

Рекомендована д.м.н., професором С.М.Дрогочов

УДК 615.276:615.244.015

ПОРІВНЯЛЬНА ГЕПАТОТРОПНА ДІЯ НОВОГО ПРЕПАРАТУ “АНАЛЬБЕН-РЕТАРД” ТА НПЗЗ РІЗНИХ ПОКОЛІНЬ В УМОВАХ ГОСТРОЇ ПАТОЛОГІЇ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ

О.О.Герасимова, Л.В.Яковлева, О.М.Шаповал

Національний фармацевтичний університет

Наведені результати експериментального дослідження впливу нового препарату “Анальбен-ретард” та НПЗЗ різних поколінь: вольтарен-рапід (диклофенаку калію), який є неселективним інгібітором ЦОГ-1/ЦОГ-2, селективних інгібіторів ЦОГ-2 мелоксикаму та німесулід і специфічного інгібітора ЦОГ-2 целекоксибу на функціональний стан печінки щурів в умовах гострого токсичного гепатиту, викликаного тетрахлорметаном. Установлено, що новий вітчизняний препарат пролонгованої дії “Анальбен-ретард” у дозі 1 мг/кг в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту виявляє значний позитивний вплив на функціональний стан печінки дослідних тварин, що є унікальною властивістю препарату з групи НПЗЗ. Показано, що селективні інгібітори ЦОГ-2 мелоксикам і німесулід, специфічний інгібітор ЦОГ-2 целекоксиб в умовно терапевтичних дозах виявляють виразний гепатотоксичний ефект, що веде до зменшення виживаності тварин у групах. За ступенем виразності токсичного впливу на печінку щурів в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту вивчені препарати групи НПЗЗ двох поколінь можна розташувати таким чином: вольтарен-рапід > целекоксиб > німесулід > мелоксикам. Гепатотоксична дія зазначених НПЗЗ пов’язана з утворенням вільних радикалів “гідрокси”-типу, які пошкоджують клітинні мембрани та сприяють вивільненню агресивних лізосомальних ферментів, що у проведених дослідженнях призводить до поглиблення патології печінки, викликаній тетрахлорметаном.

Відомо, що механізм дії препаратів із групи нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) — інгібіторів ЦОГ-1/ЦОГ-2 та ЦОГ-2, який чинить лікувальну дію та розвиток побічних реакцій, полягає у гальмуванні каскаду перетворень арахідонової кислоти (АК) шляхом інгібування ферменту ЦОГ (ЦОГ-1 та ЦОГ-2), внаслідок чого обмежується синтез простагландинів (фізіологічних чи/та патологічних) [8]. Згідно з сучасними уявленнями циклооксигеназа (простагландинсинте-

таза, рН-ендопероксидсинтетаза) є поліферментним комплексом, який складається з діоксигенази, ізомерази, редуктази та інших компонентів. Циклооксигеназа є гемопротейном, знаходиться в ендоплазматичній сітці поблизу місць вивільнення АК з мембранних фосфоліпідів. АК утворюється з фосфоліпідів клітинних мембран під впливом ферменту фосфоліпази А₂. Циклооксигеназа в присутності молекулярного кисню та ряду кофакторів каталізує дві ключові реакції в перетворенні АК, які призводять до утворення ендоперексидів: першої — окиснення АК з утворенням проміжної сполуки простагландину (ПГ) G₂ та другої — конверсія ПГ G₂ у ПГ H₂, який є попередником інших типів ПГ (E, F), а також простагланіну та тромбоксанів А₂ і В₂. Ряд ПГ (особливо серії E) відносять до числа основних медіаторів та модуляторів запальних реакцій — розладів мікроциркуляції, розвитку набряків, больової реакції, гіпертермії. Тромбоксан, який утворюється внаслідок каскаду перетворення АК у тромбоцитах, є потужним фактором їх агрегації. Простагланін, який утворюється в судинній стінці, навпаки, послаблює агрегацію тромбоцитів та сприяє розширенню судин. Ефекти ПГ підсилюються вільними радикалами гідрокси-типу, які утворюються внаслідок ферментативного окиснення АК, пошкоджують клітинні мембрани та сприяють вивільненню агресивних лізосомальних ферментів і розвитку запальної реакції [5, 6, 8-11].

На теперішній час НПЗЗ вважаються найчастіше застосовуваними препаратами у світі. Про це свідчить те, що, наприклад, у США щорічно лікарі загальної практики роблять більше 80 мільйонів призначень препаратів групи НПЗЗ. Обсяг щорічних продажів вказаних засобів у цій країні сягає 6 мільярдів доларів [7]. Україна не є виключенням. Внаслідок широкого застосування НПЗЗ, які є синтетичними ксенобіотиками, спостерігається висока частота розвитку побічних реакцій, таких як гастротоксичність, гепатотоксичність, нефротоксичність тощо. Впровадження у медичну практику останнього покоління НПЗЗ — селективних інгібіторів ЦОГ-2 мелоксикаму, ні-

месулід, коксибів не вирішило проблеми безпечного лікування препаратами цієї групи у зв'язку з розвитком серцево-судинних ускладнень, нефротоксичності та втрати ЦОГ-2 селективності, пов'язаної з перевищенням терапевтичної дози, що призводить до появи характерних для неселективних інгібіторів ЦОГ-1/ЦОГ-2 побічних ефектів [7].

Отже, вищенаведене обґрунтовує необхідність пошуку нових НПЗЗ, фармакологічна дія яких характеризується оптимальним співвідношенням "ефективність — токсичність". Останнім вимогам відповідає новий препарат з групи НПЗЗ "Анальбен-ретард", створений вченими НФаУ [2].

Зважаючи на те, що в попередніх дослідженнях доведена гепатопротекторна дія субстанції анальбену [3, 4], завданням цієї роботи стало вивчення впливу пролонгованої лікарської форми таблеток "Анальбен-ретард" в порівнянні з НПЗЗ різних поколінь на функціональний стан печінки щурів в умовах гострого токсичного гепатиту, викликаного класичним гепатотоксином тетрахлорметаном. Як препарати порівняння були обрані вольтарен-рапід (диклофенак калію), який є неселективним інгібітором ЦОГ-1/ЦОГ-2 та "золотим стандартом" НПЗЗ за співвідношенням "ефективність — нешкідливість", селективні інгібітори ЦОГ-2 мелоксикам та німесулід і специфічний інгібітор ЦОГ-2 — цефекоксиб.

Матеріали та методи

Для визначення впливу виучуваних об'єктів на функціональний стан печінки щурів в умовах токсичного гепатиту їх вводили внутрішньошлунково в лікувально-профілактичному режимі (за 1 год до та через 1 год після введення гепатотоксину) щоденно протягом 3-х діб у таких дозах: анальбен-ретард — 1 мг/кг, вольтарен-рапід — 3 мг/кг, мелоксикам — 1 мг/кг, цефекоксиб — 12 мг/кг, німесулід — 12 мг/кг. Тваринам групи інтактного контролю та контрольної патології вводили внутрішньошлунково еквівалентну кількість розчинника (вода з 1-2 краплями емульгатора твіну-80). В експерименті використовували білих безпородних щурів масою 180-200 г по 8 тварин у групі. Патологію моделювали внутрішньошлунковим введенням 50% олійного розчину тетрахлорметану із розрахунку 0,8 мл на 100 г маси тіла тварин протягом 2-х діб [1].

На 3-ю добу в усіх групах визначали інтегральний показник загальнотрофічних процесів — відсоток тварин, які вижили. Далі тварин наркотизували 1% розчином барбамілу, який не впливає на процеси жовчоутворення, збирали секретовану жовч годинними порціями протягом 4-х годин та виводили їх з експерименту декапітацією. З метою проведення біохімічних аналізів забирали кров для одержання сироватки, печінку — для приготування гомогенату [1].

Про стан жовчоутворювальної функції печінки судили за швидкістю секретії жовчі, вмістом жовч-

них кислот та холестерину в жовчі [1] і визначали холато-холестериновий коефіцієнт, який також характеризує стан мембран. Ефективність білоксинтегичної функції печінки визначали за вмістом загального білка в сироватці крові [1]. Про ферментосинтегичну функцію печінки судили за активністю маркерного ферменту аланінамінотрансферази [1] у сироватці крові, який характеризує ступінь цитолізу у печінці. Аміакзнешкоджувальну та антиоксидантну функцію печінки характеризували за рівнем сечовини в сироватці крові. Стан обміну ліпідів визначали за рівнем холестерину та загальних ліпідів у сироватці крові. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у печінці оцінювали за рівнем ТБК-реактивності [1], функціональний стан антиоксидантної системи (АОС) організму тварин — за рівнем відновленого глутатіону (G-SH) та каталази у гомогенаті печінки [1]. Про ступінь енергозабезпечення органу судили за вмістом глікогену [1]. Загальний функціональний стан печінки тварин оцінювали за допомогою масового коефіцієнта печінки (МКП) [1].

Результати дослідження наведені в табл.

Результати та їх обговорення

Аналіз одержаних результатів свідчить про позитивний ефект анальбен-ретарду на функціональний стан печінки щурів. Про це свідчить нормалізація загальнотрофічних процесів в органі, яка виявляється значною виживаністю дослідних тварин (табл.). Антиоксидантні властивості анальбен-ретарду характеризує нормалізація до рівня інтактного контролю вмісту ТБК-реактивності у гомогенаті печінки, що є достовірним по відношенню до відповідних показників групи контрольної патології. На відміну від референс-препаратів анальбен-ретард стимулює відновлення АОС — вміст відновленого глутатіону в гомогенаті печінки дослідних тварин вірогідно у 1,5 рази вищий, ніж у тварин групи інтактного контролю (табл.). Під впливом анальбен-ретарду спостерігається відновлення енергозабезпечення печінки тварин, про що свідчить достовірне в порівнянні з групою контрольної патології відновлення до інтактного рівня вмісту в гомогенаті глікогену. Анальбен-ретард виявляє достовірний жовчестимулюючий ефект, про який свідчать підвищені в порівнянні з групою контрольної патології показники швидкості секретії жовчі — в 2 рази, концентрації жовчних кислот у жовчі — в 1,3 рази та холато-холестеринового коефіцієнту — в 1,5 рази. Останній також опосередковано свідчить про мембраностабілізуючу дію нового препарату та стабілізацію під його впливом білоксинтегичної функції печінки. Це пояснюється тим, що у катаболізмі холестерину беруть участь мікосомальні ферменти, які знаходяться у мембранах гепатоцитів і ендоплазматичному ретикулумі і відповідно беруть участь у синтетичних процесах.

Таблиця

Вплив нестероїдних протизапальних засобів на функціонально-біохімічні показники печінки щурів за умов гострого токсичного гепатиту, викликаного тетрахлорметаном в дозі 0,8 мл на 100 г маси щурів

Показники	Умови досліджу						
	Інтактний контроль	Контрольна патологія (тетра-хлорметан)	Анальбен	Вольтарен-рапід	Мелоксикам	Целекоксиб	Німесулід
Вживаність, (п/%)	8 100%	5 71,43%	5 71,43%	1 14,3%	2 28,6%	3 42,9%	2 28,6%
МКП, мг/100 г	2,96±0,12	5,47±0,41*	4,59±0,45*	5,89±0,00*	4,70±0,07	5,32±0,37*	5,49±0,43*
Сироватка крові							
АлАТ, ммоль/ч · л	0,63±0,03	1,18±0,09*	1,03±0,10*	1,12±0,00	1,08±0,09*	1,33±0,05*	1,21±0,02*
Сечовина, ммоль/л	4,03±0,23	7,01±0,67*	6,40±1,10*	3,80±0,00	4,47±0,86*	7,36±0,67*	12,60±0,47 ^{*/**}
Загальний білок, г/л	56,57±2,62	47,27±5,71	48,27±7,78	42,55±0,00	57,64±6,73	58,42±0,80	48,18±3,82
Холестерин, ммоль/л	2,50±0,23	3,44±0,30*	2,54±0,24**	3,74±0,00	2,97±0,05	3,19±0,27	2,83±0,03
Загальні ліпіди, г/л	3,21±0,47	1,84±0,14	2,99±0,74	3,17±0,00	4,10±1,41	3,61±0,72	1,97±0,11*
Тканина печінки							
ТБК-реактанти, мкмоль/г	1,26±0,21	2,01±0,38	0,90±0,27**	0,47±0,00	0,46±0,017 ^{*/**}	0,36±0,10 ^{*/**}	0,51±0,19 ^{*/**}
GSH, ммоль/г	0,55±0,06	0,39±0,02*	0,79±0,16**	0,050±0,00	0,34±0,00 ^{*/**}	0,32±0,01*	0,345±0,00*
Каталаза, мккат/л	4,96±0,06	2,29±0,47	4,50±0,16 ^{*/**}	5,01±0,00	4,84±0,05	4,69±0,04 ^{*/**}	4,76±0,34
Глікоген, мг/г	58,33±11,19	31,62±4,99*	53,77±8,26**	—	36,13±7,15	18,28±9,61*	—
Жовч							
Швидкість секреції жовчі, мг/хв/100	3,72±0,30	2,13±0,74	4,36±0,50**	—	—	—	—
Жовчні кислоти, мг%	787,36±42,68	678,30±30,00	835,62±27,67**	—	—	—	—
Холестерин, мг%	21,67±3,81	20,50±4,07	16,89±4,45	—	—	—	—
Хелато-холестериновий коефі-цієнт	36,32 ± 3,85	33,10 ± 2,52	49,47±2,13 ^{*/**}	—	—	—	—

Примітки:

- * — відхилення показника достовірне стосовно групи інтактного контролю, $p \leq 0,05$;
- ** — відхилення показника достовірне стосовно контрольної патології, $p \leq 0,05$;
- n — кількість проб у кожній групі.

Про гепатотоксичну дію вольтарену, мелоксикаму, целекоксибу та німесуліду свідчить низький відсоток виживаності тварин, що не дало змоги визначити стан жовчоутворювальної функції печінки під їх впливом.

Дію препарату порівняння вольтарен-рапід по відношенню до функціонального стану печінки дослідних тварин можна характеризувати як токсичну — виживаність тварин складає 14,3%, що в 5 разів поступається виживаності тварин у групі контрольної патології, яка становить 71,4%.

Під впливом мелоксикаму та німесуліду вижило 28,6% тварин, що у 2,5 рази менше, ніж у групі контрольної патології. Серед тварин групи целекоксибу відсоток виживаності становить 42,9% та поступається показнику групи контрольної патології у 1,7 рази. Ці препарати сприяють зниженню рівня ТБК-реактивів у гомогенаті печінки у 2-3 рази в порівнянні з групою інтактного контролю, що є свідченням виснаження субстрату ПОЛ — поліненасичених жирних кислот, у тому числі й арахідонової. Мелоксикам, німесулід та целекоксиб

сприяють виснаженню АОС, про що свідчить рівень відновленого глутатіону, який або не відрізняється, або нижчий за вміст відновленого глутатіону в гомогенаті печінки тварин групи контрольної патології. Під впливом цих препаратів у тварин, що вижили, не спостерігається відновлення енергозабезпечувальної функції печінки, а целекоксиб значно погіршує енергозабезпечення органу, що виражається у зниженні у 3 рази в порівнянні з інтактним контролем та у 1,7 рази — з контрольною патологією рівня глікогену в печінці тварин, які вижили (табл.).

Гепатотоксичну дію виучуваних НПЗЗ можна пояснити тим, що інгібування ЦОГ (ЦОГ-1 і ЦОГ-2) сприяє припиненню перетворення АК з утворенням ПГ, які виконують як прозапальну, так і фізіологічні функції. Внаслідок цього процесу невикористані молекули АК піддаються ферментативному окисненню з утворенням вільних радикалів “гідрокси”-типу, які пошкоджують клітинні мембрани та сприяють вивільненню агресивних лізосомальних ферментів [8-11], що у наших дослідженнях призводить до поглиблення патології печінки, викликаній тетрахлорметаном.

Таким чином, аналіз наведених результатів дослідження свідчить про те, що сучасні нестероїдні протизапальні засоби різних поколінь вольтарен та інгібітори ЦОГ-2 виявляють гепатотоксичний ефект. За ступенем вираженості токсичного впливу на печінку щурів в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту досліджувані препарати можна розташувати таким чином: вольтарен-рапід >

целекоксиб > німесулід > мелоксикам. На відміну від вищевказаних НПЗЗ новий вітчизняний препарат “Анальбен-ретард” (табл.) виявляє виразний позитивний вплив на функціональний стан печінки дослідних тварин в умовах гострого токсичного гепатиту.

ВИСНОВКИ

1. Установлено, що новий вітчизняний препарат пролонгованої дії “Анальбен-ретард” у дозі 1 мг/кг в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту виявляє значний позитивний вплив на функціональний стан печінки дослідних тварин, що є унікальною властивістю препарату з групи НПЗЗ.

2. Показано, що селективні інгібітори ЦОГ-2 мелоксикам і німесулід, специфічний інгібітор ЦОГ-2 целекоксиб в умовно терапевтичних дозах виявляють виразний гепатотоксичний ефект, що веде до зменшення виживаності тварин у групах.

3. За ступенем вираженості токсичного впливу на печінку щурів в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту вивчені препарати групи НПЗЗ двох поколінь можна розташувати наступним чином: вольтарен-рапід > целекоксиб > німесулід > мелоксикам.

4. Гепатотоксична дія зазначених НПЗЗ пов'язана з утворенням вільних радикалів “гідрокси”-типу, які пошкоджують клітинні мембрани та сприяють вивільненню агресивних лізосомальних ферментів, що у наших дослідженнях призводить до поглиблення патології печінки, викликаній тетрахлорметаном.

ЛІТЕРАТУРИ

1. Дроговоз С.М., Губський Ю.І., Скакун М.П. та ін. Експериментальне вивчення жовчогінної, холеспазмолітичної, холелітіазної та гепатопротекторної активності нових лікарських засобів. У кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — С. 334-351.
2. Яковлева Л.В., Шаповал О.М. // Клінічна фармація. — 2002. — Т. 6, №3. — С. 33-34.
3. Яковлева Л.В., Шаповал О.М., Левітін Є.Я. // Фізіологічно активні речовини. — 2001. — №1. — С. 52-55.
4. Яковлева Л.В., Герасимова О.О., Кошова О.Ю., Шаповал О.М. // Клінічна фармація. — 2004. — Т. 8, №2. — С. 43-46.
5. Kolaczowska E. // Cell Biology. — 2002. — №29. — P. 533-554.
6. Kolaczowska E. // Cell Biology. — 2002. — №29. — P. 555-578.
7. Lichtenstein D.R., Wolfe M.M. // J. of the Amer. Med. Association. — 2000. — Vol. 284, №13. — P. 1297-1299.
8. Parente L., Peretti M. // Biochem. Pharmacol. — 2003. — Vol. 65, №2. — P. 153-159.
9. Vane J. // Nature. — 1971. — Vol. 231, №5. — P. 232.
10. Vane J. // Nature. — 1994. — №367. — P. 215-216.
11. Vane J.R., Bakhle Y.S., Botting R.M. // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. — 1998. — №38. — P. 97-120.

УДК 615.276:615.244.015

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ГЕПАТОТРОПНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ПРЕПАРАТА “АНАЛЬБЕН-РЕТАРД” И НПВС РАЗЛИЧНЫХ ПОКОЛЕНИЙ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ПАТОЛОГИИ ПЕЧЕНИ У КРЫС

О.А.Герасимова, Л.В.Яковлева, О.Н.Шаповал

Приведены результаты экспериментального исследования влияния нового препарата “Анальбен-ретард” и НПВС различных поколений: вольтарен-рапида (диклофенака калия), который является неселективным ингибитором ЦОГ-1/ЦОГ-2, селективных ингибиторов ЦОГ-2 мелоксикама и нимесулида и специфического ингибитора ЦОГ-2 целекоксиба на функциональное состояние печени крыс в условиях острого токсического гепатита, вызванного тетраchlormethanic гепатитом. Установлено, что новый отечественный препарат пролонгированного действия “Анальбен-ретард” в дозе 1 мг/кг в условиях острого тетраchlormethanic гепатита проявляет значительное положительное влияние на функциональное состояние печени опытных животных, что является уникальным свойством препарата из группы НПВС. Показано, что селективные ингибиторы ЦОГ-2 мелоксикам и нимесулид, специфический ингибитор ЦОГ-2 целекоксиб в условно терапевтических дозах проявляют выраженный гепатотоксический эффект, что приводит к уменьшению выживаемости животных в группах. По степени выраженности токсического влияния на печень крыс в условиях острого тетраchlormethanic гепатита изученные препараты группы НПВС можно выстроить следующим образом: вольтарен-рапид > целекоксиб > нимесулид > мелоксикам. Мы считаем, что гепатотоксическое действие указанных НПВС связано с образованием свободных радикалов “гидрокси”-типа, которые повреждают клеточные мембраны и способствуют высвобождению агрессивных лизосомальных ферментов, что в наших исследованиях приводит к усилению патологии печени, вызванной тетраchlormethanicом.

UDC 615.276:615.244.015

A COMPARATIVE HEPATOTROPIC ACTIVITY OF A NEW DRUG ANALBEN-RETARD AND NSAIDs OF DIFFERENT GENERATIONS IN ACUTE PATHOLOGY OF LIVER IN RATS

O.A.Gerasimova, L.V.Yakovleva, O.N.Shapoval

The results of the experimental investigation of the influence of a new drug “Analben-retard” and NSAIDs of different generations of Voltaren-rapid (diclofenac sodium), which is COX-1/COX-2 non-selective inhibitor, selective COX-2 inhibitors of Meloxicam and Nimesulid and specific COX-2 inhibitor Celecoxib on the functional state of rat's liver in acute toxic tetrachlormethanic hepatitis. A new domestic drug “Analben-retard” with a prolonged action in the dose of 1 mg/kg in the acute toxic tetrachlormethanic hepatitis conditions has been shown to have a marked positive effect on the functional state of liver in the experimental animals. This Analben-retard's property is a unique one for a drug of NSAID group. A marked hepatotoxic effect of selective COX-2 inhibitors — Meloxicam and Nimesulid, a specific COX-2 inhibitor Celecoxib has been revealed in conventional therapeutical doses. It leads to decrease of animals' survivability in groups. By the manifestation degree of the toxic effect on rat's liver in the acute tetrachlormethanic hepatitis the drugs of NSAID group studied can be ranged as: Voltaren-rapid > Celecoxib > Nimesulid > Meloxicam. We think that the hepatotoxic action of the NSAID given is connected with the formation of free hydroxyl type radicals, which damage cell membranes and promote to releasing of aggressive lizosomal ferments. It leads to the intensification of tetrachlormethanic pathology of liver.

Довідник “ВФ”**Вийшов з друку навчальний посібник****Токсикологічна хімія в схемах і таблицях:**

Навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / В.С.Бондар, С.А.Карпушина, О.Г.Погосян, С.В.Баюрка, В.П.Буряк, С.В.Ковальова, С.М.Полуян, В.І.Степаненко, С.І.Мерзлікін. — Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2005. — 128 с.

Навчальний посібник у вигляді схем і таблиць містить матеріал щодо організації судово-токсикологічної експертизи в Україні, закономірностей поведінки в організмі отрут різної природи, методів їх ізолювання, виявлення та кількісного визначення.

Для студентів вищих фармацевтичних навчальних закладів і фармацевтичних факультетів вищих медичних навчальних закладів III-IV рівнів акредитації.