

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Рекомендована д.б.н., професором Л.М.Малоштан

УДК 615.322:615.244

ОЦІНКА ПРОТЕКТИВНОГО ВПЛИВУ КАПСУЛ “ГЕПАФІСАН” НА МОДЕЛІ ТОКСИЧНОГО НЕКРОЗУ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ ПРИ ЇЇ УРАЖЕННІ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

Л.В.Яковлева, О.В.Геруш, О.Б.Леницька

Національний фармацевтичний університет
Буковинський державний медичний університет

Останнім часом проблема ураження печінки лікарськими препаратами набуває все більшої актуальності. Гепатотоксичні реакції препаратів описані для майже всіх фармакологічних груп. Найбільш частою причиною розвитку ураження печінки є парацетамол. У США передозування парацетамолу — друга за частотою причина смерті від отруєнь. Пошук, розробка та створення високоефективних та безпечних препаратів для лікування гепатитів різної етіології, в тому числі токсичних може допомогти у вирішенні актуальних проблем гепатології. Проведена в цьому напрямку робота дозволила виділити новий комбінований рослинний препарат — капсули “Гепафісан”, до складу якого входять 7 рослинних компонентів: плоди розторопші, коріння кульбаби, листя м’яти, трава бобівника трилистого, квітки нагідок, трава реп’яшка, трава рутки лікарської. Проведені дослідження показали, що капсули “Гепафісан” проявляють виразну лікувальну дію на моделі токсичного некрозу печінки у щурів, викликаного парацетамолом, що обґрунтовує доцільність впровадження досліджуваного препарату в медичну практику як гепатотропного засобу.

Про існування лікарських уражень печінки (ЛУП) відомо впродовж більше 60 років. Останнім часом ЛУП — одна із серйозних проблем гепатології. Це пов’язано, зокрема, з тим, що більшість лікарських препаратів, які широко використовуються населенням, відпускається в аптечній мережі без рецепта, а також без наявності адекватної інформації про можливі побічні ефекти даних лікарських засобів у рамках фармацевтичної опіки пацієнтів [6-10].

Лікарські ураження печінки складають близько 10% усіх побічних реакцій макроорганізму, по-

в’язаних з використанням фармакологічних препаратів. Гострі ЛУП здатні викликати близько 1000 препаратів [6-10].

В європейських країнах та США гострі гепатотоксичні реакції на фармацевтичні засоби є основною причиною трансплантації печінки. Згідно з фармакоепідеміологічними дослідженнями ЛУП в середньому складають 4,2-5,3% від усіх побічних реакцій, про які повідомляють [4, 6-10].

На теперішній час накопичений великий матеріал про ліки, які за певних умов здатні негативно впливати на печінку [4, 6-10]. До таких препаратів відносять парацетамол (ацетамінофен) — жарознижуючий і безболісний засіб, який широко застосовується в медицині. Незважаючи на те, що парацетамол є відносно безпечним анальгетиком при тривалому застосуванні, як уже доведено, навіть у субтоксичних дозах може призводити до розвитку масивного некрозу паренхіми печінки [10]. Щороку з приводу гепатотоксичності частина лікарських засобів знімається з виробництва, лише небагато з них (наприклад, парацетамол) завдяки своїй ефективності продовжують використовуватися [10].

Матеріали та методи

Метою дослідження було вивчення гепатозахисних властивостей капсул “Гепафісан” при ураженні печінки парацетамолом. Експеримент проведено на 50-ти білих безпородних щурах масою 190-210 г по 10 тварин у групі. Тварини були розподілені на 5 груп: 1-а група — інтактний контроль (ІК), 2-а — позитивний контроль (ПК) — нелікована патологія, 3-я група — тварини, яким вводили референтний препарат (РП), капсули “Гепабене”, 4-а та 5-а групи — тварини, яким вводили досліджуваний препарат (ДП). Щурам групи ПК та дослідних груп внутрішньошлунково вводили гепатотоксин (парацетамол виробництва

“Стиролбіофарм”, Україна) в дозі 2,5 г/кг у 2% крохмальному клейстері протягом 2-х днів [1]. Досліджуваний препарат — капсули “Гепафісан” в дозах 54 та 108 мг/кг та РП в дозі 88 мг/кг вводили внутрішньошлунково через 1 год після введення токсичного агента та щодня протягом 2-х тижнів до введення гепатотоксину.

Ефективність ДП визначали за наступними показниками: відсоток виживання тварин, масовий коефіцієнт печінки (МКП) [1], активність АлАТ і АсАТ (метод Райтмана-Френкеля, за допомогою тест-набору “Lachema” виробництва Чехії), рівень лужної фосфатази (ЛФ), концентрація холестерину та загальних ліпідів у сироватці крові [1]; інтенсивність жовчовиділення, вміст жовчних кислот (ЖК) та холестерину в жовчі [1]; вміст ТБК-реактивних [2], дієнових кон’югатів (ДК) [3] і рівень відновленого глутатіону (ВГ) в гомогенаті печінки [5].

Результати та їх обговорення

Результати експерименту з вивчення ефективності капсул “Гепафісан”, наведені в табл., показали, що гострий гепатит, викликаний парацетамолом, характеризувався достовірною зміною функціонально-біохімічних показників у тварин групи ПК. Було зафіксовано 80% виживання тварин. Спостерігали достовірне відносно ІК підвищення МКП, що свідчить про розвиток інфільтраційних процесів в органі. Наслідком підсилення процесу деградації мембранних структур виявилось достовірне підвищення трансаміназної та фосфатазної активності в сироватці крові. Тяжкість перебігу патології підтверджувалася зростанням у 1,8 рази коефіцієнта АлАТ/АсАТ порівняно з ІК. Достовірне підвищення вмісту ЛФ при захворюваннях печінки пов’язано зі звільненням цього ферменту з ушкоджених гепатоцитів, а також з його індуктивним синтезом у жовчних каналцях. Спостерігали достовірне відносно ІК підвищення рівня загальних ліпідів у сироватці крові, як наслідок порушень метаболічної функції печінки. Розвиток патології не супроводжувався порушенням жовчовидільної функції печінки. Достовірне зниження вмісту холестерину відносно ІК на тлі збереженого пулу ЖК в жовчі, характеризує активацію фізіологічного компенсаторного АОЗ організму, що відбулося на зміні біохімічних показників у гомогенаті печінки, а саме достовірному зниженні вмісту ТБК-реактивних на тлі тенденції до збільшення пулу ВГ. Порушення холестеринсинтетичної функції печінки відбилося на достовірному збільшенні майже у 7,5 рази ХХК. Достовірне накопичення ДК в гомогенаті печінки та достовірне зниження ТБК-реактивних на тлі достовірно підвищеного рівня ВГ як показників стану системи ПОЛ/АОС свідчить про інтенсифікацію процесів ПОЛ та функціональної дієспроможності глутатіонового захисту.

В групі тварин, яким вводили капсули “Гепабене” в дозі 88 мг/кг на тлі патології, спостерігали: 100% виживання тварин, достовірне відносно ПК зниження МКП, що свідчить про зменшення інфільтраційно-деструктивних процесів у печінці. Позитивний вплив РП на біохімічні показники в сироватці крові відбився в достовірному зниженні цитолітичного процесу (активність АлАТ та АсАТ знизилась до рівня ІК), що свідчить про відновлення структури мембранних компонентів гепатоцитів під впливом капсул “Гепабене”. Однак введення капсул “Гепабене” не вплинуло на показники холестази — рівень ЛФ залишився на рівні показника ПК достовірно збільшеним відносно ІК та недостовірно збільшився вміст холестерину в сироватці крові. Достовірне відносно ІК зниження рівня холестерину в жовчі на тлі достовірного зниження відносно ІК та ПК вмісту ЖК свідчить про відновлення синтетичних процесів у печінці. Активація АОС та пригнічення процесів ліпопероксидації підтверджується біохімічними показниками, які визначали в гомогенаті органу: на тлі введення РП достовірно відносно ІК знижується рівень вторинних (ТБК-реактивних) та спостерігається тенденція до зниження відносно ПК вмісту первинних продуктів ПОЛ (ДК) на тлі недостовірно підвищеного пулу ВГ (табл.).

Під впливом капсул “Гепафісан” у дозах 54 та 108 мг/кг, як і під впливом РП, знижуються інфільтраційно-запальні процеси в органі, про що свідчить зниження показника МКП достовірно відносно ПК на тлі 100% виживання тварин (табл.). Позитивний вплив капсул “Гепафісан” в дозі 108 мг/кг на цитолітичні процеси в печінці відбився у достовірному зниженні показника АлАТ та тенденції до зниження показника АсАТ. На тлі введення ДП в дозі 54 мг/кг спостерігали недостовірне зниження маркерних ферментів цитолізу та зниження в 1,2 рази відносно ПК коефіцієнта АлАТ/АсАТ. Таким чином, аналіз проведеного дослідження виявив відновлення цілісності гепатоцитів при введенні капсул “Гепафісан” у дозі 108 мг/кг на рівні РП.

При введенні капсул “Гепафісан” у дозі 54 мг/кг достовірно відносно показника ПК та в дозі 108 мг/кг достовірно відносно показника ПК та РП знижується рівень загальних ліпідів у сироватці крові (табл.), що свідчить про нормалізацію метаболічних процесів, а саме ліпідного обміну. На тлі введення ДП в обох виучуваних дозах достовірно підвищений відносно ІК залишається рівень ЛФ — ферменту, який характеризує наявність холестази.

Під час проведення експерименту визначено позитивний вплив капсул “Гепафісан” на синтетичні процеси в печінці, а саме: достовірне зниження концентрації ЖК в жовчі відносно показників ІК та ПК при введенні ДП у дозах 54 та 108 мг/кг; достовірному підвищенні концентрації

Таблиця

Вплив капсул “Гепафісан” на функціонально-біохімічні показники печінки щурів в умовах гострого гепатиту, викликаного введенням парацетамолу

Показники	n	Умови досліджу				
		інтактний контроль	позитивний контроль (парацетамол)	парацетамол + гепабене в дозі 88 мг/кг	парацетамол + гепафісан у дозі 54 мг/кг	парацетамол + гепафісан у дозі 108 мг/кг
Вживання, %	10	100	80	100	100	100
МКП	7-8	3,03±0,07	4,04±0,11*	3,49±0,26**	3,30±0,12**	3,19±0,07**
Сироватка крові						
АлАТ, ммоль/л	7-8	0,47±0,05	1,03±0,10*	0,65±0,11**	0,74±0,11*	0,67±0,11**
АсАТ, ммоль/л	6-9	0,61±0,03	0,83±0,06*	0,61±0,05**	0,73±0,03	0,65±0,06
АлАТ/АсАТ	6-9	0,70	1,24	1,07	1,01	1,03
ЛФ, мкмоль/г.л	6-9	8,25±1,11	15,45±1,65*	15,15±1,50*	15,98±1,02*	14,81±0,99*
Холестерин, ммоль/л	6-8	2,41±0,14	2,62±0,16	5,17±2,28	3,00±0,79	2,44±0,11
Загальні ліпіди, г/л	7-9	0,46±0,12	1,60±0,25*	1,06±0,30	0,76±0,27**	0,40±0,10**/**
Жовч						
Швидкість секреції жовчі, мг/хв/100	6-7	3,61±0,25	5,03±1,43	5,08±0,67	3,98±0,81	4,21±1,21
Жовчні кислоти, мг%	6-7	849,95±54,26	945,82±99,40	643,61±55,20**/**	587,43±54,64**/**	597,82±52,95**/**
Холестерин, мг%	6-7	18,95±1,79	3,57±0,71*	4,99±0,88*	12,05±2,46**/**/**	6,11±0,44**/**
ХХК	6-7	46,98±4,54	344,48±96,05*	152,92±30,53**/**	65,24±16,21**/**/**	101,43±14,93**/**
Гомогенат						
ТБК-реактанти, мкмоль/г	6-9	94,71±6,82	64,25±3,99*	73,08±5,49*	58,33±3,14*	59,62±9,74*
ВГ, мг%	6-9	36,79±8,10	54,34±9,95	50,05±9,17	53,47±17,08	37,20±5,56
ДК, мкмоль/г	6-8	8,72±0,71	51,51±9,42*	32,18±4,70*	64,09±16,50**/**/**	23,33±1,26**/**

Примітки: 1. * — відхилення показника достовірне відносно показника групи інтактного контролю, $p < 0,05$; 2. ** — відхилення показника достовірне відносно показника групи контрольної патології, $p < 0,05$; 3. *** — відхилення показника достовірне відносно показника референтного препарату “Гепабене”, $p < 0,05$; 4. n — кількість тварин у групі

холестерину в жовчі. Такий вплив ДП відбився в достовірному зниженні ХХК відносно ПК в усіх виучуваних дозах, але найбільш ефективно в дозі 54 мг/кг — до рівня ІК, що свідчить про більш відновлений функціональний стан печінки та позитивні зрушення в системі ПОЛ/АОС під впливом капсул “Гепафісан”.

Дослідження біохімічних показників у гомогенаті печінки підтверджує активацію АОС організму: при введенні капсул “Гепафісан” у дозі 54 мг/кг на тлі недостовірного підвищення пулу ВГ відбувається достовірне відносно ІК зниження ТБК-реактантів, хоча вміст первинних продуктів (ДК) ПОЛ залишається достовірно збільшеним. Більш ефективно на систему ліпопероксидації впливає ДП у дозі 108 мг/кг, про що свідчить достовірне зниження відносно ІК та ПК первинних (ДК) та відносно ІК вторинних (ТБК-реактантів) продуктів ПОЛ на тлі виснаженого пулу ВГ.

Таким чином, аналіз проведених досліджень показав, що більш ефективно ДП — капсули “Гепафісан” на моделі гепатиту, викликаного па-

рацетамолом, впливає на запальні, синтетичні, метаболічні та функціональні процеси в печінці в дозі 108 мг/кг, ніж в дозі 54 мг/кг та за гепатопротекторною активністю перевищує РП. Слід відмітити, що перш за все ДП корегував показники, які значно змінювались у результаті токсичної дії парацетамолу: достовірно знижував активність АлАТ у сироватці крові і МКП, що свідчить про зниження цитолітичної та запальної реакції, а також про поліпшення загальнотрофічних процесів у печінці. Так, при збільшенні дози до 108 мг/кг ДП пригнічував процеси ПОЛ на ранніх етапах їх інтенсифікації, що підтвердилось достовірним зниженням рівня ДК у гомогенаті печінки. У зв'язку зі стабілізацією мембран гепатоцитів під впливом капсул “Гепафісан” покращився ліпідний обмін.

ВИСНОВКИ

Таким чином, результати проведеного дослідження, підтвердили дозозалежний ефект досліджуваного препарату і показали гепатозахисну активність капсул “Гепафісан”, за сумою показ-

ників більш виразну в дозі 108 мг/кг на моделі гострого гепатиту, викликаного парацетамолом. Це підтверджує можливість застосування препарату в терапії гострих токсичних гепатитів і об-

грунтовує рекомендації до застосування капсул "Гепафисан" у медичній практиці при лікуванні захворювань печінки, викликаних лікарськими засобами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекоменд. / За ред. О. В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
2. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. *Современные методы в биохимии.* — М.: Медицина, 1977. — С. 66-68.
3. Стальная И.Д. *Современные методы в биохимии.* — М.: Медицина, 1977. — С. 42-44.
4. Bass N.M. // *Lancet.* — 2002. — Vol. 359. — P. 558-563.
5. Beutler E.D., Duron Q., Kelly B.M. // *J. Laboratories Clin. Med.* — 1963. — Vol. 61, №5. — P. 882.
6. *Diagnosis and Treatment in Gastroenterology.* — 2-nd ed. — New York, NY: McGraw-Hill Professional, 2003. — P. 664-679.
7. DeLeve L.D., Kaplowitz N. // *Gastroenterol. Clin. N. Am.* — 1995. — Vol. 24. — P. 787-810.
8. Fry S.W., Seeff L.B. // *Gastroenterol. Clin. N. Am.* — 1995. — Vol. 24. — P. 875-905.
9. Schiano T.D., Black M. *Handbook of Liver Disease.* — Churchill Livingstone, 1998. — P. 103-123.
10. Zimmerman H.J. // *Hepatology.* — 1995. — Vol. 22. — P. 767-773.

УДК 615.322:615.244

ОЦЕНКА ПРОТЕКТИВНОГО ВЛИЯНИЯ КАПСУЛ "ГЕПАФИСАН" НА МОДЕЛИ ТОКСИЧЕСКОГО НЕКРОЗА ПЕЧЕНИ У КРЫС ПРИ ЕЕ ПОВРЕЖДЕНИИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ

Л.В.Яковлева, О.В.Геруш, Е.Б.Леницкая

В последнее время проблема поражения печени лекарствами приобретает все большую актуальность. Гепатотоксические реакции препаратов описаны для многих фармакологических групп. Наиболее частой причиной развития поражения печени является парацетамол. В США передозировки парацетамола — вторая по частоте причина смерти от отравлений. Поиск, разработка и создание высокоэффективных и безопасных препаратов для лечения гепатитов различной этиологии может помочь в решении актуальных проблем гепатологии. Проведенная в этом направлении работа позволила выделить новый комбинированный растительный препарат — капсулы "Гепафисан", в состав которого входят 7 растительных компонентов: плоды расторопши, корни одуванчика, листья мяты, трава вахты трехлистной, цветки календулы, трава репешка, трава дымянки лекарственной. Проведенные исследования показали, что капсулы "Гепафисан" проявляют лечебное действие на модели токсического некроза печени у крыс, вызванного парацетамолом, что обосновывает целесообразность внедрения исследуемого препарата в медицинскую практику как гепатотропного средства.

UDC 615.322:615.244

EVALUATION OF THE PROTECTIVE EFFECT OF "HEPAFISAN" CAPSULES ON THE TOXIC LIVER NECROSIS MODEL IN RATS DURING ITS DAMAGE WITH PARACETAMOL

L.V.Yakovlyeva, O.V.Gerush, O.B.Lenitska

Recently the problem of the liver damage by medicines has become rather actual. Hepatotoxic drug reactions are described for many pharmacological groups. Paracetamol is the most frequent cause of development of liver disease. In the United States overdoses with paracetamol is the second leading cause of death from poisoning. The search, development and creation of highly effective and safe medicines for treatment of hepatitis of different etiology may help in solving actual problems of hepatology. Our work performed in this field has allowed to create a new combined herbal medicine — "Hepafisan" capsules, containing 7 components: thistle fruit, dandelion root, peppermint leaves, *Menyanthes trifoliata* herb, calendula flowers, agrimonia herb, *Fumaria officinalis* herb. The research conducted has shown that "Hepafisan" capsules reveal the therapeutic effect on the model of current-classical hepatic necrosis in rats induced by paracetamol, and therefore, the expedience of introduction of the medicine examined into medical practice as a hepatotropic agent has been substantiated.