УДК 615.916:615.212.7:616.15-07:611-08

М.В. Логаш, П.Б. Покотило, Ю.М. Федевич, Ю.Я. Кривко
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

ЗМІНИ БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ЩУРА ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ ОПІОЇДАМИ В ДИНАМІЦІ ПЕРЕБІГУ ЕКСПЕРИМЕНТУ

Наведені результати дослідження змін біохімічних показників крові щура під впливом опіоїду «Налбуфін» в динаміці шеститижневого експерименту. Біохімічні дослідження проводились як частина комплексної роботи по вивченню морфологічних змін печінки та серця щура під впливом опіоїдів. Приведені результати свідчать про достатньо токсичну дію налбуфіну. Очевидно, що це пов'язане в першу чергу з його дією на гепатоцити печінки. Із-за пошкодження клітин амінотрансферази потрапляють у кров'яне русло, і сироваткові концентрації їх підвищуються. В основі протікання цих процесів лежить руйнування різних клітинних структур мембранної природи сполуками радикальної будови.
Ключові слова: *опіоїди, амінотрансферази, печінка, біохімічні показники.*

Опіати супроводжують людство багато тисячоліть, але проблема наркоманії не стає менш актуальною. Згідно з даними ООН, у світі існує до 21 млн споживачів опіатів, і, незважаючи на зусилля світової спільноти, споживання опіатів не має тенденції до зменшення. В Україні, згідно з офіційними даними (МОЗ і МВС), існує близько 150 тис. наркоспоживачів, серед них близько 70 % споживають опіати, причому переважна кількість – це особи до 35 років [1]. Неофіційні дані свідчать про набагато більше їх число. Однак слід відмітити, що на сьогоднішній день опіоїди – це не тільки проблема наркоманії як така, а це і проблема лікування наркоманії, зокрема замісної терапії – з моменту виникнення ідеї замісної терапії точаться суперечки щодо доцільності її використання [2], адже це питання має не тільки медичні, а й соціальні аспекти [3, 4].

Важливим питанням є використання опіоїдів в клінічній практиці, зокрема при лікуванні постопераційного болю, хронічного болю, а також використання опіоїдів в комбінованих препаратах, оскільки в силі знеболювальної дії з опіоїдами можуть позмагатися небагато препаратів, і перспективність їх використання неможливо недооцінювати [5, 6]. Крім того, використання препаратів опіоїдної групи є перспективними і в інших напрямках практичної медицини [7]. І хоча морфологічні зміни органів наркоспоживачів описані багатьма дослідниками як на мікроструктурному, так і на ультраструктурному рівні [8–11], залишається незрозумілим, які зміни в органах викликають саме опіоїди, оскільки багато дослідників пов'язують зміни у внутрішніх органах наркоманів зі способом життя і супутніми токсичними речовинами, які часто утворюються внаслідок кустарного виготовлення наркоречовини [10, 12]. Експериментальні ж дослідження в цьому напрямі фактично не проводились.

Біохімічні дослідження проводились як частина комплексної роботи з вивчення морфологічних змін печінки та серця щура під впливом опіоїдів. Метою даного дослідження було виявлення змін біохімічних показників, а саме, АлАТ, АсАТ, білірубіну, лужної фосфатази, сечовини, креатиніну, загального білка, амілази та глюкози в динаміці шеститижневого експерименту, для кращого розуміння патофізіологічних механізмів виникнення морфологічних змін печінки і серця під впливом опіоїдів.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на самцях білих щурів масою 190–230 г. Щурам піддослідної групи вводили щоденно внутрішньом'язово опіоїд Налбуфін із щотижневим підвищенням дози з 8 до 35 мг/кг, щурам контрольної групи – ізотонічний розчин NaCl. Кров забирали щотижнево шляхом знекровлення після внутрішньоочеревинного вве-

© М.В. Логаш, П.Б. Покотило, Ю.М. Федевич, Ю.Я. Кривко, 2014

дення тіопенталу натрію. Активність трансаміназ у сироватці крові визначали динітрофенілгідразиновим методом Райтмана–Френкеля, лужну фосфатазу в сироватці – по гідролізу фенілфосфату, білірубін в сироватці – по діазореакції методом Єндрашека, α-амілазу – амінокластичним методом зі стійким крохмальним субстратом методом Каравея, глюкозу – глюкозооксидазним методом (набір «Філісіт»-Діагностика), загальний білок – по біуретовій реакції, сечовину – по кольоровій реакції з діацетилмонооксимом (набір Lachema), креатинін – по кольоровій реакції Яффе (метод Поппера) [13].

Результати та їх обговорення. При введенні піддослідним тваринам налбуфіну в дозі 8 мг/кг маси протягом одного тижня в крові спостерігалося зростання активності АлАТ у 1,75 раза в порівнянні з контролем (до 1,4 ммоль/год·л при показнику контрольної групи 0,8 ммоль/(год·л). У 2 рази зростала і активність АсАТ (до 2,2 ммоль/(год·л) при показнику контрольної групи 1,1 ммоль/год·л). Активність амілази зростала несуттєво – 130,8 г/(год·л), а в контролі вона становила 128 г/(год·л). Концентрація глюкози становила 6,2 ммоль/л у контролі, а у піддослідних тварин відповідно дещо зменшувалась – до 5,7 ммоль/л. Зростав і коефіцієнт де Рітіса у контролі до 1,38, а у піддослідних тварин до 1,57. Приведені результати свідчать про токсичну дію на клітини печінки даної сполуки та імовірно спостерігається несуттєва дія на функцію підшлункової залози, про що свідчать результати активності амілази та вмісту глюкози у крові.

При введенні цієї сполуки в дозі 15 мг/кг протягом 2-го тижня цим же піддослідним тваринам спостерігалось суттєве зменшення активності АлАТ у сироватці крові до 0,65 ммоль/(год·л), що, імовірно, пов'язано з руйнуванням мембран гепатоцитів і деструкцією даного ензиму в крові. Також спостерігалося зменшення активності АсАТ до 1,8 ммоль/(год·л). Імовірно, що такі зміни викликані подальшою токсичною дією налбуфіну на гепатоцити і включали не тільки вплив на мембрани цих клітин, але й на цитозольну фракцію та мітохондрії. Зниження отриманих показників спостерігалось у відношенні першого тижня проведення досліджень, хоча зниження активності АлАТ було нижчим і по відношенню до контрольної групи тварин. Спостерігалось суттєве зростання коефіцієнта де Рітіса. Проте спостерігались суттєві зміни в активності амілази. Її активність суттєво зменшувалась (у 2,69 раза) по відношенню до контролю, хоча концентрація глюкози змінювалась несуттєво. Імовірно, це пов'язане з порушенням синтезу даного ензиму при дії сполуки у цей період або з активною деструкцією в крові.

При введенні налбуфіну протягом 3-го тижня в дозі 20 мг/кг цим же піддослідним тваринам спостерігалось суттєве зростання активності АлАТ – у 3,06 раза по відношенню до контролю, і становило 2,45 ммоль/(год·л). Спостерігалось і зростання АсАТ, хоча активність даного ензиму не була суттєво вищою, ніж на 2-му тижні, проте була нижчою в 1,37 раза, ніж на першому тижні введення даної сполуки, і становила 1,6 ммоль/(год·л). Отримані результати свідчать про дозову залежність указаних змін активності даних показників, а також залежність від тривалості введення даної сполуки. Спостерігалося подальше ураження гепатоцитів у піддослідних тварин. Коефіцієнт де Рітіса суттєво зменшувався у 2,1 раза по відношенню до контрольних показників і у 4,26 раза по відношенню до 2-го тижня введення. У цей період суттєво зростала активність амілази крові і становила 120,8 г/(год·л), що практично відповідало показникам норми та першого тижня введення даної сполуки. Імовірно, така залежність спостерігалась у зв'язку з компенсаторно-адаптаційними механізмами у підшлунковій залозі, причому концентрація глюкози дещо зростала і становила 7,4 ммоль/л, що свідчить про частковий вплив даної сполуки і на інсулярний апарат піддослідних тварин або на зниження утилізації глюкози на рівні цілісного організму.

Введення налбуфіну на 4-му тижні в дозі 25 мг/кг цим же піддослідним тваринам призводило до суттєвого зменшення активності АлАТ у 1,32 раза в порівнянні із 3-м тижнем введення даної сполуки, проте в порівнянні з 2-м тижнем введення цей показник виявився істотно високим і вищим у 2,92 раза, а по відношенню до контрольних величин у 2,38 раза і становив 1,9 ммоль/(год·л). Приведені результати свідчать про стійкий негативний вплив налбуфіну на гепатоцити печінки піддослідних тварин. Дещо інші зміни спостерігаються в

динаміці активності АсАТ. Зокрема, спостерігалося збільшення активності у порівнянні з 3-м тижнем введення даної сполуки у 1,25 раза, а по відношенню до контролю в 1,81 раза і становило 2,0 ммоль/(год·л). І надалі спостерігалося наростання глибоких деструктивних змін, які торкалися не лише мембран гепатоцитів, але й цитоплазматичних органел клітин. Активність амілази несуттєво зменшувалась у відношенні до контрольних величин, що свідчить про компенсаторну стійкість метаболічних процесів у клітинах підшлункової залози, про це ж свідчить і концентрація глюкози в крові піддослідних тварин. Коефіцієнт де Рітіса є дещо нижчим порівняно з контролем у 1,31 раза, проте суттєво вищим порівняно з 3-м тижнем введення налбуфіну – в 1,62 раза, що свідчить про часткове компенсаторне відновлення функціональної здатності гепатоцитів.

Ведення налбуфіну в дозі 30 мг/кг цим же піддослідним тваринам на 5-й тиждень приводило до зростання активності АлАТ у 2,75 раза порівняно з контролем (до 2,2 ммоль/(год·л), активність АсАТ у порівнянні з контролем зростала у 2,27 раза (до 2,5 ммоль/(год·л). Спостерігалося незначне зниження активності амілази як у відношенні контрольної групи тварин, так і у відношенні до 4-го тижня введення налбуфіну – до 115 г/(год·л). Концентрація глюкози ж залишалась у межах норми і становила 6,28 ммоль/л. Коефіцієнт де Рітіса становив 1,14 і був меншим від контрольних величин.

При введенні піддослідним тваринам налбуфіну на 6-й тиждень в дозі 35 мг/кг знижувалась активність АлАТ в 1,22 раза у порівнянні з 5-м тижнем введення і становила 1,8 ммоль/(год·л), спостерігалось і зниження активності АсАТ у 1,25 раза у порівнянні з 5-м тижнем введення даної сполуки, проте у відношенні до контролю цей показник залишався стабільно високим і становив 2,0 ммоль/(год·л). Активність амілази дещо зростала у порівнянні з 5-м тижнем введення налбуфіну і становила 131,5 г/(год·л), а у порівнянні з контролем була практично у межах норми. Проте концентрація глюкози зростала найбільше за весь термін введення сполуки і становила 7,8 ммоль/л. Коефіцієнт де Рітіса становив 1,11 і був меншим від контрольних величин.

Обговорення результатів. Отримані результати свідчать про достатньо токсичну дію налбуфіну, що, очевидно, пов'язано з його дією на гепатоцити печінки. Для оцінки впливу набулфіну було вибрано ряд ензимів. Серед них найбільш інформативними є АлАТ і АсАТ. Вміст цих ферментів у гепатоцитах дуже високий. АлАТ – фермент цитоплазматичний, АсАТ локалізований в цитозолі і мітохондріях. У результаті пошкодження клітин амінотрансферази потрапляють у кров'яне русло і, як показують отримані результати, сироваткові концентрації їх підвищуються.

Проте підвищення активності АлАТ може бути не тільки токсичною дією на клітини печінки, тоді як збільшення активності АсАТ можливе і при токсичному впливі на клітини серцевого м'яза. Підвищення сироваткової активності АлАТ, очевидно, свідчить про гострий токсичний влив на печінку і жовчні шляхи; АсАТ більш чутлива та показова при хронічній дії даної сполуки. Тривале підвищення активності амінотрансфераз або збільшення її в пізні терміни захворювання може означати розвиток печінкового некрозу. Дуже висока активність АсАТ, що перевищує активність АлАТ, припускає обширний некроз. Тривале незначне підвищення сироваткової ензиматичної активності в частині випадків свідчить про хронізацію процесу (хронічний гепатит, цироз) [7].

За хімічною структурою налбуфін (–)-17-(cyclobutylmethyl)-4,5α-epoxymorphinan-3,6α,14-triol hydrochloride близький до морфіну. Фармакологічна дія препарату пов'язана з тим, що він є агоністом-антагоністом опіатних рецепторів і відповідно має анальгезуючу дію, яка реалізується через агоністичний вплив на k-рецептори, але й разом з тим сполука є антагоністом μ-рецепторів, у зв'язку з чим у неї відсутня виражена ейфорична дія.

Висновки

Реалізація дії налбуфіну, імовірно, може здійснюватися через підтримку або ініціювання процесів перекисного окиснення ліпідів. В основі протікання цих процесів лежить руйнування різних клітинних структур мембранної природи сполуками радикальної будови, про що свідчать отримані результати.

В подальшому результати планується використати для комплексних висновків при дослідженні морфологічних змін органів щура, зокрема печінки та серця, під впливом опіоїдів в динаміці експериментального дослідження.

Література

1. Національний звіт щодо наркотичної ситуації (дані 2010 року) для Європейського моніторингового центру з наркотиків та наркотичної залежності. Україна. Тенденції розвитку, поглиблений огляд з обраних тем / А.М. Вієвський, М.П. Жданова, С.В. Сидяк [та ін.]. – К., 2011. – 96 с.

2. *Bridget M.K.* Methadone treatment marks 40 years / M.K. Bridget // JAMA. – 2005. – Vol. 294, № 8. – P. 887–889.

3. *Шаповалов В.В.* Судова фармація: режим контролю наркотичних засобів для фармакокорекції наркопацієнтів з девіантною поведінкою / В.В. Шаповалов // Український вісник психоневрології. – 2011. – Т. 19, № 2 (67). – С. 97–101.

4. The trials and tribulations of implementing a heroin assisted treatment study in North America / C. Garty, E. Oviedo-Joekes, N. Laliberte, M. Schechter // Harm Reduction J. – 2009. – № 6 (2). – http://www.harmreductionjournal.com/content/6/1/2

5. *Eisenberg E.* Efficacy and safety of opioid agonist in the treatment of neuropathic pain of nonmalignant origin / E. Eisenberg, E.D. McNicol, D.B. Carr // JAMA. – 2005. – Vol. 293, № 24. – P. 3043–3052.

6. Tramadol minimized potential pain during post-oophorectomy in Wistar rats / M.A. Guzman-Silva, C.E. Pollastri, J.A.S. Pantaleao, A.C. Bergman de Carvalho // AATEX. – 2008. – № 14. – P. 91–92.

7. Булгаков С.А. Применение агонистов опиатных рецепторов в лечении гастроэнтерологических заболеваний / С.А. Булгаков // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2011. – № 1. – С. 19–25.

8. *Гасанов А.Б.* Морфология гипофиза, надпочечников и щитовидной железы при опиатной наркомании / А.Б. Гасанов // Современные проблемы науки и образования. – 2009. – № 6. – С. 44–46.

9. *Гасанов А.Б.* Функциональная морфология органов иммунной системы при опиатной наркомании / А.Б. Гасанов // Современные проблемы науки и образования. – 2009. – № 6. – С. 47–51.

10. *Пиголкин Ю.И.* Морфологическая диагностика наркотических интоксикаций в судебной медицине. – М.: Медицина, 2004. – 303 с.

11. *Чуба П.С.* Соматичні розлади в осіб, що вживають наркотики / П.С. Чуба // Інфекційні хвороби. – 2000. – № 2. – С. 70–73.

12. *Аркавый И.В.* Роль биохимических систем организма в патогенезе и диагностике вторичной соматической патологии у подростков, злоупотребляющих опиатами : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук: спец. 14.00.46, 14.00.45 «Наркология». – М., 2002. – 99 с.

13. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. [и др.]; под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.

М.В. Логаш, П.Б. Покотило, Ю.М. Федевич, Ю.Я. Кривко

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КРЫСЫ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ОПИОИДАМИ В ДИНАМИКЕ ПРОТЕКАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Представлены результаты исследования изменений биохимических показателей крови крысы под влиянием опиоида Налбуфин в динамике шестинедельного эксперимента. Биохимические исследования проводились как часть комплексной работы по исследованию морфологических изменений печени и сердца крысы под влиянием опиоидов. Полученные результаты свидетельствуют о токсическом влиянии налбуфина. Очевидно, это связано в первую очередь с его действием на гепатоциты печени. Из-за повреждения клеток аминотрансферазы попадают в кровяное русло, и сывороточные концентрации их повышаются. В основе протекания этих процессов лежит разрушение разных клеточных структур мембранной природы соединениями радикального строения.

Ключевые слова: *опиоиды, аминотрансферазы, печень, биохимические показатели.*

M.V. Logash, P.B. Pokotilo, Yu.M. Fedevich, Yu.Ya. Krivko

CHANGE OF BIOCHEMICAL INDEXES BLOOD OF RAT DURING INTOXICATION OF OPIOIDS IN DYNAMICS OF FLOWING OF EXPERIMENT

The results of research of changes of biochemical indexes blood of rat are presented under influence of opioid Nalbufin in the dynamics of six weeks experiment. Biochemical researches were conducted as part of complex work on research of morphological changes a liver and heart of rat under influence of opioids. The got results testify to toxic influence of Nalbufin. Obviously, it is related above all things to his action on a gepatocity liver. From the damage of cages of aminotransferaze get in a bloody river-bed and whey concentrations them rise. Flowing of these processes destruction of different cellular structures of diaphragm nature is underlaid by connections of radical structure.

Key words: *opioids, aminotransferaze, liver, biochemical indexes.*

Поступила 16.04.14