

ВЛИЯНИЕ ПАНТЕНОЛА И КАРНИТИНА НА ФЕРМЕНТЫ ОБМЕНА АЛЬДЕГИДОВ В ПЕЧЕНИ КРЫС, ПОРАЖЕННЫХ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

В. И. Сатановская, П. С. Пронько, А. В. Гайшманова, Д. А. Мискевич¹

Однократное введение тетрахлорметана (2 г/кг в желудок) вызывает в печени крыс снижение активности НАД- и НАДФ-зависимых альдегиддегидрогеназ с высокой К_м к альдегидам. Пантенол или L-карнитин нормализовали активность альдегиддегидрогеназ, а их сочетание не оказало заметного эффекта.

Ключевые слова: тетрахлорметан, пантенол, карнитин, печень, альдегиддегидрогеназы

ВВЕДЕНИЕ

Неалкогольный стеатогепатит представляет нозологическую форму, которая характеризуется повышением уровня печеночных ферментов в крови и данными биопсии печени, идентичными таковым у больных с алкогольным гепатитом [5]. В типичных случаях это заболевание встречается у женщин среднего возраста с избыточной массой тела и бессимптомной гепатомегалией, у которых имеется сахарный диабет или гиперлипидемия. Полагают, что “ответственным” за развитие стеатогепатита может быть повышение уровня свободных жирных кислот.

Сходные изменения в печени вызывают ряд лекарственных средств и токсических соединений [3, 11]. Среди механизмов поражения печени выделяют окислительный стресс [10], который развивается при участии активных радикалов кислорода, образующихся в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме с помощью семейства цитохромов P-450. При этом активируется перекисное окисление липидов, образуются жирнокислотные перекиси, малоновый диальдегид, 4-оксинафталаль [6, 16]. Эти альдегиды метаболизируются системой альдегиддегидрогеназ, превращаясь в соответствующие кислоты, или восстанавливаются в алкогольдегидрогеназной реакции до спиртов или конъюгируются с глутатионом [7, 12, 13].

Целью настоящей работы являлась оценка гепатопротекторного эффекта пантенола и липидемического фактора — L-карнитина [4]. В качестве фактора поражения печени нами использован четыреххлористый углерод.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В опыте использованы крысы самцы линии Вистар массой 200 – 230 г. Тетрахлорметан (CCl₄) вводили однократно в желудок в дозе 2 г/кг в виде 50 % раствора на оливковом масле. Контрольные животные получали эквивалентное количество масла. Спустя 6 ч опытным животным вводили: 1 — пантенол “JENAPHARM”,

Германия — 100 мг/кг, в желудок; 2 — L-карнитин (“Sigma”, США) — 100 мг/кг, в желудок; 3 — карнитин + пантенол в тех же дозах.

Контрольные животные получали воду. Препараты вводили 1 раз в сутки (утром) в течение 3 дней. Спустя 24 ч после введения препаратов крыс декапитировали. Выделяли печень и замораживали в жидком азоте. Образцы хранили при – 80° С до анализа.

Печень гомогенизировали в присутствии дезоксихолата натрия (0,25 мг/мг белка). Супернатант 20000 g × 15 мин использовали как источник фермента. Активность альдегиддегидрогеназ (АлДГ) оценивали при 25 °С на спектрофотометре VSU-2P по скорости образования НАДН или НАДФН в присутствии 5 мМ и 50 мкМ ацетальдегида в качестве субстратов и выражали в нмоль образовавшегося НАДН или НАДФН в минуту 1 мг белка [15].

Содержание белка определяли по методу [9] с использованием сывороточного бычьего альбумина в присутствии дезоксихолата натрия в качестве стандарта. Достоверность различий в группах оценивали по *t*-критерию Стьюдента [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из таблицы, поражение печени, вызванное тетрахлорметаном, сопровождается достоверным снижением активности НАДФ-зависимой АлДГ, а НАД-зависимый фермент с высокой К_м имеет тенденцию к снижению активности. Обе эти формы АлДГ работают в миллимолярной области концентраций альдегидов. Однако внутримитохондриальная форма АлДГ с низкой К_м (микромоллярная область концентраций альдегидов) не меняет свою активность. Введение на этом фоне пантенола и карнитина нормализовало активность НАДФ-зависимой АлДГ печени, а их сочетание не оказало эффекта на этот фермент.

Как показано нами ранее [1], хроническое введение CCl₄ в сочетании с этанолом снижает как общую (на 1 г ткани), так и удельную (1 мг белка) активность НАД-зависимой АлДГ печени. Количество солубилизованного дезоксихолатом натрия белка печени было достоверно снижено. При однократном введении только CCl₄ уровень белка печени не отличался достоверно от контрольных значений.

¹ Лаборатория биохимической токсикологии и наркологии (зав. — И. В. Зверинский) ГУ НПЦ “Институт фармакологии и биохимии Национальной академии наук Беларуси”, 230030, Гродно, БЛК 50.

Активность альдегиддегидрогеназ (АлДГ) печени (нмоль НАД(Ф)Н/мин/мг белка) крыс, через 24 ч после трехкратного, ежедневного введения пантенола в желудок (100 мг/кг), карнитина (100 мг/кг) и их сочетания на фоне поражения печени после однократного введения CCl_4 (2 г/кг в желудок)

Группа (n = 6)	НАД-зав. АлДГ		НАДФ-зав. АлДГ
	с высокой Км	с низкой Км	
Контроль	4,0 ± 0,8	1,7 ± 0,3	1,8 ± 0,3
CCl_4	2,4 ± 0,2	1,6 ± 0,2	0,9 ± 0,05*
CCl_4 + карнитин	4,2 ± 0,6	0,8 ± 0,3	1,5 ± 0,4
CCl_4 + пантенол	2,9 ± 0,9	1,0 ± 0,3	1,2 ± 0,2
CCl_4 + карнитин + пантенол	2,7 ± 0,3	1,3 ± 0,1	1,0 ± 0,07*

* $p = 0,02 - 0,05$ по отношению к контролю.

Снижение активности НАД-зависимой АлДГ при введении CCl_4 (таблица), возможно, происходит за счет субстратного ингибирования малоновым диальдегидом, модификации фермента с образованием аддуктов [7, 8]. Карнитин является “ловушкой” ацетила, образующегося в АлДГ реакции. Кроме того, карнитин, снижая уровень м-РНК, стабилизируя посттрансляционные производные цитохрома P-4502E1 [14], может вмешиваться в интенсивность выработки малонового диальдегида, защищая таким образом АлДГ.

Механизм действия пантенола на АлДГ пока не известен, однако пантетин и его метаболиты могут активировать АлДГ в печени людей [17].

ВЫВОД

Пантенол или L-карнитин восстанавливают сниженную активность НАД- и НАДФ-зависимых альде-

гиддегидрогеназ с высокой Км, а их сочетание не оказывает заметного эффекта.

ЛИТЕРАТУРА

1. П. С. Пронько, В. И. Сатановская, Б. И. Горенштейн и др., *Вопр. мед. хим.*, **48**(3), 278 – 285 (2002).
2. П. Ф. Рокицкий, *Биологическая статистика*, Высшейшая школа, Минск (1973).
3. A. Berson, V. DeBeco, P. Letteron, et al., *Gastroenterology*, **114**(4), 764 – 774 (1998).
4. P. B. Bianchi, D. C. Lehotay, and A. T. Davis, *J. Nutr.*, **126**(11), 2873 – 2879 (1996).
5. K. Das, P. Kar, *J. Assoc. Phys. India*, **53**, 195 – 199 (2005).
6. F. J. Gonzalez, *Mutat. Res.*, **569**(1 – 2), 101 – 110 (2005).
7. J. J. Hjelle and D. Petersen, *Toxicol. and App. Pharm.*, **59**(1), 15 – 24 (1981).
8. J. J. Hjelle, J. H. Grubbs, and D. Petersen, *Toxicol. Lett.*, **14**(1 – 2), 35 – 43 (1982).
9. O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, et al., *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 – 275 (1951).
10. P. B. McCay, E. K. Lai, J. L. Poyer, et al., *J. Biol. Chem.*, **259**(4), 2135 – 2143 (1984).
11. D. Moreno Sanchez, *Med. Clin (Barc)*, **124**(17), 329 – 336 (2005).
12. J. F. Reichard, Vv. Vasiiliou, and D. R. Petersen, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1487**(2 – 3), 222 – 232 (2000).
13. G. M. Siu and H. H. Draper, *Lipids*, **17**(5), 349 – 355 (1982).
14. H. Tainaka, T. Naito, N. Murayama, et al., *Biol. Pharm. Bull.*, **16**(12), 1240 – 1243 (1993).
15. S. O. C. Tottmar, H. Petterson, and K. H. Kiessling, *Biochim. J.*, **135**, 577 – 586 (1973).
16. N. Traverso, S. Menini, P. Odetti, et al., *Free Radic. Biol.*, **32**(4), 350 – 359 (2002).
17. A. Watanabe, N. Hobara, M. Kobayashi, et al., *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **9**(3), 272 – 276 (1985).

Поступила 13.05.08

EFFECTS OF PANTHENOL AND CARNITINE ON ALDEHYDE METABOLIC ENZYMES IN RATS WITH TETRACHLOROMETHANE-INDUCED LIVER INJURY

V. I. Satanovskaya, P. S. Pron'ko, A. V. Gaishmanova, and D. A. Miskevich

Laboratory of Biochemical Toxicology and Narcology, Institute of Pharmacology and Biochemistry, National Academy of Sciences of Belarus, BLK-50 Grodno, 230017, Belarus

Tetrachloromethane (2 g/kg, intragastric) produced a decrease in the activity of NAD- and NADH- dependent aldehyde dehydrogenases with high Km for aldehydes in rat liver. Panthenol and L-carnitine administered separately normalized the activity of aldehyde dehydrogenases, while a combination of the drugs did not produce any significant effect.

Key words: Tetrachloromethane, panthenol, carnitine, liver injury, aldehyde dehydrogenases