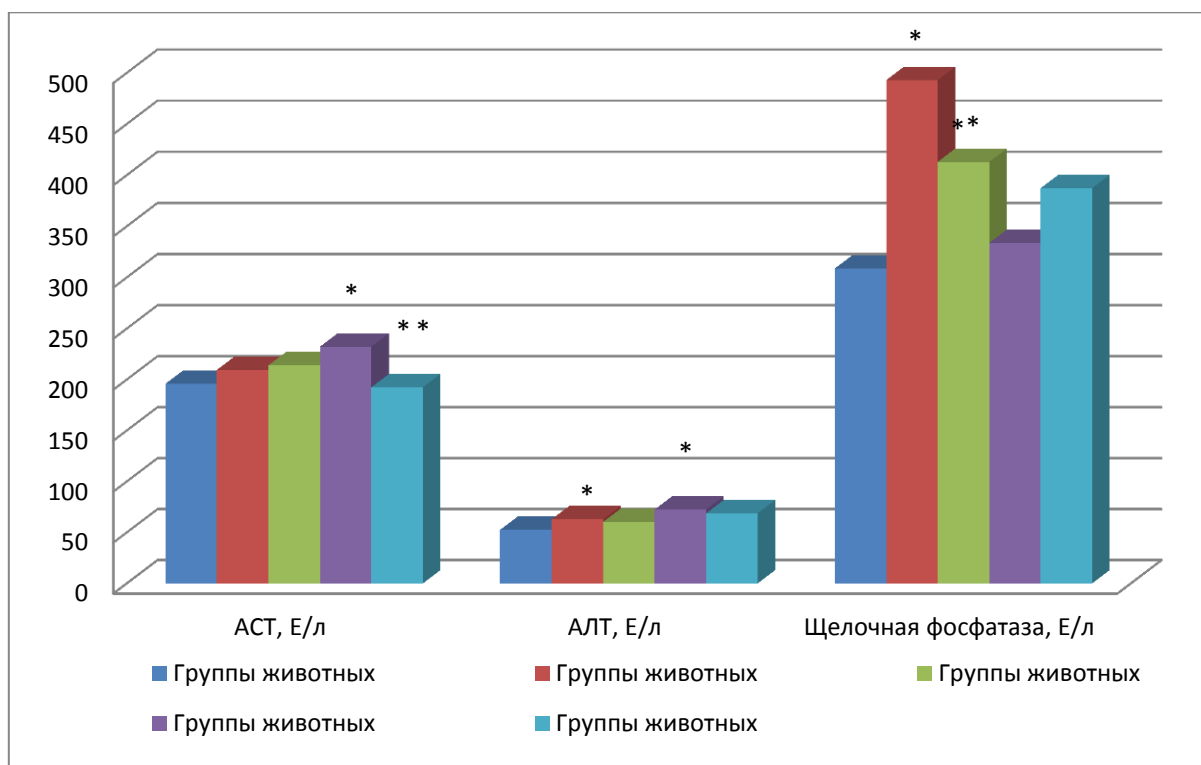


Рис.3. Изменения биохимических показателей в сыворотке крови крыс на разных сроках воздействия парацетамолом и коррекции оксиметилурацилом

Примечание. * – статистически значимая разница между животными групп 4 и 5А; 5Б (p<0,05); ** – статистически значимая разница между группами 5А и 6А, 5Б и 6Б (p<0,05).

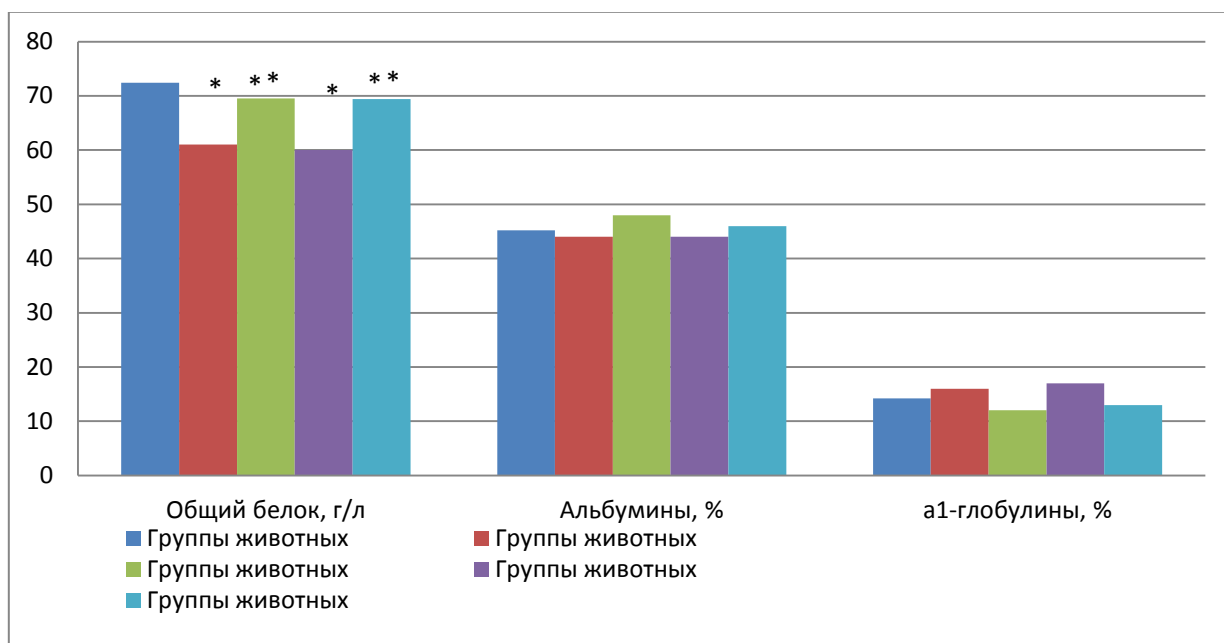


Рис. 4. Показатели белкового спектра сыворотки крови крыс при воздействии парацетамолом и после коррекции оксиметилурацилом

Примечание. * – статистически значимая разница между животными групп 4 и 5А; 5Б (p<0,05); ** – статистически значимая разница между группами 5А и 6А, 5Б и 6Б (p<0,05).

После введения крысам ОМУ происходила нормализация активности ферментов, преимущественно АСТ и АЛТ при 4-кратном введении. Наши исследования показали, что

ОМУ является эффективным препаратом, способствующим восстановлению белоксинтеризирующей функции печени на фоне действия парацетамола.

Заключение

Сравнение степени биохимических изменений у экспериментальных животных при остром поражении печени тетрахлорметаном или парацетамолом при передозировке позволило констатировать, что ОМУ обладает положительным гепатопротекторным эффектом, что проявляется в коррекции процесса цитолиза в клетках печени. На моделях поражения токсикантами установлено, что ОМУ восстанавливает белково-синтетическую функцию гепатоцитов. Положительное влияние ОМУ, скорее всего, привело к усиленному синтезу белковой компоненты мембран и выразалось в мембраностабилизирующих свойствах препарата на самых ранних этапах воздействия токсикантов. Результаты исследований позволяют рекомендовать использование оксиметилурацила для коррекции гепатотоксических эффектов при острых поражениях.

Список литературы:

1. Буеверов А.О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени. *Гастроэнтерология, гепатология, колопроктология*. 2002; 4: 21-25.
2. Мышкин В.А., Бакиров А.Б. Окислительный стресс и повреждение печени при химических воздействиях. Уфа: «ФГУН Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 2010.
3. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф., Каримов Д.О. Экспериментальная фармакокоррекция токсических поражений печени антиоксидантами. Уфа: ООО «Принт-2»; 2016.
4. Hazai E, Monostory K, Bakos A, Zacher G, Vereczkey L. About Paracetamol Again *Orv Hetil*.2001;142(7):345-390.
5. Brune K, Renner B., Tiegs G. Acetaminophen/paracetamol: A History of Errors, Failures and False Decisions. *Eur J Pain*. 2015; 19(7):953-65.
6. Bunchorntavakul C., Reddy K R. Acetaminophen (APAP or N-Acetyl-p-Aminophenol) and Acute Liver Failure. *Clin Liver Dis*. 2018; 22(2):325-346.
7. Wang Xu, Wu Qinghua, Liu Aimei, Anadón Arturo, Rodríguez José-Luis, Martínez-Larrañaga María-Rosa, Yuan Zonghui, Martínez María-Aránzazu Paracetamol: Overdose-Induced Oxidative Stress Toxicity, Metabolism, and Protective Effects of Various Compounds in Vivo and in Vitro. *Drug Metab Rev*. 2017; 49(4):395-437.
8. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф. Коррекция перекисного окисления липидов при повреждающих воздействиях (гепатотропные яды, гипоксия, стресс). Уфа: Мир печати, 2012.
9. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф., Гимадиева А.Р. Гепатопротекция с применением оксиметилурацила: Информационно-методическое письмо. Уфа; 2013.
10. Репина Э.Ф., Мышкин В.А., Каримов Д.О., Тимашева Г.В., Хуснутдинова Н.Ю., Смолянкин Д.А. и др. Антигипоксическая активность комплексного соединения оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой. *Токсикологический вестник*. 2018; 4: 20-26.
11. Мышкин В. А., Бакиров А. Б. Оксиметилурацил. Уфа: ДАР; 2001.

12. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. ETS N 123 (Страсбург, 18 марта 1986 г.). ЭПС «Система ГАРАНТ»
13. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: Медпресс-информ; 2009.

References:

1. Buyeverov A. O. Oxidative stress and its role in liver damage. *Gastroenterologiya, gepatologiya, koloproktologiya*. 2002; 4: 21-25. (in Russian)
2. Myshkin V.A., Bakirov A.B. Oxidative stress and liver damage under chemical influences. Ufa: "FBUN Ufa research Institute of labor medicine and human ecology", 2010. (in Russian)
3. Myshkin V.A., Bakirov A.B., Repina E.F., Karimov D.O. Experimental pharmacocorrection of toxic liver lesions with antioxidants. Ufa: LLC "Print-2"; 2016. (in Russian)
4. Hazai E, Monostory K, Bakos A, Zacher G, Vereczkey L. About Paracetamol Again *Orv Hetil*.2001;142(7):345-390.
5. Brune K, Renner B., Tiegs G. Acetaminophen/paracetamol: A History of Errors, Failures and False Decisions. *Eur J Pain*. 2015; 19(7):953-65.
6. Bunchorntavakul C., Reddy K R. Acetaminophen (APAP or N-Acetyl-p-Aminophenol) and Acute Liver Failure. *Clin Liver Dis*. 2018; 22(2):325-346.
7. Wang Xu, Wu Qinghua, Liu Aimei, Anadón Arturo, Rodríguez José-Luis, Martínez-Larrañaga María-Rosa, Yuan Zonghui, Martínez María-Aránzazu Paracetamol: Overdose-Induced Oxidative Stress Toxicity, Metabolism, and Protective Effects of Various Compounds in Vivo and in Vitro. *Drug Metab Rev*. 2017; 49(4):395-437.
8. Myshkin V. A., Bakirov A. B., Repina E. F. Correction of peroxide oxidation of Li-pidou with damaging effects (hepatotropic poisons, hypoxia, stress)– Ufa: the World press, 2012. (in Russian)
9. Myshkin V. A., Bakirov A. B., Repina E. F., Gamadia A. R. Hepatoprotective using oxymethyluracil: Informational-methodical letter Ufa; 2013; 11. (in Russian)
10. Repina E.F., Myshkin V.A., Karimov D.O., Timasheva G.V., Husnutdinova N.YU., Smolyankin D.A. i dr. Antihypoxic activity of the complex compound of oxymethyluracil with ascorbic acid. *Toksikologicheskij vestnik*. 2018; 4: 20-23. (in Russian)
11. Myshkin V. A., Bakirov A. B. Oxymethyluracil. Ufa: GIFT; 2001. (in Russian)
12. Evropeyskaya konventsiya o zashchite pozvonochnykh zivotnykh. ispolzuyemykh dlya eksperimentov ili v inykh nauchnykh tselyakh ETS N 123 (Strasburg. 18 marta 1986 g.) // EPS «Sistema GARANT». (in Russian)
13. Kamyshnikov V.S. Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnostics. М.: Medpress-infom; 2009. (in Russian)

Поступила/Received: 02.11.2020

Принята в печать/Accepted: 16.11.2020