

Патология печени рыб, вызванная Парацетамолом

Г.И. Пронина¹, А.О. Ревякин¹, Н.Ю. Корягина², Г.Д. Капанадзе¹,
О.В. Баранова¹, О.И. Степанова¹

¹ – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

² – ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства, Московская область

Контактная информация: к.б.н. Ревякин Артем Олегович, scbmt@yandex.ru

Модельный эксперимент показал, что введение молоди карпа парацетамола per os в дозе 15 г/кг вызывает патологию печени. Смесь парацетамола с 50% спиртом вызвала повышение активности АСТ примерно в 3 раза. У опытных рыб нарушается морфологическая структура печени.

Ключевые слова: карп (*Ciprinus carpio* L.), печень, парацетамол, биохимические исследования, активность ферментов, гистология паренхиматозных органов.

Введение

Модельные эксперименты в медицине применяются для изучения действия препаратов на животных и последующей экстраполяции результатов на человека [1, 2, 3]. В последнее время в качестве альтернативных биомоделей начинают использовать рыб: они достаточно доступны для исследования и у них легче вызвать патологию, т.к. данные организмы являются пойкилотермными гидробионтами. Использование рыб объясняется и этическими соображениями: они находятся на более низкой ступени эволюционного древа, чем млекопитающие [9, 10, 12, 13]. Относительно восприятия болевых импульсов у рыб ведутся дебаты, однако большинство авторов склонны считать, что у рыб понижен болевой порог чувствительности [7, 11, 15].

В данной работе проведено моделирование патологии печени у рыб с помощью Парацетамола. Препарат выбран

из-за его доступности, относительно низкой стоимости и быстрого токсического эффекта, усиливающегося при добавлении спирта.

Парацетамол (международное название – Paracetamol; ацетаминофен; парацетаминофен; N-(4-гидроксифенил)-ацетамид; 4-гидроксиацетанилид) применяется как жаропонижающее и анальгезирующее средство. Однако препарат обладает гепатотоксическим и нефротоксическим действием. Он блокирует обе формы фермента циклооксигеназы (ЦОГ1 и ЦОГ2), ингибируя синтез простагландинов (Pg). В периферических тканях клеточные пероксидазы нейтрализуют влияние Парацетамола на ЦОГ. Метаболизация Парацетамола в печени происходит, в основном, путём конъюгации с глюкуроновой и серной кислотами с образованием нетоксичных метаболитов глюкорангида и сульфата Парацетамола. В меньшем количестве

под влиянием Цитохрома Р450 образуются ещё два метаболита, которые обладают токсическим действием: парааминофенол и N-ацетилбензохинон. Под влиянием парааминофенола образуется метгемоглобин; в результате происходит кислородное голодание тканей. N-ацетилбензохинон обладает повреждающим действием по отношению к клеткам печени, вызывая их некроз. При применении Парацетамола в терапевтических дозах N-ацетилбензохинон обезвреживается глутатионом и после конъюгации с цистеином и меркаптуровой кислотой выделяется почками. При приёме Парацетамола в высоких дозах (выше 150 мг/кг) возникает дефицит глутатиона и повышается уровень N-ацетилбензохинона, что может привести к некрозу ткани печени. Выводится Парацетамол из организма с мочой, в основном – в виде метаболитов, глюкуроновых конъюгатов (60-80%) и сульфоконъюгатов (20-30%) и незначительно (3-5%) в неизменном виде [6, 8].

Целью настоящей работы являлось моделирование патологии печени рыб.

Материалы и методы

Объектами эксперимента являлись сеголетки карпа (*Cyprinus carpio* L.) чешуйчатой и зеркальной групп. Патология печени рыб была смоделирована Парацетамолом. Препарат вводился *per os* в дозе 15 г/кг с 1 мл дистиллированной

воды 7-кратно в течение 14 дней по схеме (табл. 1). В качестве контроля были взяты рыбы, которым препарат не вводился. Количество рыб в эксперименте – 39 особей.

В процессе эксперимента у рыб прижизненно из хвостовой вены отбирались пробы крови для биохимических исследований, которые осуществлялись на анализаторе «Reflotron».

Вскрытие опытных объектов производилось на 7, 14 и 21 день после курса введения Парацетамола. Внутренние органы фиксировались в 10% растворе формалина. Затем после обезвоживания и заливки в парафин готовились гистологические срезы при помощи микротомы с последующим окрашиванием гематоксилин-эозином. Гистологические исследования проводились с помощью цифровой микроскопии.

Результаты и их обсуждение

Гибели рыб контрольной группы не отмечалось. Во второй группе (Парацетамол+вода) на 9 сутки от начала эксперимента погибла одна рыба. В группе 3 (Парацетамол+спирт) наблюдалась гибель шести рыб на 5, 9, 21 сутки от начала эксперимента. Одна рыба была забита на 32 сутки.

У рыб 2-й группы произошло снижение активности АСТ, в группе 3 – усиление (табл. 2).

Таблица 1

Схема введения препаратов молоди карпа

Группа 1	Группа 2	Группа 3
	<i>per os</i> через день 7 раз	
Контроль без введения препаратов	Парацетамол 15 г/кг + 1 мл дистиллированной воды	Парацетамол 15 г/кг + 1 мл 50% спирта

Таблица 2

Активность АСТ в крови экспериментальных карпов, ед/л

Контроль	Группа 2 парацетамол + вода	t_2	Группа 3 парацетамол + спирт	t_3
74,9±16,1	20,0±6,2	3,2	287,0±8,9	11,5

Примечание: t – доверительный коэффициент (по сравнению с контролем).

АСТ (аспартатаминотрансфераза) – индикатор поражения клеток печени. При повреждении клетки фермент довольно быстро обнаруживается в крови. Факт увеличения уровня АСТ в 3-й опытной группе свидетельствует об усилении токсичности Парацетамола спиртом. Известно, что возрастание активности происходит и при болезнях печени различной этиологии.

В нашем эксперименте это подтверждается гистологическими исследованиями.

У рыб контрольной группы патологических изменений структуры печени и гепатоцитов не обнаружено (рис. 1).

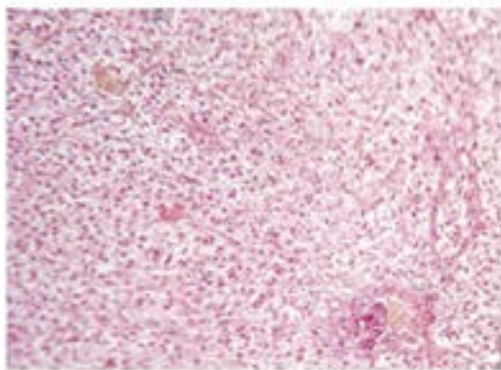


Рис. 1. Нормальная картина печени. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200.

В микроскопическом исследовании погибшей рыбы из второй группы (Парацетамол+вода) отмечались очаги жировой дистрофии гепатоцитов, неко-

торые клетки – безъядерные. Умеренно выраженное серозное воспаление в стенке прилежащего крупного желчного протока с вакуольной дистрофией его эпителиальной выстилки. У остальных рыб, забитых на 18 и 32 сутки от начала эксперимента, наблюдались очаги зернистой белковой дистрофии гепатоцитов с неравномерным окрашиванием их цитоплазмы (что может свидетельствовать о снижении содержания гликогена), единичные жировые вакуоли в печеночных клетках, незначительная или умеренная круглоклеточная инфильтрация портальных трактов. На 37 сутки обнаруживается жировая дистрофия (от очаговой до субтотальной) печеночных клеток (рис. 2).

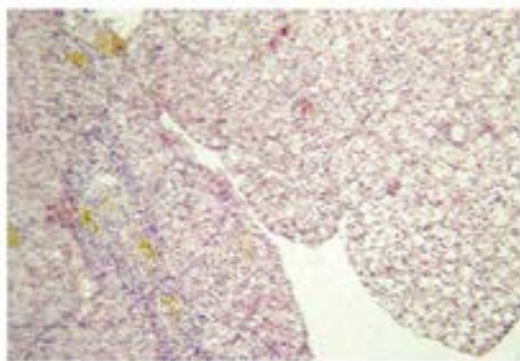


Рис. 2. Очаги жировой дистрофии гепатоцитов. Инфильтрация портального тракта клетками белой крови с переходом на паренхиму. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x200.

В печени рыб 3-й группы имелись лейкоциты в просвете некоторых сосудов, цитоплазма гепатоцитов неравномерно окрашена, выраженные дистрофические изменения клеток вплоть до некроза, местами небольшое количество клеток белой крови в синусоидах, гиперплазия прилежащей лимфоидной ткани, неравномерно выраженный склероз портальных трактов с круглоклеточной инфильтрацией и примесью единичных макрофагов. Подобные патологические изменения характерны для жировой дистрофии печени (ЖДП) алкогольного генеза [4, 5, 14]. Можно предположить, что наблюдаемые нами нарушения печени связаны с добавлением к Парацетамолу спирта.

Выводы

Таким образом, показано, что при введении Парацетамола *per os* в дозе 15 г/кг семикратно в течение 14 дней у молодого карпа отмечались нарушения на органном и клеточном уровнях. Действие препарата усиливается смешиванием с 50% спиртом. Степень выраженности патологических процессов зависит от длительности введения Парацетамола и спирта. Это подтверждено биохимическими и гистологическими исследованиями.

Список литературы

1. Адо А.Д. Патологическая физиология. - М.: Три-ада-Х. 2000. 574 с.

2. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования. - М.: Изд-во ВПК. 2005. 608 с.
3. Крыжановский Г.Н. Современная патофизиология как экспериментальная, фундаментальная и интегративная медико-биологическая наука // Вест. Рос. АМН. 1997. № 5. С. 60-62.
4. Подымова С.Д. Болезни печени. - М.: Медицина. 2005. 768 с.
5. Хазанов А.И. Важная проблема современности – алкогольная болезнь печени // Рос. журн. гастроэнтерологии и гепатологии. 2003. № 2. С. 13-20.
6. Brodie B.B., Axelrod J. The fate of acetophenetidin (phenacetin) in man and methods for the estimation of acetophenetidin and its metabolites in biological material // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1949. 94 (1). P. 58-67.
7. Cameron A.A., Plenderleith M.R., Snow P.J. Organization of the spinal cord in four species of elasmobranch fish: Cytoarchitecture and distribution of serotonin and selected neuropeptides. Journal of Comparative Neurology. 1990. 297. P. 210-218.
8. Chandrasekharan N.V., Dai H., Roos K.L.T., Evanson N.K., Tomsik J., Elton T.S., Simmons D.L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression // Proc Natl Acad Sci. USA. 2002. T. 99. № 21. P. 13926-13931.
9. Evans D.H., Claiborne J.B. The Physiology of Fishes, 3th edn. 2005. 616 p.
10. Johansen R., Needham J.R., Colquhoun D.J., Poppe T.T., Smith A.J. Guidelines for health and welfare monitoring of fish used in research. Laboratory Animals. 2006. 40. 323-340.
11. Leonard R.B. Primary afferent receptive field properties and neurotransmitter candidates in a vertebrate lacking unmyelinated fibres. Progress in Clinical Biological Resources. 1985. 176. 135-145.
12. Posner L.P. Pain and distress in fish: A review of the evidence. Institute for Laboratory Animal Research Journal. 2009. 50. 327-328.
13. Powers D.A. Fish as model systems. Science. - New York. 1989. 246. P. 352-358.
14. Ramstedt M. Alcohol and pancreatitis mortality in the population level: experiences from 14 western countries. Addiction 2004; 99: 1255-1261.
15. Snow P.J., Plenderleith M.B., Wright L.L. Quantitative study of primary sensory neurone populations of three species of elasmobranch fish. Journal of Comparative Neurology. 1993. 334.

The pathology of fish liver caused by Paracetamol

G.I. Pronina, A.O. Revyakin, N.Yu. Koryagina, G.D. Kapanadze,
O.V. Baranova, O.I. Stepanova

Model experiment showed that introduction of a carp *per os* Paracetamol in a dose of 15 g/kg causes liver pathology. Paracetamol mix with 50% alcohol caused the increase of activity of aspartate aminotransferase approximately 3 times. In skilled fishes the morphological structure of liver is broken.

Key words: carp (*Ciprinus carpio L.*), liver, paracetamol, biochemical researches, activity of enzymes, histology of Parenchymatous bodies.