

УДК 616-071+615.065+616.36-002+615.244+547.972.3

Шеремета Л.М.

Порівняльна ефективність ліпофлаону за умов експериментальних гепатитів за результатами поглибленого статистичного та гістоморфологічного аналізу

Кафедра фармакології (зав. каф. - проф. Л.М.Шеремета)

Івано-Франківського національного медичного університету

Резюме. Дослідження проводили на 340 дорослих білих щурах лінії Вістар із модельованими токсичними гепатитами. Ураження печінки відтворювали лікарськими засобами (тетрацикліном, ізоніазидом, парацетамолом) та хімічними токсикантами (тетрахлоретаном, етанолом). Вивчення біохімічних, гематологічних та морфологічних показників засвідчило високу ефективність ліпофлаону поряд із фармакопейними гепатопротекторами тіотриазоліном і силібором, а також порівняно з еталонними антиоксидантами токоферолом і кверцетиним. Поглиблений статистичний аналіз отриманих в експерименті біохімічних показників, зокрема – маркерів цитолізу та активності системи ПОЛ-АОЗ, підтвердив достовірну перевагу і високу ефективність ліпофлаону, що узгоджується з даними гістологічного дослідження. Отримані нами результати дають можливість стверджувати, що ліпофлаон в дозі 10 мг/кг має виражену гепатопротекторну, антиоксидантну, антирадикальну та репаративну дію і може бути використаний для лікування та профілактики гепатитів за умов тривалого застосування гепатотоксичних ліків (ізоніазид) або при алкогольному чи тетрахлорметановому ураженні печінки.

Ключові слова: експериментальний токсичний гепатит, гепатопротекторна дія, ліпофлаон.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Найчастішими причинами гострої печінкової недостатності, за даними літератури, є медикаментозні ураження (32%), в тому числі й фітопрепаратами, та вірусні захворювання (21%) [4,5]. У клінічній практиці застосовують понад 80 препаратів із визначеною гепатотоксичністю, серед яких найбільш відомими є парацетамол, протитуберкульозні високоефективні засоби, тетрацикліни, еритроміцин, диклофенак та ін. [8]. Важкість ураження та його характер визначається хімічною будовою препаратів, тривалістю лікування та дозуванням, а також генетично зумовленою схильністю або недостатністю ферментів системи цитохрому Р-450. Медикаментозні ураження печінки є одними із найчастіших проявів побічних реакцій на лікарські засоби, що пояснюється активною участю цього органу у біотрансформації ксенобіотиків [1, 9, 12]. Токсичні гепатити немедикаментозного походження часто виникають у побуті (алкоголь, побутова хімія) та на виробництві [11, 13]. У лікуванні токсичних гепатитів різного походження важлива роль належить фосфоліпідним препаратам (есенціале) та гепатопротекторам з антиоксидантною дією [3, 8].

Ненасичені жирні кислоти фосфоліпідів сприяють підвищенню активності і текучості мембран, нормалізують їх проникність, здатні відновлювати структуру і функції клітинних та субклітинних мембран та впливати на ензимну відповідь, сприяють видаленню з гепатоцитів токсичних продуктів обміну етанолу [10, 11]. Фосфоліпідні препарати призначають як на початку (внутрішньовенні інфузії есенціале, ліволіну, гептралу, адеметионіну, ліпіну), так і в пізніші терміни лікування, у період реабілітації (есенціале або ліволін форте в капсулах всередину) протягом 1 – 3 місяців [1, 3].

Мета роботи. На основі поглибленого статистичного аналізу біохімічних досліджень встановити ступінь вираженості лікувальних властивостей ліпофлаону при експериментальних токсичних гепатитах та рівень їх співвідношення з морфологічними змінами.

Матеріал і методи дослідження

Досліди проведено на 340 білих щурах лінії Вістар, обох статей, масою 220-250 г. Токсичні гепатити (ТГ) (етаноловий, тетрахлорметановий, тетрацикліновий, ізоніазидовий та парацетамоловий) моделювали згідно з [2, 7, 9].

У дослідах використано ін'єкційну форму ліпофлаону у вигляді ліофілізованого порошку у флаконі (Біолік, Україна), 10 % розчин а-токоферолу ацетату в ампулах (ICN Pharmaceuticals АО "Октябрь", Росія), Силібор в таблетках, вкритих оболонкою по 0,04 («Здоров'я», Україна), розчин тіотриазоліну 1% («Галичфарм», Україна), кверцетин в гранулах по 2 г у пакетах ("Борщівський хіміко-фармацевтичний завод", Україна). Досліджували: вміст первинних та кінцевих продуктів ПОЛ (ДК, ТБК-активних) в гомогенаті печінки і сироватці крові, активність АлАТ, АсАТ, лужної фосфатази, церулоплазміну (ЦП) та каталази, біохімічні дослідження проводили згідно до [6]. Отримані результати обробляли статистично з використанням критерія Стьюдента, а також t-тесту, факторного, дискримінантного та кластерного аналізу.

Результати дослідження та їх обговорення

Обрані нами моделі гепатитів були адекватними, що проявилось у суттєвих змінах біохімічних показників у всіх групах дослідних тварин, порівняно з інтактними. За даними факторного аналізу досліджено, що вид моделі гепатиту - алкогольний, тетрацикліновий, ізоніазидовий, ТХМ, етаноловий - є визначальним вектором впливу на рівень активності АлАТ (рис. 1), АсАТ та лужної фосфатази у всіх групах дослідних тварин. Водночас, слід зазначити достовірну різницю у глибині порушень названих показників, зокрема, маркеру цитолізу АлАТ, при застосуванні ліпофлаону та інших препаратів, що були використані для порівняння. За результатами t-тесту (порівняння двох середніх) за всіма визначеними показниками (АлАТ, АсАТ, ДК і ТБК-АП, ЦП) для всіх препаратів, що були використані за умов досліджуваних моделей гепатитів було встановлено наступне:

1) суттєві та достовірні відмінності між групами інтакт-

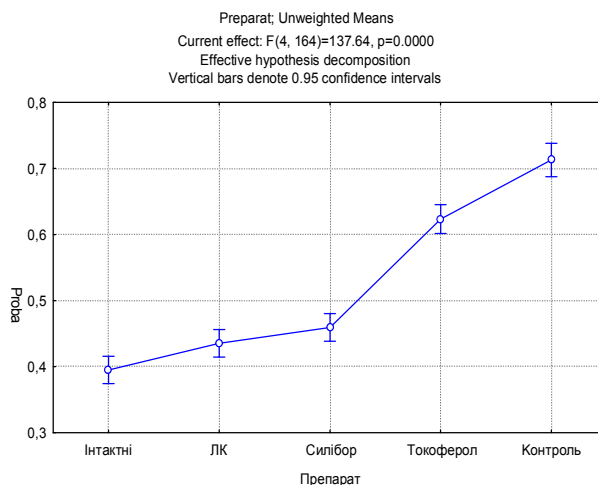


Рис. 1. Вплив фактору (препарати – інтактні, ЛК-ліпофлаон, силібор, токоферол, контроль) на показник АлАТ при різних моделях гепатитів

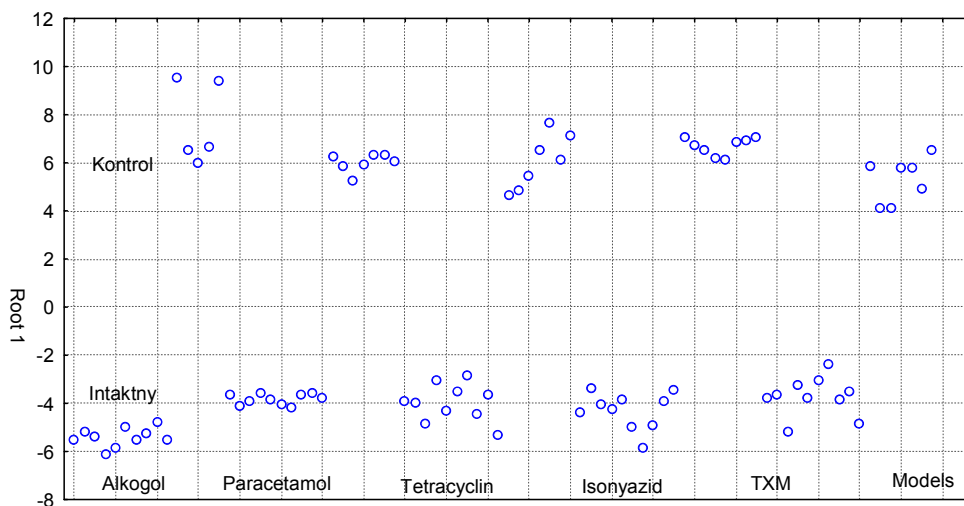


Рис. 2. Результати дискримінантного аналізу „інтактні - контроль” для алкогольного, парацетамолового, тетрациклінового, ізоніазидового та ТХМ гепатиту за показниками АлАТ, АсАТ, ТБК-АП-к, ДК (n=84): F (4,79)=539.28 p<0.0000

тних та контрольних тварин ($p < 0,05$);

2) тенденції до розділення групи контролю з групою токоферолу ацетату за показниками АлАТ в умовах алкогольного гепатиту ($p=0,218$), ТХМ гепатиту ($p=0,099$), за показником ТБК-АПк при тетрацикліновому гепатиті ($p=0,414$); кверцетину в гранулах за ТБК-АПк при парацетамоловому гепатиті ($p=0,137$); а також суттєві та достовірні відмінності контролю з іншими препаратами ($p < 0,05$);

3) значні та достовірні відмінності між групами інтактних та групами із застосуванням кожного препарату зокрема ($p < 0,05$);

4) показники досліджуваних параметрів у групах із використанням α -токоферолу та кверцетину за деяких умов суттєво наближаються до показників контрольної групи.

З використанням кластерного аналізу ми отримали підтвердження високої ефективності ліпофлаону, оскільки показники у всіх групах тварин при всіх модельованих формах гепатитів були найбільш наближеними до інтактних. За результатами дискримінантного аналізу, проведеного з метою визначення показників, котрим належить суттєвий внесок у різницю між контролем та інтактними тваринами (незалежно від етіології ураження), визначено, що найбільший вклад вносять зміни ДК ($F = 1151,9$) і АлАТ ($F = 170,0$) (рис.2).

Вивчення гістоморфологічних показників показало їх взаємозв'язок з отриманими результатами біохімічних

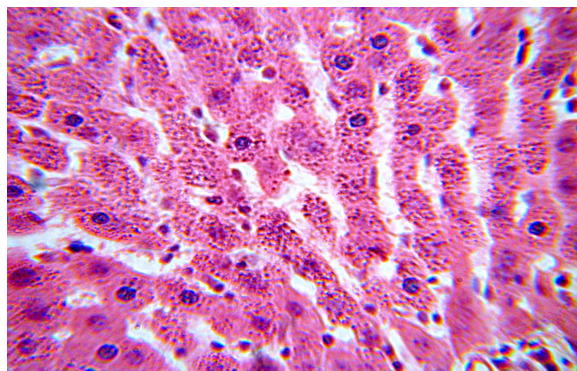


Рис. 3. Печінка щура з етаноловим гепатитом. Зерниста вакуольна дистрофія гепатоцитів; збільшені ядра в окремих гепатоцитах. Некроз гепатоцитів. Забарвлення гемато-ксиліном- еозином. Зб.: ок. 7 x об. 40

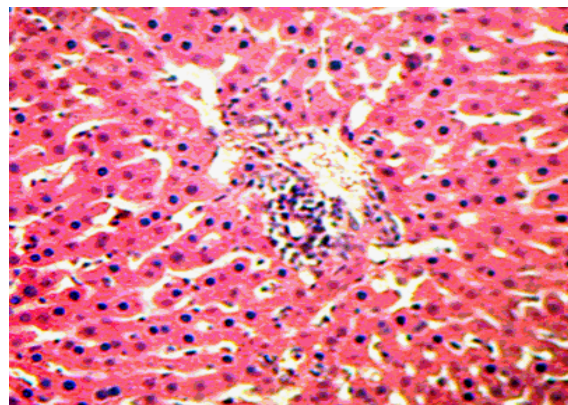


Рис. 4. Печінка щура з етаноловим гепатитом при введенні ЛК. Поодинокі інфільтрати з лімфоцитів, макрофагів у фіброзній тканині порталних трактів. Забарвлення гематоксиліном-еозином. Зб.: ок. 10 x об. 20

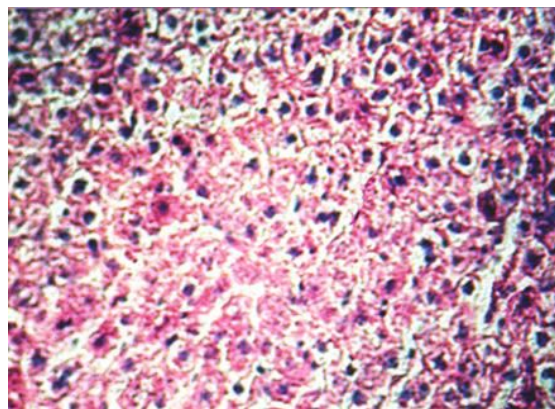


Рис. 5. Печінка щура з парацетамоловим гепатитом (контроль). Ділянки некрозу, виражена гідропічна дистрофія гепатоцитів. Фарбування гематоксиліном та еозином. Зб.: x200

досліджень. Так, при всіх моделях гепатитів, у контрольних групах тварин спостерігали суттєві ознаки пошкодження гепатоцитів – від вакуольної дистрофії до некрозу гепатоцитів (парацетамоловий гепатит) та лімфоцитарної інфільтрації порталних трактів у лікованих токоферолом та силібором. Водночас, у тварин, що отримували ліпофлаон, відзначено ознаки активної регенерації печінки, а її морфоструктура була найбільш наближена до норми (рис. 3-6).

Висновки

1. Ліпофлаон та референтні препарати виявляють гепатопротекторну ефективність різного ступеня, що підтверджено достовірною різницею між досліджуваними біохімічними показниками та при аналізі гістологічних препаратів лікованих та контрольних тварин.

2. Ліпофлаон виявляє найбільш виражений терапевтичний ефект при всіх моделях ТГ, відтворених нами в експерименті.

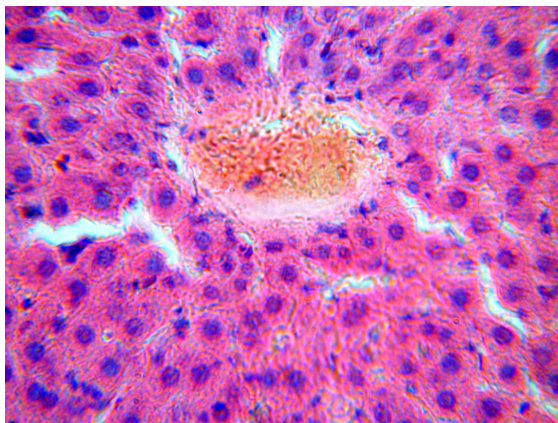


Рис. 6. Печінка щура з парацетамоловим гепатитом, лікованого ЛК в дозі 30 мг/кг. Відновлення нормальної структури печінки. Відсутність дистрофічних змін в гепатоцитах. Простори Діссе не змінені. Відсутня периваскулярна інфільтрація. Фарбування гематоксиліном та еозином. Зб.: x400

3. Поглиблений статистичний аналіз – дискримінантний, Т-тест та факторний – підтвердив ефективність ліпофлаону, тиотриазоліну та силібору за умов ТГ різної етіології, а також взаємозв'язок біохімічних тестів з гистоморфологічним аналізом препаратів.

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати є підґрунтям для подальшого проведення вивчення активності ліпофлаону за умов впливу токсикантів різного походження.

Література

1. Дегтярева И. Применение гепатопротектора Ливолин форте при диффузных заболеваниях печени / Дегтярева И., Ткачук А. // Ліки України. - 2003. - № 10. - С. 49-54.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації. - За ред. О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - С. 321-333.
3. Королева Л.Р. Современные гепатопротекторы // Рос. мед. журн. - 2005. - № 2. - С. 35-37.
4. Никитин И.Г. Лекарственные поражения печени / Никитин И.Г., Сторжаков Г.И. // Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей // Под ред. В.Т. Ивашкина. - М.: Издат. дом. М-Вести, 2002. - С. 122-131.
5. Подымова С. Д. Болезни печени. — Москва: Медицина, 1998. — С. 246–264.
6. Современные методы в биохимии. - Под ред. В.Н. Ореховича. - М.: Медицина, 1977. - С.66-68, 63-64.
7. Стефанов О.В. Дослідження гепатопротекторної дії ліпосомального кверцетину при медикаментозних гепатитах в експерименті / Стефанов О.В., Шеремета Л.М. // Одеський медичний журнал. - 2007, № 5 (103). - С. 23-26.
8. Тарасова К.Г. Лечение и профилактика лекарственных гепатитов у больных туберкулезом легких // <http://www.rusmg.ru/fordocor/infection/gepatit02.shtml>.
9. Шеремета Л.М. Експериментальне дослідження гепатопротективної дії ліпофлаону при медикаментозному гепатиті, викликаному тетрацикліном / Шеремета Л.М. // Вісник морфології. - 2007, № 13 (1). - С. 39-42.
10. Andreo P.H. Drug-induced hepatitis: diagnosis, clinical syn-

dromes and treatment / Andreo P.H., Retoldini T., Nagio F. [et al.] // Gastroenterol. Hepatol. -1999. -Vol. 329. P 862-872.

11. Ghosh A. Hepatoprotective and neuroprotective activity of liposomal quercetin in combating chronic arsenic induced oxidative damage in liver and brain of rats /Ghosh A, Mandal AK, Sarkar S, Das N. // Drug Deliv. - 2011, Vol. 18(6). - P. 451-459.

12. Drug-Induced Hepatotoxicity / Nilesh Mehta // <http://emedicine.medscape.com/article/169814-overview>.

13. Hadem J. Etiologies and Outcomes of Acute Liver Failure in Germany / Hadem J, Tacke F, Bruns T, et al. // Clin Gastroenterol Hepatol. - 2012, Vol. 293. - P. 354-361.

Шеремета Л.М.

Сравнительная характеристика липофлаона в условиях экспериментальных гепатитов по результатам углубленного статистического и гистоморфологического анализа

Резюме. Исследования проводились на 340 взрослых белых крысах линии Вистар с моделированными лекарственными средствами (тетрациклином, изониазидом, парацетамолом) и химическими токсикантами (тетрахлорэтан, этанолом) токсическими гепатитами. Изучение биохимических, гематологических и морфологических показателей показало высокую эффективность Липофлаона в сравнении с фармакопейными гепатопротекторами тиотриазолином и силібором, а также по сравнению с эталонными антиоксидантами токоферолом и кверцетином. Углубленный статистический анализ полученных в эксперименте биохимических показателей, в частности - маркеров цитолиза и активности системы ПОЛ-АОЗ, подтвердил достоверную преимущество и высокую эффективность Липофлаона, что согласуется и с данными гистологического исследования. Полученные нами результаты позволяют утверждать, что Липофлаон в дозе 10 мг/кг обладает выраженным гепатопротекторным, антиоксидантным, анти радикальным и репаративным действие и может быть использован для лечения и профилактики гепатитов в условиях длительного применения гепатотоксических лекарств (изониазид) или при алкогольном или тетрачлорметановом поражении печени.

Ключевые слова: экспериментальный токсический гепатит, гепатопротекторное действие, Липофлаон.

Sheremeta L.M.

Comparative Characteristics of Lipoflavon Efficiency in Experimental Hepatitis by Deep Statistical and Histomorphologic Analysis

Summary. The studies were conducted on 340 adult albino Wistar rats with simulated drug-induced (tetracycline, isoniazid, paracetamol) and chemical toxicants (tetrachloroethane, ethanol), toxic hepatitis. The study of biochemical, hematological and morphological parameters showed high efficiency of Lipoflavon and the pharmacopoeia hepatoprotectors thiotriazolin and silibor, and compared with standard antioxidants tocopherol and quercetin. In-depth statistical analysis of the experimental biochemical parameters, in particular - the markers and cytolytic activity of LPO-AOD, confirmed the advantage of reliable and high performance Lipoflavon, which is consistent with the histological examination data. Our results suggest that Lipoflavon at a dose of 10 mg / kg, has a pronounced hepatoprotective, antioxidant, anti-radical and reparative action and can be used for the treatment and prevention of hepatitis in a long-term use of hepatotoxic drugs (isoniazid), or in alcoholic liver disease.

Key words: experimental toxic hepatitis, hepatoprotective effect Lipoflavon.

Надійшла 23.04.2012 року.