

УДК 615.33:615.322:615.244

О. І. НАБОКА, С. З. ХУАРІ, О. Ю. КОШОВА, А. В. ГЛУЩЕНКО

Національний фармацевтичний університет

МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВОЇ ГЕПАТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ БІ-ТОЛУ ТА КОРЕГУЮЧОГО ВПЛИВУ ЕКСТРАКТІВ ЛАСКАВЦЯ ЗОЛОТИСТОГО ТА КУРАЮ ПАГОРБКОВОГО У ПОРІВНЯННІ З СИЛБОРОМ І КВЕРЦЕТИНОМ

Наведені результати вивчення впливу комбінації Бі-толу з екстрактами ласкавця золотистого і кураю пагорбкового на функціональний стан печінки щурят. Бі-тол у дозі 0,7 мг/кг при двотижневому курсі введення чинить певну гепатотоксичну дію. У щурят розвивається помірно виразний реактивний лікарський підгострий гепатит з помітним підвищенням рівня апоптозу гепатоцитів. Досліджені екстракти в певній мірі корегують гепатотоксичну дію Бі-толу, знижують виразність апоптозу гепатоцитів. Перевагу має екстракт ласкавця золотистого. Гепатопротективна дія обох екстрактів практично не мала дозоалежного ефекту. Отримані результати зумовлюють доцільність подальшого вивчення комбінації екстракту ласкавця золотистого у якості гепатопротекторного засобу для використання у комплексній терапії з Бі-толом.

Ключові слова: сульфаніламідні препарати; гепатотоксична дія; гепатопротектори; екстракт ласкавця золотистого; екстракт кураю пагорбкового

ВСТУП

В останні роки проблема лікарських уражень печінки (ЛУП) набуває все більшої актуальності [1]. ЛУП описані при лікуванні препаратами практично усіх фармакологічних груп. Гострі ЛУП викликають такі потенційно гепатотоксичні препарати: амідарон, лабеталол, метилдопа, статини, антикоагулянти з групи похідних кумарину, анаболічні стероїди, андрогени, естрогени, карбамазепін, фенітоїн, вольпроєва кислота, флуконазол, кетоконазол, протипухлинні препарати, сульфаніламідні [3].

Клініко-морфологічні прояви ЛУП різнобічні. У теперішній час виділяють 3 основні групи ЛУП: гепатоцелюлярні, холестатичні і змішані. Мішенню токсичного впливу можуть бути гепатоцити (некроз), жовчні протоки і каналці (холестази) або синусоїдальні клітини (ендотелій, жировмісні клітини). ЛУП можуть включати ураження паренхіми у вигляді функціональних порушень (індукція мікросомальних ферментів, гіпербілірубінемія), які призводять у результаті до некрозу або апоптозу [2, 3]. До інших гепатотоксичних наслідків прийому лікарських препаратів відносяться: формування стеатозу у вигляді гострих жирових змін і стеатогепатиту; холестази; грануломатоз-

ні зміни; зміни з боку судинної системи печінки (розширення синусоїдальних капілярів, пурпурний гепатит, обструкція венозного відтоку з печінки, вузлова регенераторна гіперплазія, синдром Бадда-Кіарі), а також пухлини печінки (гемангіома, аденома, гепатоцелюлярна карцинома, холангіокарцинома, гемангіосаркома та ін.) [9].

Печінка приймає на себе основний удар, перш за все при пероральному прийомі лікарських препаратів, особливо тих, які володіють феноменом «першого проходження» через печінку. Більшість ксенобіотиків захвачується неспецифічним шляхом завдяки дифузії із синусоїди через мембрану гепатоцитів. Зворотня дифузія, як правило, ускладнена завдяки зв'язуванню зі специфічними внутрішньоклітинними білками [1].

На особливу увагу заслуговують гепатотоксичні ефекти антимікробних, антибактеріальних препаратів і нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) [4]. Недивлячись на те, що ці лікарські засоби викликають гепатотоксичні реакції з невисокою частотою, їх широке медичне застосування і значні об'єми використання можуть обумовлювати ЛУП у достатньо великій кількості пацієнтів. У зв'язку з цим фармакологічна наука приділяє велику увагу пошуку нових ефективних та нешкідливих лікарських засобів із гепатопротекторною дією, а удосконалення вже

© Набока О. І., Хуарі С. З., Кошова О. Ю.,
Глущенко А. В., 2014

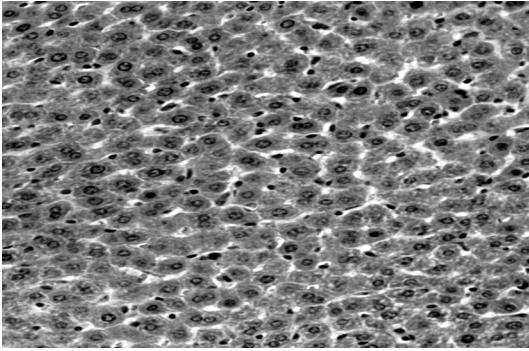


Рис. 1. Печінка інтактного щуряти.
Нормальний стан печінкової паренхіми.
Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

існуючих лікарських препаратів, перш за все, спрямоване на підвищення їх специфічності і зменшення побічних ефектів, пов'язаних із фармакологічними властивостями препарату [12, 13].

На сьогодні в Україні із групи сульфаніламідних препаратів широко застосовується вітчизняний препарат Бі-тол виробництва Житомирської фармацевтичної фабрики. Метою дослідження стало морфологічне вивчення можливої гепатотоксичної дії Бі-толу та корегуючого впливу екстрактів ласкавця золотистого та курау пагорбкового у порівнянні з силібором та кверцетином.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліджена морфоструктура печінки щурят з відповідною масою 60-100 г, яким протягом 2 тижнів вводили Бі-тол у дозі 0,7 мг/кг та аналогічних органів щурят, які на тлі Бі-толу отримували спиртовий екстракт курау пагорбкового та спиртовий екстракт ласкавця золотистого у дозах 5 мг/кг та 10 мг/кг або препарати порівняння силібор у дозі 100 мг/кг чи кверцетин у дозі 50 мг/кг, а також печінка інтактних щурят відповідної маси. Виведення щурят з експерименту проводили шляхом декапітації під легким

ефірним наркозом згідно з положеннями Європейської конвенції по захисту прав хребетних тварин, що використовуються для дослідження та інших наукових цілей [7]. Гістологічні дослідження проведені у ЦНДЛ НФаУ (зав. лаб. д. м. н., проф. Штриголь С. Ю.) за допомоги ст. н. співр. Лар'яновської Ю. Б. Відібрані зразки органів фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, заливали у целоїдин-парафін [10, 11]. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [5, 6, 8]. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Granum, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою програми Tour View.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Печінка інтактних щурят мала притаманний для цього виду тварин нерозбірливий рисунок печінкових часточок. Межі часточок визначали по триадах. Гепатоцити у часточках розташовані радіальними тяжами. Форма, розмір клітин відповідали нормі. Простежена доволі виражена ізоморфність (схожість) клітин. Ядра гепатоцитів містили переважно одне ядро. Цитоплазма клітин рівномірно пофарбована. Наявність двоядерних гепатоцитів у межах норми, клітин з реактивними змінами ядра та цитоплазми, що свідчили б про напругу функціонального стану органу, не виявлена. Не помічено клітин з апоптотичними змінами. Стан клітинної системи імунного нагляду у межах норми, порушень мікроциркуляції не помічено (рис. 1).

Після двотижневого введення Бі-толу виявлені доволі численні ознаки його гепатотоксичної дії. Спостерігали гідропічну та жирову дистрофію гепатоцитів різної виразності з переважно перипортальною локалізацією, іноді з втратою балкового рисунка цих зон при незмінній загальній гістоархітектоніці печінкової паренхіми. Збільшено вміст лімфоцитів у си-

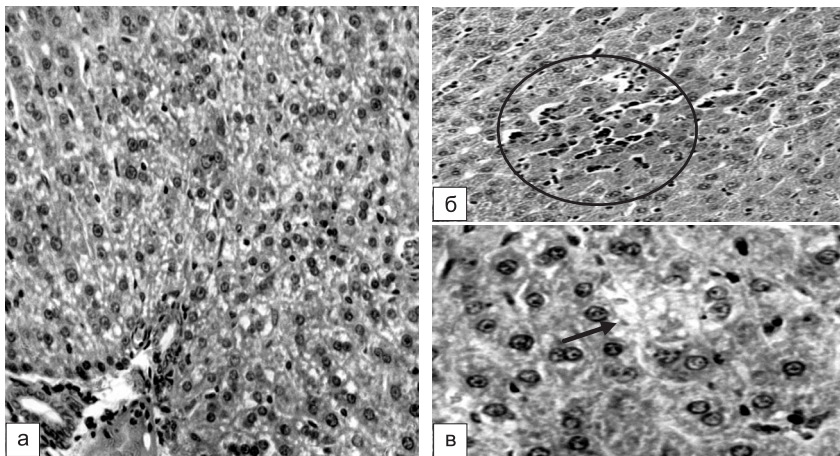


Рис. 2. Печінка щурят після введення Бі-толу: а – дистрофія перипортальних гепатоцитів, дрібні зони втрати радіального рисунка ($\times 200$); б – збільшення вмісту лімфоцитів у синусоїдальних капілярах ($\times 200$); в – дрібна ділянка літичного некрозу гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. $\times 250$.

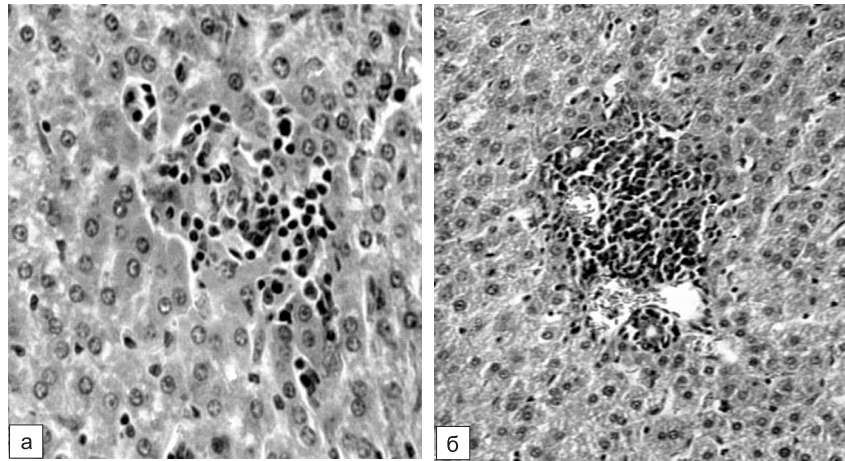


Рис. 3. Печінка щурят після введення Бі-толу: а – осередок некрозу гепатоцитів, інфільтрований мононуклеарами (x250); б – круглоклітинна інфільтрація триади, руйнація межової пластинки з проникненням клітин інфільтрату у паренхіму. Гематоксилін-еозин. x200.

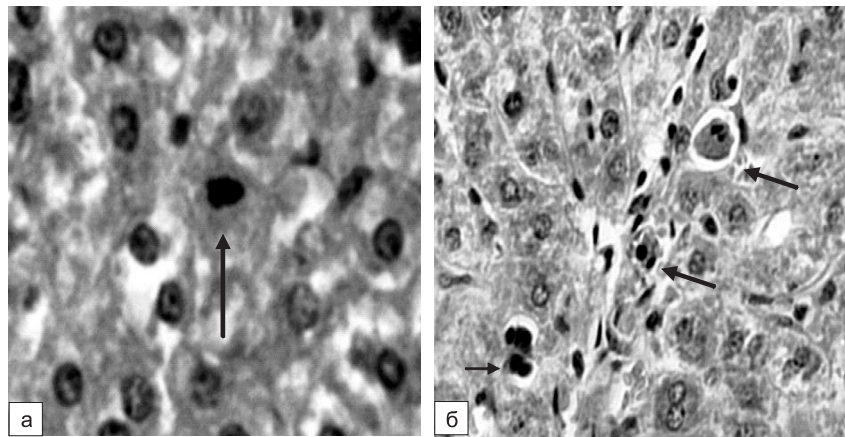


Рис. 4. Печінка щурят після введення Бі-толу. Апоптотично змінені гепатоцити: а – гіперхроматоз, ущільнення ядерного хроматину; б – тільця Каунсилмена у синусоїдальних капілярах. Гематоксилін-еозин. x250.

нусоїдальних капілярах, простежені дрібні ділянки гепатолізісу (рис. 2). У різних місцях часточок відмічені різного розміру осередки коагуляційного некрозу гепатоцитів, які у тому чи іншому ступені інфіль-

тровані або заміщені мононуклеарними елементами. Місцями відмічено лімфоцитарно-макрофагальну інфільтрацію навколо триад. Клітини інфільтрату іноді руйнували межову пластинку і проникали у паренхіму

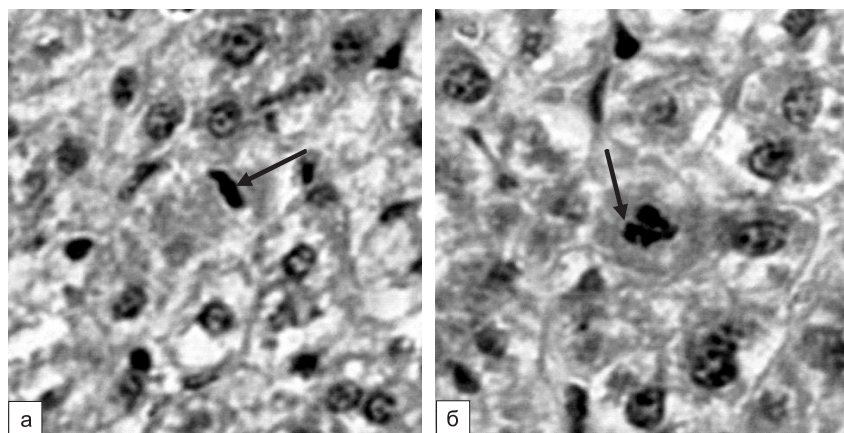


Рис. 5. Печінка щурят після введення Бі-толу. Мітоз у гепатоцитах: а – метафаза; б – анафаза. Гематоксилін-еозин. x400.

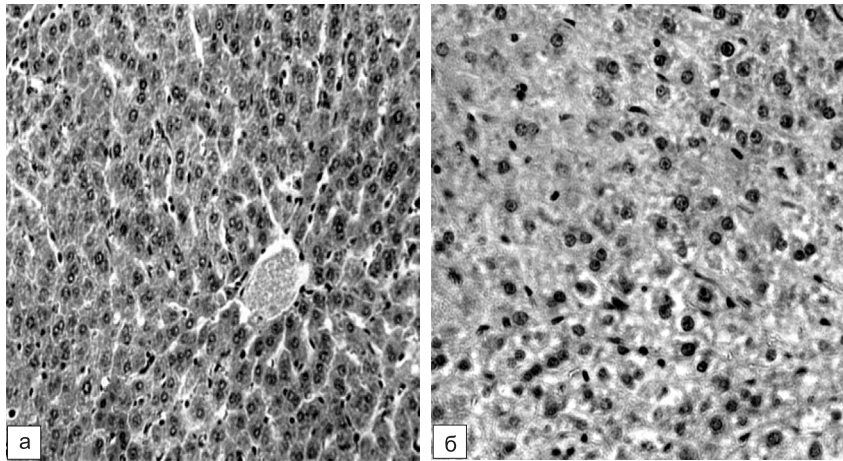


Рис. 6. Печінка щурят після одночасного введення екстракту кураю пагорбкового у дозі 5 мг/кг та Бі-толу. а – незмінена печінкова паренхіма (x200); б – осередок вакуольної дистрофії гепатоцитів перипортально. Гематоксилін-еозин. x250.

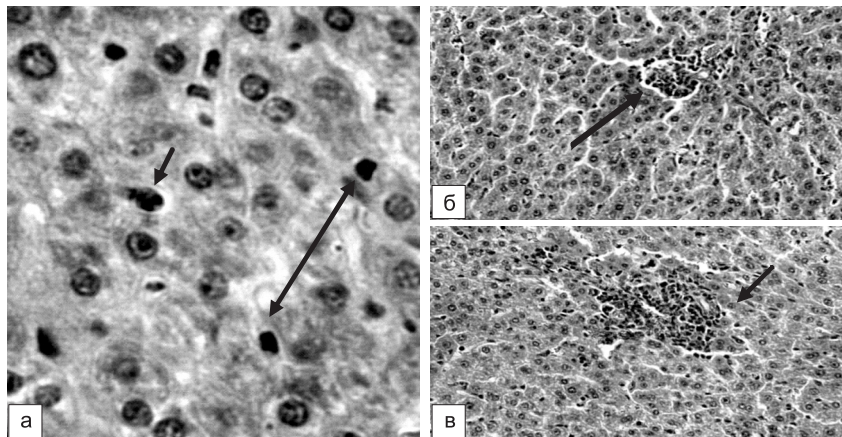


Рис. 7. Печінка щурят після одночасного введення екстракту кураю пагорбкового у дозі 5 мг/кг та Бі-толу: а – тілець Каунсілмена, ущільнення, конденсація ядерного хроматину; б – дрібний осередок некрозу гепатоцитів, інфільтрований мононуклеарами; в – круглоклітинна інфільтрація триади без руйнації межової пластинки. Гематоксилін-еозин. а – x400, б-в – x200.

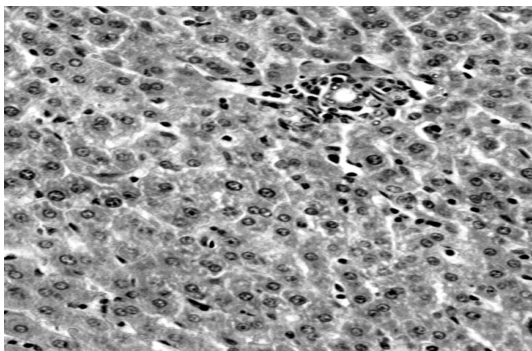


Рис. 8. Печінка щуряти після одночасного введення екстракту кураю пагорбкового у дозі 10 мг/кг та Бі-толу. Відсутність змін патологічного характеру у паренхімі органу. Гематоксилін-еозин. x250.

(рис. 3). У всіх щурят виразно підвищено апоптоз гепатоцитів. Спостерігали різні стадії апоптотичних змін – від початкових (маргінація хроматину, гіперхроматоз, пікноз, каріорексис) до кінцевих – цілком сформованих тілець Каунсілмена, які виштовхувалися з печінкової балки у просвіт синусоїда, де зазнавали різної виразності фагоцитозу (рис. 4). Значно збільшено мітоз гепатоцитів (рис. 5).

Одночасне введення екстракту кураю пагорбкового з Бі-толом в певній мірі корегує гепатотоксичний вплив останнього. Так, після введення екстракту у дозі 5 мг/кг у 80 % щурят відсутні ознаки дистрофії, гепатолілізу. Лише в одній тварині (20 %) виявлені помірні за розміром осередки перипортальної змішаної гідропічної та жирової дистрофії гепатоцитів (рис. 6).

У всіх тварин значно менша виразність апоптозу, мітозу у клітинах не спостерігали. У той же час зустрічалися дрібні осередки некрозу гепатоцитів, круг-

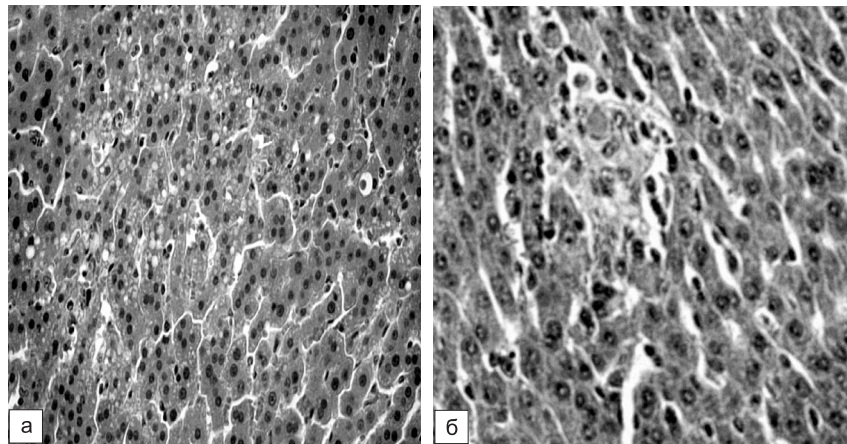


Рис. 9. Печінка щурят після одночасного введення екстракту кураю пагорбкового у дозі 10 мг/кг та Бі-толу: а – осередок жирової дистрофії гепатоцитів; б – дрібна ділянка гепатолізу. Гематоксилін-еозин. х150, 200.

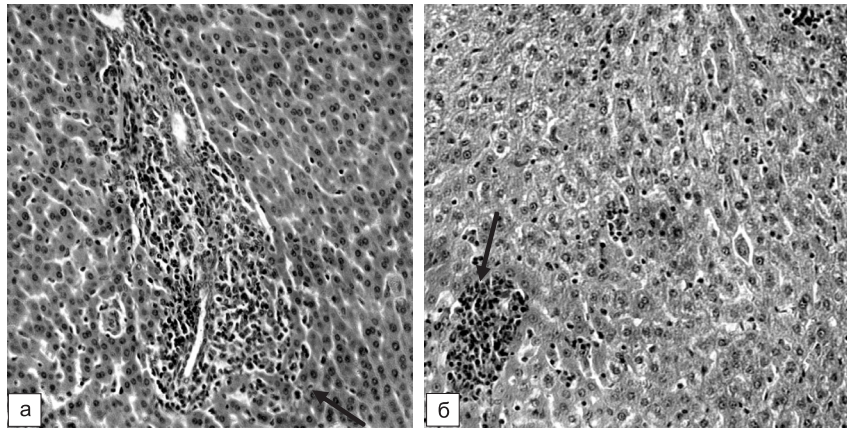


Рис. 10. Печінка щурят після одночасного введення екстракту кураю пагорбкового у дозі 10 мг/кг та Бі-толу: а – клітинний інфільтрат перипортально, видно невеличку зону руйнації межової пластинки, проникнення клітин у паренхіму; б – невеликий осередок некрозу гепатоцитів з заміщенням загиблих клітин мононуклеарами, змішана дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. х200.

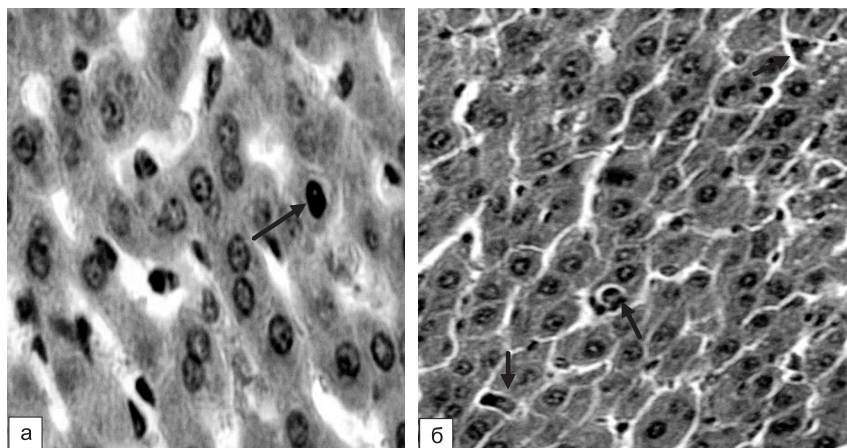


Рис. 11. Печінка щурят після одночасного введення екстракту кураю пагорбкового у дозі 10 мг/кг та Бі-толу: а – початкова фаза апоптозу (маргінація хроматину); б – сформовані тільця Каунсилмена у синусоїдах. Гематоксилін-еозин. а – х 250, б – х200.

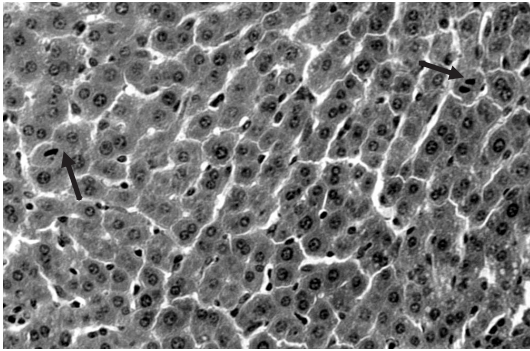


Рис. 12. Печінка щурят після одночасного введення екстракту кураю пагорбкового у дозі 10 мг/кг та Бі-толу. Мітоз гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

локлітинна інфільтрація частини триад без руйнації межової пластинки та проникнення клітин інфільтрації у паренхіму (рис. 7).

Після підвищення дози екстракту кураю пагорбкового до 10 мг/кг у 40 % щурят відсутні зміни дис-

трофічного характеру, некроз та мононуклеарна інфільтрація, не простежено апоптоз гепатоцитів (рис. 8).

У решти 60 % щурят спостерігали той же набір патологічних ознак гепатотоксичної дії, як і при моноприйомі Бі-толу, і у деяких з них вона була практично такої ж виразності. Дистрофія гепатоцитів у частини тварин носила змішаний характер (гідропічна та жирова), у інших – тільки жировий характер (рис. 9-12).

Одночасне введення екстракту ласкавця золотистого з Бі-толом як у дозі 5 мг/кг, так і у дозі 10 мг/кг запобігало проявам гепатотоксичної дії Бі-толу у щурят. Дистрофія гепатоцитів або не проглядалася, або зони її локалізації були звужені, виразність вакуолізації зменшена (рис. 13, 14).

Практично відсутній у всіх щурят коагуляційний та літичний некроз, мононуклеарна інфільтрація портальних трактів. Внутрішня межава пластинка збережена. Зменшено прояви апоптозу. В основному видно лише початкові стадії апоптотичних змін. У той же час у деяких тварин ще підвищено мітоз гепатоцитів (рис. 15, 16).

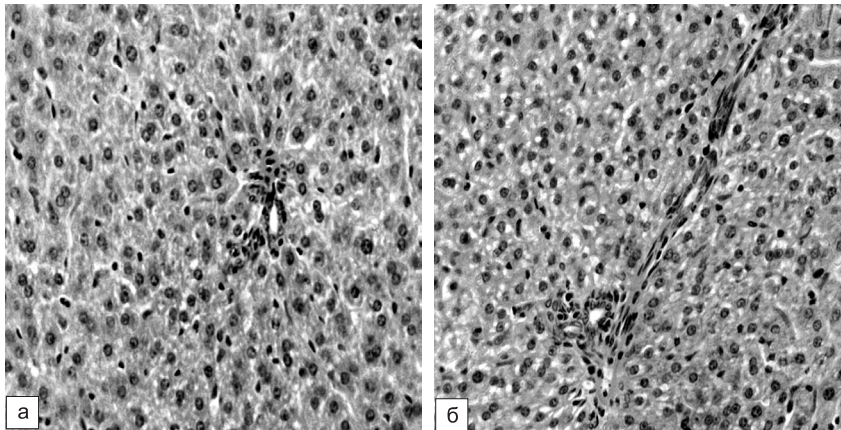


Рис. 13. Печінка щурят після одночасного введення екстракту ласкавця золотистого у дозі 5 мг/кг та Бі-толу: а – печінкова паренхіма не змінена, дистрофія гепатоцитів відсутня; б – помірна змішана вакуолізація перипортальних гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

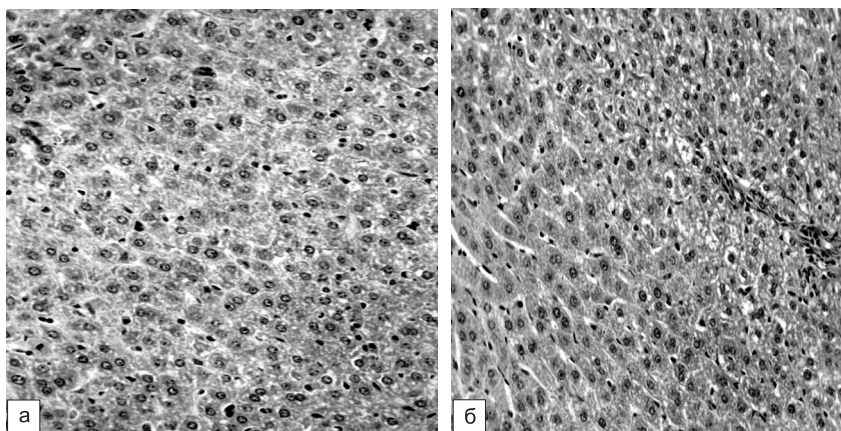


Рис. 14. Печінка щурят після одночасного введення екстракту ласкавця золотистого у дозі 10 мг/кг та Бі-толу: а – радіальний рисунок не змінено, дистрофія гепатоцитів відсутня; б – змішана вакуолізація гепатоцитів перипортальної зони. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

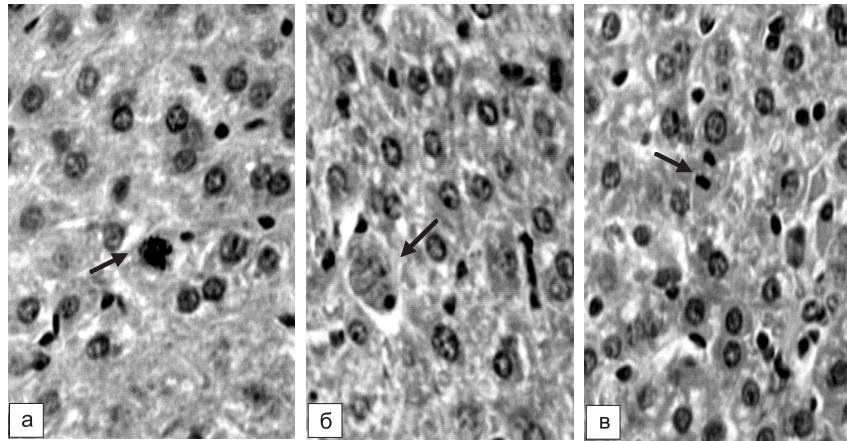


Рис. 15. Печінка щурят після одночасного введення екстракту ласкавця золотистого у дозі 5 мг/кг та Бі-толу: а – ущільнення, фрагментація ядерного хроматину у гепатоциті; б – тільце Каунсилмена у синусоїді; в – мітоз у клітині. Гематоксилін-еозин. x200.

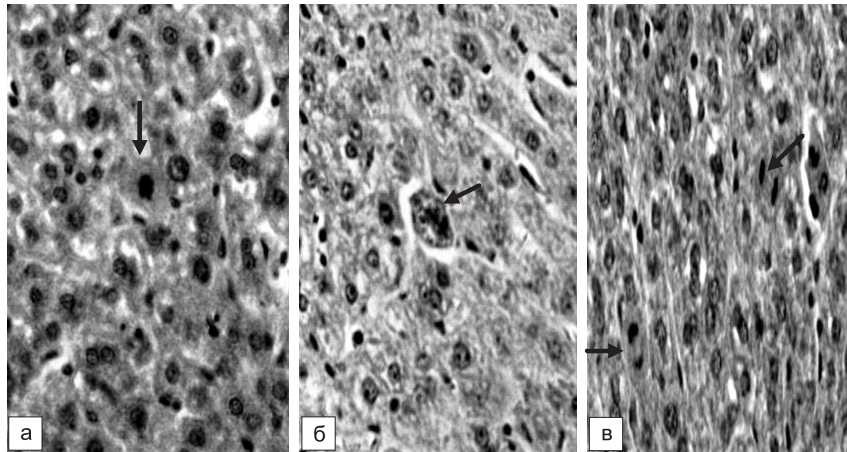


Рис. 16. Печінка щурят після одночасного введення екстракту ласкавця золотистого у дозі 10 мг/кг та Бі-толу: а – початкова стадія апоптозу; б – сформоване тільце Каунсилмена у синусоїді; в – мітоз у клітинах. Гематоксилін-еозин. а, в – x200, б – x250.

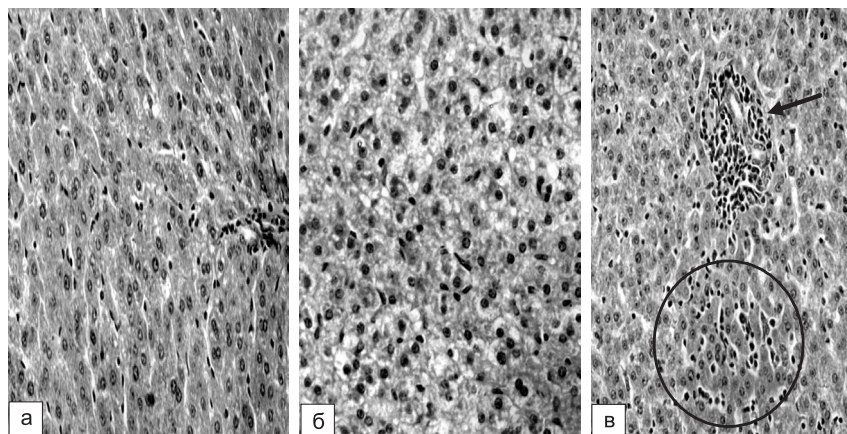


Рис. 17. Печінка щурят після одночасного введення кверцетину та Бі-толу: а – нормальний стан паренхіми; б – змішана дистрофія гепатоцитів; в – клітинна інфільтрація навколо триади, збільшення лімфоцитів у синусоїдах. Гематоксилін-еозин. а, в – x200, б – x250.

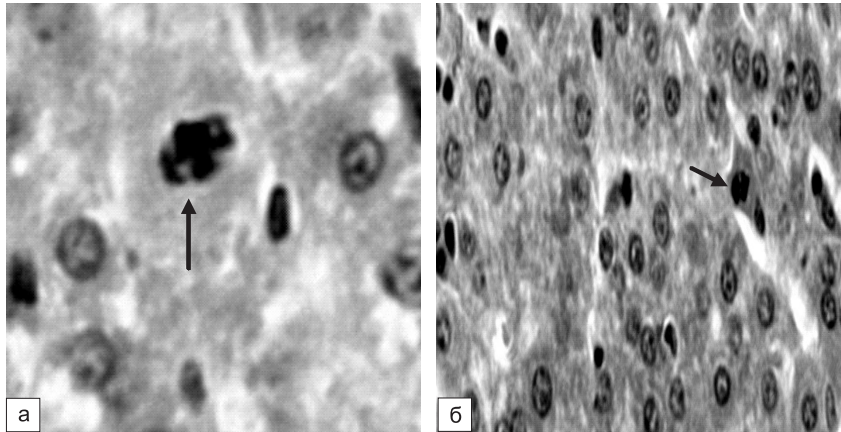


Рис. 18. Печінка щурят після одночасного введення кверцетину та Бі-толу: а – конденсація, фрагментація ядерного хроматину у гепатоциті; б – залишкове апоптозне тільце у синусоїді. Гематоксилін-еозин. а – $\times 400$, б – $\times 250$.

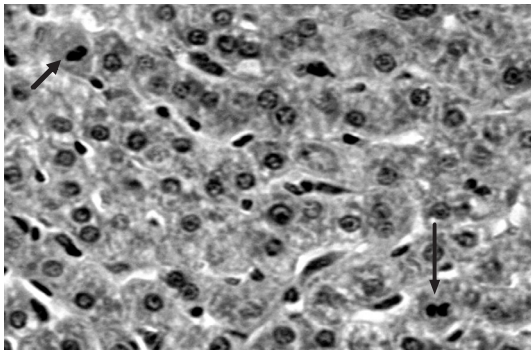


Рис. 19. Печінка щурят після одночасного введення кверцетину та Бі-толу. Мітоз гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. $\times 250$.

Необхідно зазначити, що при введенні екстракту ласкавця золотистого у дозі 10 мг/кг всі наведені вище зміни мали більш виразний характер порівняно з такими при введенні екстракту у дозі 5 мг/кг.

Кверцетин при введенні у комбінації з Бі-толом запобігав розвитку дистрофії гепатоцитів у більшості щурят (60 %), втім інфільтрація частини портальних трактів, ділянки підвищеної насиченості синусоїдальних капілярів лімфоцитами зустрічалася практично у всіх тварин (рис. 17).

Достатньо виразно знижений рівень апоптозу, виявлені лише поодинокі гепатоцити з маргінацією хроматину і пікнозом ядра та нечисленні залишкові апоптозні тільця у просвіті синусоїдів (рис. 18). У частини щурят залишався підвищений рівень мітозів у клітинах (рис. 19).

Введення силібору одночасно з Бі-толом виразно покращило мікроскопічну картину печінки переважної більшості щурят. Стан паренхіми часточок практично не відрізнявся від інтактного контролю. Лише у одного щура простежені дрібні осередки некрозу гепатоцитів, мононуклеарна інфільтрація частини триади іноді з порушенням цілісності межової пластинки та

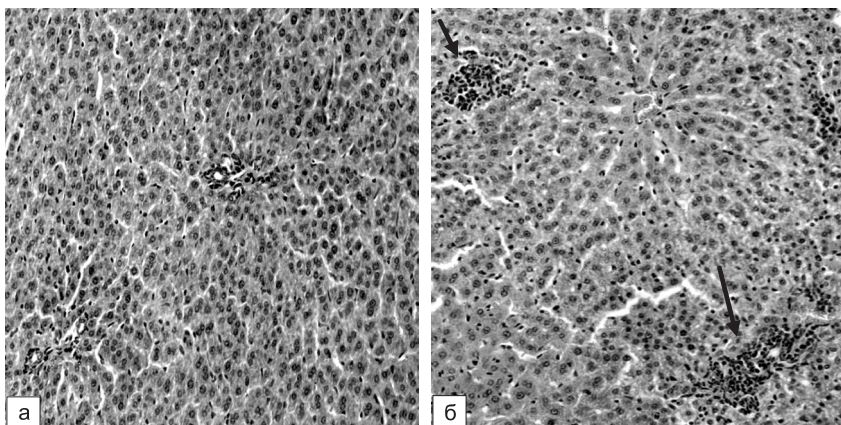


Рис. 20. Печінка щурят після одночасного введення силібору та Бі-толу: а – не змінена гістоструктура тканини; б – запальна мононуклеарна інфільтрація триади з порушенням межової пластинки та проникненням клітин у часточку, дрібний осередок некрозу. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

проникненням клітин у паренхіму часточки (рис. 20). У тієї ж тварини спостерігали поодинокі апоптотичні гепатоцити. Клітин у стані поділу не виявлено.

ВИСНОВКИ

1. Бі-тол у дозі 0,7 мг/кг при двотижневому курсі введення чинить певну гепатотоксичну дію. У щурят розвивається помірно виразний реактивний лікарський підгострий гепатит з помітним підвищенням рівня апоптозу гепатоцитів.
2. Досліджені екстракти в певній мірі корегують гепатотоксичну дію Бі-толу, знижують виразність апоптозу гепатоцитів. Перевагу має екстракт ласкавця золотистого. Гепатопротективна дія обох екстрактів практично не мала дозозалежного ефекту.
3. За гепатопротективною дією екстракт кураю паргорбкового не поступався кверцетину та поступався силібору. Екстракт ласкавця золотистого переважав кверцетин та не поступався силібору.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Бабак О. Я. Лекарственные поражения печени: вопросы теории и практики / О. Я. Бабак // Ліки України. – 2008. – № 2. – С. 96-101.
2. Бондарев Л. С. Современный взгляд на проблему лекарственных гепатитов / Л. С. Бондарев, А. А. Заплатная // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2008. – Т. 9, № 2. – С. 226-229.
3. Кушнир И. Э. Лекарственные поражения печени / И. Э. Кушнир // Мистецтво лікування. – 2006. – № 8 (34). – С. 43-47.

4. Лекарственно-индуцированные поражения печени. Диагностика и лечение / [А. В. Ковтун, А. В. Яковенко, А. Н. Иванов и др.] // Лечащий врач. – 2011. – № 2. – С. 25-32.
5. Манских В. Н. Морфологические методы верификации и количественной оценки апоптоза // Бюл. сибирской медицины. – 2004. – № 1. – С. 63-70.
6. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.
7. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К.: Авіценна, 2002. – 156 с.
8. Патологическая анатомия болезней плода и ребенка: [руководство для врачей в 2-х т.] / А. А. Биркун, В. В. Власюк, П. С. Гуревич и др. – М.: Медицина, 1989. – Т. 2. – 416 с.
9. Полунина Т. Е. Лекарственные поражения печени / Т. Е. Полунина // Лечащий врач. – 2005. – № 3. – С. 69-72.
10. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций: [руководство АМН СССР] / Л. И. Аруин, А. Г. Бабаева, В. Б. Гельфанд и др. – М.: Медицина, 1987. – 448 с.
11. Хэм А., Кормак Д. Гистология / Пер. с англ. В 5 т. – М.: Мир, 1983. – Т. 2. – 254 с.
12. Livshits I. K. Therapeutic action of herbal hepatoprotectors in chronic hepatitis / I. K. Livshits, E. I. Belobrodova, A. I. Vengerovskiy // Bull. of Siberian Medicine. – 2006. – Ann. 2. – С. 106-109.
13. Ruzhenkova I. V. Basics of Phytotherapy / I. V. Ruzhenkova. – М.: Phenix press, 2005. – 188 p.

УДК 615.33:615.322:615.244**О. І. Набока, С. З. Хуари, Е. Ю. Кошевая, А. В. Глущенко****МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОМОЖНОГО ГЕПАТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БИ-ТОЛА И КОРРЕГИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТОВ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ И СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ В СРАВНЕНИИ С СИЛИБОРОМ И КВЕРЦЕТИНОМ**

Представлены результаты изучения влияния комбинации Би-тола с экстрактами володушки золотистой и солянки холмовой на функциональное состояние печени крысят. Би-тол в дозе 0,7 мг/кг при двухнедельном курсе введения оказывает гепатотоксическое действие. У крысят развивается умеренно выраженный реактивный лекарственный подострый гепатит с внешне заметным повышением уровня апоптоза гепатоцитов. Исследуемые экстракты корректируют гепатотоксическое действие Би-тола, снижают выраженность апоптоза гепатоцитов. Преимущество имеет экстракт володушки золотистой. Гепатопротективное действие обоих экстрактов практически не имело дозозависимого эффекта. Полученные результаты обуславливают перспективность дальнейшего изучения комбинации экстракта володушки золотистой в качестве гепатопротекторного средства для использования в комплексной терапии с Би-толом.

Ключевые слова: сульфаниламидные препараты; гепатотоксическое действие; гепатопротекторы; экстракт володушки золотистой; экстракт солянки холмовой

UDC 615.33:615.322:615.244**O. I. Naboka, S. Z. Khouari, O. Yu. Koshova, A. V. Glushchenko****MORPHOLOGICAL INVESTIGATION OF BI-TOL'S POSSIBLE HEPATOPROTECTIVE ACTION AND CORRECTIVE ACTION OF THE BUPLEURUM AUREUM AND SALSOLA COLLINA' EXTRACTS IN COMPARISON WITH THE SILIBORUM AND QUERCETINUM**

The results of research of influence of Bi-tol with the extracts of Bupleurum aureum and Salsola collina on the functional state of infant rats' liver are presented. The Bi-tol in a dosage of 0,7 mg/kg for two-weeks injection has a certain hepatoprotective effect. The moderately expressed reactive medical subacute hepatitis of infant rats is developing with visible increase of apoptosishepatocytes' level. The examined extracts correct the Bi-tol's hepatotoxic action completely, reduce expressiveness of apoptosishepatocytes. The extract of Bupleurum aureum has an advantage. The hepatoprotective action of the both extracts did not have practically a dose-dependent effect. The results obtained stipulate a reasonability of further research of combinations of Bupleurum aureum extract as a hepatoprotective drug while complex therapy for patients with inflammatory distractive diseases.

Key words: sulfanilamide preparations; hepatotoxic action; hepatoprotectors; extract of Bupleurum aureum; extract of Salsola collina

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.

Тел. (057) 706-23-42.

E-mail: olganaboka@rambler.ru.

Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції

24.10.2014 р.