

ПРО ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ ТА ГІСТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ У ПОРІВНЯЛЬНОМУ ДОСЛІДЖЕННІ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ВІТЧИЗНЯНИХ ЛІПОСОМАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ГЕПАТИТУ

Токсичний вплив лікарських засобів на печінку є проблемою, над вирішенням якої працюють фармакологи, фармацевти і лікарі багатьох спеціальностей. Дослідження активності гепатопротекторів різного походження та препаратів інших груп, що зменшують пошкодження печінки, проводять у різних напрямках як на доклінічному етапі, так і при порівняльних багатоцентричних дослідженнях зареєстрованих ліків. Ефективність ліпосомальних препаратів вітчизняного виробництва "Ліпін" та "Ліпофлавін" ми досліджували в експерименті на тваринах (білих щурах) за умов гострого гепатиту, модельованого шляхом введення парацетамолу, тетрацикліну та ізоніазиду, порівняно з еталонним гепатопротектором "Силібор". Як тестові параметри використали такі показники функціонального стану печінки: активність аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази та лужної фосфатази в плазмі крові й гістоструктуру тканини печінки. За результатами біохімічних та гістоморфологічних досліджень, встановлено, що вітчизняні препарати з різним механізмом дії володіють вираженим порівнянним гепатопротекторним ефектом за умов експериментальних лікопов'язаних гепатитів.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гепатотоксичність, гепатопротектори, експериментальне дослідження.

ВСТУП. На даний час відомо понад 1000 ліків, у яких доведена гепатотоксична дія, хоча більшість лікарських засобів (ЛЗ) викликає пошкодження печінки доволі рідко. Токсичні ураження печінки найчастіше спостерігають при застосуванні лікарських засобів таких фармакологічних груп, як антибіотики (тетрацикліни, макроліди, пеніциліни та ін.), протитуберкульозні препарати (рифампіцин, ізоніазид, піразинамід, фторхінолони тощо), діуретики (гіпотіазид, фуросемід), гормональні препарати, НПЗЗ (диклофенак, аспірин), протиепілептичні та протидіабетичні ліки, сульфаніламід, цитостатики, протиаритмічні засоби (аміодарон).

Гістологічні зміни при біопсії печінки теж різноманітні й характерні для кожного препарату або фармакологічної групи, хоча і не є специфічними [2, 7]. Серед механізмів патогенезу медикаментозного ураження печінки відзначають пероксидне окиснення ліпідів, денатурацію білків, виснаження запасів АТФ, порушення функцій мітохондрій, утворення вільних радикалів, гаптенів та ін. [7, 8] У класифікаціях гепатотоксичності ЛЗ виділяють препарати, що мають безпосередню токсичність, яка визначається перевищенням разових і курсових доз, а

© Л. М. Шеремета, 2014.

також реакціями ідіосинкразії, котрі викликають пошкодження печінки в пацієнтів з індивідуальною непереносимістю даного препарату. Більшість небажаних реакцій зумовлена ідіосинкразією, яка може виникнути на будь-який ЛЗ незалежно від застосованої дози [5–9].

Ліпосомальні препарати містять фосфоліпиди і займають особливе місце в лікуванні захворювань печінки. Гепатопротекторна дія фосфоліпідів ґрунтується на пригніченні процесів пероксидного окиснення ліпідів, що є однією з провідних ланок патогенетичних механізмів ураження печінки. Їм притаманна здатність захищати і стабілізувати мембрани гепатоцитів, таким чином, зменшувати їх підвищену проникність. Відомо, що їх вплив є інтегральним та включає мембраностабілізуючу, антиоксидантну, протизапальну, анаболічну, жовчогінну, імуномодулюючу й інші дії [3, 4]. Безперечний позитивний ефект у терапії захворювань печінки мають гепатопротектори біофлавоноїдної природи, зокрема препарати розторопші плямистої [3].

Арсенал сучасних гепатопротекторів, рекомендованих для використання в клінічній практиці, невеликий. За останні роки в Україні було створено такі оригінальні препарати, як "Антраль", "Тіотриазолін", "Ліпофен", "Ліпін",

“Ліпофлавіон”, які не чинять негативної дії на організм [3, 4].

Метою роботи було дослідити порівняльну гепатопротекторну ефективність застосування вітчизняних препаратів з різним механізмом дії при експериментальних медикаментозних гепатитах, викликаних токсичними дозами парацетамолу, тетрацикліну та ізоніазиду.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проведені на 180 щурах лінії Вістар, в яких моделювали медикаментозний гепатит шляхом введення ізоніазиду, тетрацикліну та парацетамолу за [1]. Тварин було поділено на такі групи: інтактні, контрольні (3 групи з модельованими медикаментозними гепатитами без лікування), дослід-

ні групи, в яких модельовані гепатити лікували ліпіном, силібором та ліпофлавіоном. На час завершення експерименту тварин піддавали етаназії під тіопенталовим наркозом і здійснювали забір крові й печінки для біохімічних та гістологічних досліджень [2].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Моделювання токсичних гепатитів у тварин проводили за загальноприйнятими методиками в дозуванні, значно вищому, ніж використовують у клінічній практиці [1] (табл. 1). Зрозуміло, що значне передозування в експериментальних моделях явно гепатотоксичних речовин викликає істотне збільшення частоти та глибини ураження печінки.

Таблиця 1 – Дози ізоніазиду, парацетамолу і тетрацикліну для відтворення експериментального медикаментозного гепатиту та максимальні добові, які застосовують у клінічній практиці

| Лікарський засіб | Експериментальна доза (моделювання гепатиту) | Терапевтична доза (максимальна добова) |
|------------------|--|--|
| Ізоніазид | 100 мг/кг | 15 мг/кг |
| Парацетамол | 1250 мг/кг | 4 г |
| Тетрациклін | 500 мг/кг | 4 г |

Оскільки найбільш доказовими і вірогідними параметрами, що вказують на пошкодження, є рівні активності маркерів цитолізу – аланін та аспартатамінотрансферази (АсАТ і АлАТ), а також маркера холестазу – лужної фосфатази (ЛФ), то саме ці показники ми взяли за основу визначення ефективності досліджуваних гепа-

топротекторів (табл. 2). Розвиток гепатиту під впливом тетрацикліну супроводжувався зростанням активності всіх названих показників. Так, рівень АлАТ збільшився на 91 % ($p < 0,05$), АсАТ – на 32 % ($p < 0,05$), а ЛФ – на 44 % , що свідчило про активний цитоліз гепатоцитів та виражений холестаза.

Таблиця 2 – Вплив ліпофлавіону, ліпіну та силібору на функціональні показники стану печінки щурів за медикаментозних гепатитів

| Група тварин | АлАТ, ммоль/(л·год) | АсАТ, ммоль/(л·год) | ЛФ, ммоль/(л·с) |
|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Модель “парацетамолового” гепатиту (n=7–10) | | | |
| Інтактні | 0,74±0,04 | 1,44±0,005 | 3347±145 |
| Контроль | 1,3±0,19 ¹ | 2,99±0,19 ¹ | 4794±374 ¹ |
| Ліпофлавіон, 2 мг/кг | 0,79±0,07 ^{1,2} | 1,98±0,08 ^{1,2} | 3867±238 ^{1,2} |
| Ліпін, 2 мг/кг | 0,88±0,11 ^{1,2,3} | 2,01±0,09 ^{1,2} | 3806±291 ^{1,2} |
| Силібор, 25 мг/кг | 0,89±0,08 ^{1,2,3} | 2,05±0,01 ^{1,2,3} | 3860±274 ^{1,2} |
| Модель “тетрациклінового” гепатиту (n=7–10) | | | |
| Інтактні | 0,67±0,05 | 1,58±0,09 | 3446±55 |
| Контроль | 1,28±0,19 ¹ | 2,08±0,2 ¹ | 4967±62 ¹ |
| Ліпофлавіон, 2 мг/кг | 0,75±0,09 ^{1,2} | 1,74±0,1 ^{1,2} | 3700±55 ^{1,2} |
| Ліпін, 2 мг/кг | 0,71±0,08 ² | 1,71±0,06 ^{1,2} | 3671±110 ^{1,2} |
| Силібор | 0,82±0,14 ^{1,2} | 1,78±0,08 ^{1,2} | 3775±88 ^{1,2} |
| Модель “ізоніазидового” гепатиту (n=8–10) | | | |
| Інтактні | 0,67±0,01 | 1,6±0,04 | 3435±45 |
| Контроль | 0,98±0,01 ¹ | 3,69±0,06 ¹ | 5118±36,5 ¹ |
| ЛК, 2 мг/кг | 0,71±0,01 ^{1,2} | 1,8±0,03 ^{1,2} | 3504±20 ² |
| Ліпін, 2 мг/кг | 0,74±0,01 ^{1,2,3} | 1,9±0,06 ^{1,2} | 3709±31,5 ^{1,2,3} |
| Силібор | 0,76±0,01 ^{1,2,3} | 2,46±0,09 ^{1,2,3} | 4052±29,6 ^{1,2,3} |

Примітки:

- ¹ – $p < 0,05$ порівняно з інтактними тваринами.
- ² – $p < 0,05$ порівняно з контролем.
- ³ – $p < 0,05$ порівняно з тваринами, лікованими ліпофлавіоном.

Порівняння антицитолітичного й антихолестатичного ефектів ліпофлавоу, ліпіну і силібору на моделі “тетрациклінового” гепатиту показало, що вплив їх на активність АлАТ, АсАТ та ЛФ практично рівноцінний і статистично достовірно не відрізняється (табл. 2). Водночас лікування “парацетамолового” гепатиту всіма досліджуваними препаратами також спричинило позитивний вплив, який проявився зменшенням вираження ступеня токсичного цитолізу та холестазу. Порівняння ефективності використаних гепатопротекторів за умов “ізоніазидового” гепатиту продемонструвало, що за впливом на активність АлАТ, АсАТ і ЛФ дія силібору та ліпіну є менш вираженою, ніж дія ліпофлавоу.

Слід зазначити, що, незважаючи на достовірну різницю між показниками тварин інтактною

групи та всіх груп, які отримували лікування досліджуваними ЛЗ, найбільш наближеними до норми були показники в щурів, лікованих ліпофлавоном.

У наших експериментах ефективність гепатопротекторів була підтверджена в дослідних групах тварин не тільки показниками біохімічних тестів, але і гістологічно [4]. При відтворенні гострого некрозу печінки парацетамолом летальність становила 30 %, а в мікропрепаратах усіх груп тварин спостерігали зміни гісто­структури різної глибини: в контрольних відзначали ділянки некрозу гепатоцитів у вигляді зруйнованих клітин без ядер, навколо яких – групи печінкових клітин з вираженою гідропічною дистрофією (рис. 1), у лікованих ліпофлавоном відмічали появу двоядерних регенеруючих гепатоцитів (рис. 2).

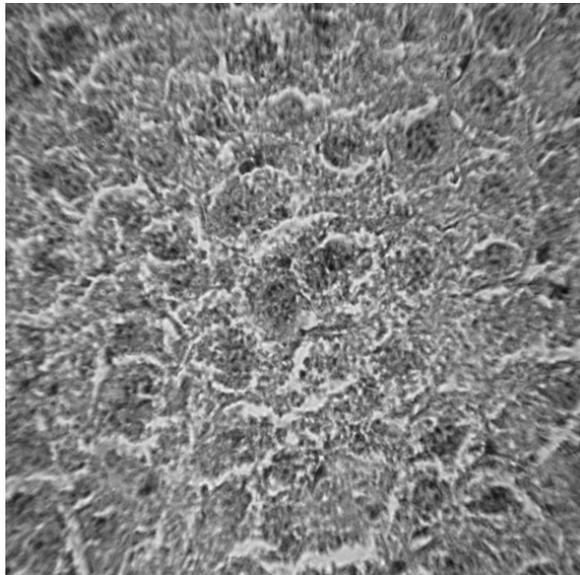


Рис. 1. Фарбування гематоксиліном та еозином. Зб.: x900.

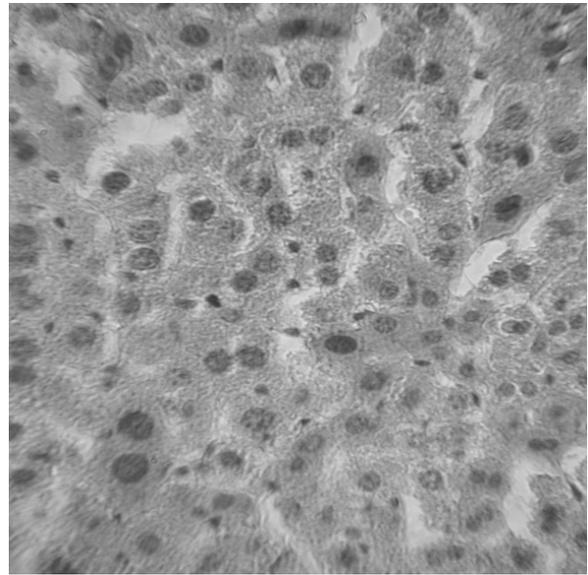


Рис. 2. Фарбування гематоксиліном та еозином. Зб.: x400.

За моделювання гострого гепатиту тетрацикліном летальність нелікованих тварин була такою ж, як у моделі з парацетамолом, і гісто­структурні зміни спостерігали в мікропрепаратах усіх експериментальних груп – переважали дистрофічні й некротичні прояви, здебільшого гепатоцитів ядра з каріопікнозом, каріорексисом. За умов модельованого ізоніазидом суб­хронічного гепатиту летальність щурів теж була досить високою (20 %), а гістоморфологічні дослідження виявили різні за тяжкістю зміни у тканинах печінки – від некрозу гепатоцитів до проявів зернистої дистрофії гепатоцитів та вираженої різною мірою вогнищевої інфільтрації строми портальних трактів практично у всіх групах тварин. Водночас слід відзначити суттєві регенеративні процеси, які спостерігали в

мікропрепаратах тканин печінки лікованих щурів усіх дослідних груп.

ВИСНОВКИ. 1. Введення дослідним тваринам високих доз таких гепатотоксичних ЛЗ, як парацетамол, тетрациклін та ізоніазид, викликає розвиток медикаментозних токсичних гепатитів у 90–100 % тварин, про що свідчать біохімічні та гістологічні дослідження, а також високий відсоток летальності. Гепатозахисна дія ліпіну, ліпофлавоу та силібору проявляється нормалізацією показників цитолізу і холестазу, а також відновленням архітектоники печінки.

2. За гепатопротекторною ефективністю досліджувані препарати можна розташувати таким чином: ліпофлавоу ≥ ліпін ≥ силібор.

Перспективи подальших досліджень. Ми плануємо продовжити вивчення можливостей застосування гепатопротекторів та препаратів

інших груп з метою створення рекомендацій щодо їх використання у клініці.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 321–333.
2. Морфологическая диагностика заболевания печени / под ред. В. В. Серова, К. М. Лапиша. – М. : Медицина, 1989. – 335 с.
3. Севастьянова Т. В. Характеристика современных гепатопротективных средств (обзор литературы) / Т. В. Севастьянова // Вісн. Харків. нац. ун-ту. Серія "Медицина". – 2004. – № 639. – Вип. 9. – С. 83–88.
4. Шеремета Л. М. Дослідження гепатопротекторної дії ліпосомального кверцетину при медикаментозних гепатитах в експерименті / Л. М. Шеремета, О. В. Стефанов // Одес. мед. журн. – 2007. – № 5 (103). – С. 23–26.
5. Acetaminophen-induced hepatotoxicity / Laura P. James, Philip R. Mayeux, Jack A. Hinson // <http://dmd.aspetjournals.org/content/31/12/1499>.
6. Kurtovic J. Paracetamol-induced hepatotoxicity at recommended dosage/ J. Kurtovic, S. M. Riordan // Journal of Internal Medicine. – 2003. – **253**, Issue 2. – P. 240–243.
7. Lee William M. Drug-Induced Hepatotoxicity/ William M. Lee // N. Engl. J. Med. – 2003. – **349**. – P. 474–485.
8. Navarro Victor J. Drug-Related Hepatotoxicity/ Victor J. Navarro, John R. Senior// N. Engl. J. Med. – 2006. – **354**. – P. 731–739.
9. Tasduq Sheikh A. Biochemical manifestations of anti-tuberculosis drugs induced hepatotoxicity and the effect of silymarin / Sheikh A. Tasduq <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386634605000082>, Kaiser Peerzada, Supriya Koul // Hepatology Research. – 2005. – **31**. – P. 132–135.

Л. Н. Шеремета

ИВАНО-ФРАНКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

О НЕКОТОРЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ И ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЯХ В СРАВНИТЕЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МЕДИКАМЕНТОЗНОМ ГЕПАТИТЕ

Резюме

Токсическое воздействие лекарственных средств на печень является проблемой, над решением которой работают фармакологи, фармацевты и врачи многих специальностей. Исследование активности гепатопротекторов различного происхождения и препаратов других групп, уменьшающих повреждение печени, проводят в разных направлениях как на доклиническом этапе, так и при сравнительных многоцентровых исследованиях зарегистрированных лекарств. Эффективность липосомальных препаратов отечественного производства "Липин" и "Липофлавор" мы исследовали в эксперименте на животных (белых крысах) в условиях острого гепатита, моделируемого введением парацетамола, тетрациклина и изониазида по сравнению с эталонным гепатопротектором "Силибор". В качестве тестовых параметров использовали следующие показатели функционального состояния печени: активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы в плазме крови и гистоструктуры ткани печени. По результатам биохимических и гистоморфологических исследований, установлено, что отечественные препараты разного механизма действия обладают выраженным сопоставимым гепатопротекторным эффектом в условиях экспериментальных лекарственных гепатитов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гепатотоксичность, гепатопротекторы, экспериментальное исследование.

**ABOUT SOME BIOCHEMICAL AND HISTOLOGICAL PARAMETERS IN
COMPARATIVE STUDY OF DOMESTIC LIPOSOMAL HEPATOPROTECTIVE
PREPARATIONS IN EXPERIMENTAL DRUG-INDUCED HEPATITIS**

Summary

Drug-induced toxic effects on the liver is a problem which pharmacologists, pharmacists and physicians of many specialties tried to solve. Efficiency hepatoprotectors domestic production, such as Silibor, Lipin and Lipoflavon we investigated in experiments on animals (rats) under conditions of acute hepatitis, simulated administration of high doses of acetaminophen, tetracycline and isoniazid. Introduction experimental animals high doses of those hepatotoxic drugs causes the development of drug-induced toxic hepatitis in 90–100 % of the animals, as evidenced by biochemical and histological studies, as well as a high percent age of mortality. Hepatoprotective effect of Lipin, Lipoflavon and Silibor shown normalization of cytolysis and cholestasis indexes and liver recovery architectonics. For hepatoprotective efficiency studied medication can be placed as follows: Lipoflavon ≥ Lipin ≥ Silibor.

KEY WORDS: hepatotoxicity, hepatoprotectors, experimental research.

Отримано 23.07.14

Адреса для листування: Л. М. Шеремета, Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76018, Україна.