

УДК 615.01: 615.214:616.36

Н. А. ЦУБАНОВА

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ МЕЛАТОНІНУ ЗА УМОВ ГОСТРОЇ ПЕЧІНКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ У ЩУРІВ

Представлені результати дослідження впливу мелатоніну в дозі 5 мг/кг на перебіг ішемічної гострої печінкової недостатності у щурів. Як препарат порівняння був обраний тіотриазолін у дозі 48 мг/кг. Оцінку інтенсивності патологічного процесу у печінці проводили на висоті розвитку патології. Встановлено, що мелатонін виявляє значну гепатопротекторну дію, позитивно впливаючи на різні ланцюги патогенетичного каскаду в ішемізованій печінці.

Ключові слова: мелатонін; гепатопротекторний ефект; печінкова недостатність

ВСТУП

На сьогоднішній день терапія гострих уражень печінки ішемічного генезу є актуальним питанням сучасної медицини та фармації. Невирішеною проблемою гепатології залишається обмежений асортимент препаратів із антигіпоксичною та гепатопротекторною дією [4]. За даними V. Fuhrmann (2010) [9] гостру гіпоксію печінки реєструють у 10 % всієї когорти реанімаційних хворих. Гостра печінкова недостатність гіпоксичного генезу індукує низку серйозних ускладнень, таких як спонтанна гіпоглікемія, дихальна недостатність через розвиток гепатопульмонального синдрому та гіперамоніємія [3]. Поліорганна недостатність як наслідок гострої гіпоксії печінки обумовлює надзвичайно високий рівень госпітальної летальності у хворих із гіпоксичною печінкою. Цей показник за даними J. M. Raugich та співавт. (2011) [11] досягає 61,5 %. За даними E. C. Ebert [8], гіпоксичне ураження печінки характеризується глобальним (рівень трансаміназ зростає у 20 разів), але оборотним збільшенням у сироватці крові активності трансаміназ.

Складність механізмів розвитку ішемічного ураження печінки потребує призначення комбінацій лікарських засобів, що є небезпечним з точки зору розвитку ускладнень від поліпрагмації [4].

Перспективним фармакологічним підходом у терапії хворих на гострі печінкові розлади може бути застосування мелатоніну, для якого за даними C. Chojnacki та співавт. (2012) [6] встановлена гепатопротекторна дія у хворих на печінкову енцефалопатію. У дослідженні Butun I. та співавт. (2013) [5] позитивний вплив мелатоніну в дозах 1 мг/кг та 10 мг/кг на функціональний стан печінки пояснюють його значною антиоксидантною активністю та здатністю зменшувати рівень окиснених ліпопротеїнів низької щіль-

ності у сироватці крові. Метою даної роботи було вивчення можливої гепатопротекторної дії мелатоніну на фоні гострої ішемії печінки.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на щурах масою 180-240 г. Ішемічну гостру печінкову недостатність (ГПН) відтворювали під тіопентал-натрієвим наркозом (35 мг/кг внутрішньоочеревинно), накладаючи спеціальний застискач на судинну ніжку печінки та жовчовивідну протоку на 25 хв [1]. Мелатонін у дозі 5 мг/кг вводили експериментальним тваринам протягом 3 дб, востаннє за 40 хв до моделювання ГПН. Препарат порівняння тіотриазолін вводили за аналогічною схемою в дозі 48 мг/кг, яка відповідає середньотерапевтичній дозі для людини [2]. Реєстрували летальність тварин протягом перших 24 год після моделювання патології. Наприкінці першої доби тварин виводили за експерименту (під ефірним наркозом) та здійснювали забирання біоматеріалу для біохімічних досліджень.

Антицитолітичну дію досліджуваної сполуки та препаратів порівняння оцінювали за активністю у сироватці крові ферментів цитолізу АлАТ та АсАТ, за змінами коефіцієнта маси печінки (КМП) робили висновки щодо наявності протизапального ефекту, рівень холестази оцінювали за зміною активності ЛФ. Зсув у системі ПОЛ-АОС аналізували за вмістом у гомогенаті печінки та сироватці крові ТБК-реактивних, ДК, ВГ та активністю каталази, вмістом церулоплазміну. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistika Analystsoft з використанням критерію Стьюдента [12].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Гепатопротекторну активність мелатоніну та препарату порівняння оцінювали за інтегральним показником – зниженням летальності (табл. 1).

© Цубанова Н. А., 2015

Таблиця 1

**ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ
НА ЛЕТАЛЬНІСТЬ ЩУРІВ ІЗ ГОСТРОЮ
ІШЕМІЄЮ ПЕЧІНКИ**

Група	Летальність		p
	загинуло / тварин у групі	%	
Псевдооперовані щури, (n = 6)	0/6	0	-
Контрольна патологія – ГПН, (n = 14)	9/14	64,3	$p_{2-1} < 0,001$
Мелатонін, 5 мг/кг + ГПН (n = 10)	3/10	30	$P_{3-1} < 0,01$ $P_{3-2} < 0,05$
Тіотриазолін, 48 мг/кг + ГПН (n = 8)	2/8	25	$P_{4-1} < 0,01$ $P_{4-2} < 0,05$

Примітка. ГПН – гостра печінкова недостатність.

При ішемічній ГПН летальність тварин групи контрольної патології складає (64,3 %), що свідчить про тяжкість патології та вірогідно перевищує показник псевдооперованих щурів (0 %, $p < 0,001$) (табл. 1). За інтегральним показником летальності гепатопротекторна активність мелатоніну (летальність 30 %) дещо поступається відомому гепатопротектору тіотриазоліну (25 %, $p < 0,01$).

Значні патологічні зміни на тлі гострої ішемії печінки верифіковано за збільшенням у 1,4 рази КМП у тварин групи контрольної патології. Підвищення у 2-2,3 рази активності ферментів цитолізу АЛАТ та АсАТ у сироватці крові свідчить про деструкцію клітин печінки у групі нелікованих тварин, а збільшення у 1,8 рази активності ЛФ є індикатором синдрому холестазу (табл. 2).

Мелатонін чинить значну антицитолітичну дію, вірогідно знижує активність цитолітичних ферментів АЛАТ та АсАТ у сироватці крові (на 30 % та на 33 % відповідно відносно групи контрольної патології). Гепатопротекторну дію мелатоніну також підтверджує показник КМП, який вірогідно нижче за показник групи контрольної патології. Активність ЛФ не має вірогідних відмінностей від показника групи псевдо-

оперованих тварин, що свідчить про відсутність холестазу у тварин за умов мелатоніну.

Відомий гепатопротектор тіотриазолін за нормалізацією маркерних ферментів цитолізу (АЛАТ, АсАТ) та холестазу (ЛФ) дещо поступався ефективності мелатоніну, але різниця показників не була статистично значущою.

Гостра ішемія печінки з наступною реперфузією супроводжувалась значною інтенсифікацією процесів ПОЛ, збільшенням вмісту ТБК-реактивних та ДК у гомогенаті печінки та сироватці крові у середньому в 1,4-2,6 рази. При цьому активність АОС була знижена в 1,5-1,8 рази, що встановлено за змінами вмісту ВГ та активністю каталази (табл. 3).

Мелатонін виявив значну антиоксидантну дію, що встановлено за нормалізацією балансу ПОЛ-АОС. Зниження інтенсивності процесів ПОЛ верифіковане за вірогідним зменшенням ТБК-реактивних та ДК відносно групи контрольної патології. У механізмі антиоксидантної дії мелатоніну бере участь відновлення активності як неферментативної ланки АОС (збільшення вмісту ВГ на 20 % відносно групи контрольної патології), так і ферментативної (зростання активності каталази на 38 % відносно групи контрольної патології) (табл. 3).

Введення препарату порівняння тіотриазоліну чинило дещо більшу антиоксидантну дію. Отже, антиоксидантний ефект мелатоніну за умов гострої печінкової недостатності знаходиться на рівні тіотриазоліну.

За умов ішемічної ГПН встановлено вірогідне зниження функціональної активності печінки (табл. 3). Маркером зниження білоксинтетичної функції є зменшення концентрації загального білка у сироватці крові в 1,3 рази у тварин групи контрольної патології. У тварин групи контрольної патології зареєстровано підвищення рівня церулоплазміну в 1,6 рази, що поряд з іншими показниками характерно для гострої фази запалення на тлі ішемії (табл. 3).

Вміст глікогену в гепатоцитах за умов гострої нелікованої ГПН значно знижений на 31 % ($p < 0,001$), підтвердженням порушення участі печінки в обміні

Таблиця 2

**ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА КОЕФІЦІЄНТ МАСИ ПЕЧІНКИ ТА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ
У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ІЗ ГОСТРОЮ ІШЕМІЄЮ ПЕЧІНКИ (n = 6)**

Умови досліджу	КМП, %	Ферменти сироватки крові		
		АЛАТ, ммоль/год·л	АсАТ, ммоль/год·л	лужна фосфатаза, ммоль/л
Псевдооперовані щури	3,53 ± 0,13	0,61 ± 0,02	0,58 ± 0,02	1,18 ± 0,11
Контрольна патологія – ГПН	4,96 ± 0,13*	1,22 ± 0,06*	1,32 ± 0,06*	2,15 ± 0,07*
Мелатонін, 5 мг/кг + ГПН	4,38 ± 0,07**	0,86 ± 0,05**	0,89 ± 0,07**	1,51 ± 0,14#
Тіотриазолін, 48 мг/кг + ГПН	4,21 ± 0,09**	0,74 ± 0,04**	0,78 ± 0,05**	1,43 ± 0,12#

Примітки:

- 1) ГПН – гостра печінкова недостатність, КМП – коефіцієнт маси печінки;
- 2) Статистично значущі відмінності з показниками групи псевдооперованого контролю: * – $p < 0,01$;
- 3) Статистично значущі відмінності з показниками групи контрольної патології: # – $p < 0,01$.

**ВПЛИВ МЕЛАТОНІНУ НА БАЛАНС ПОЛ-АОС ТА ПОКАЗНИКИ, ЩО ХАРАКТЕРИЗУЮТЬ
ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ ІЗ ГОСТРОЮ ІШЕМІЄЮ ПЕЧІНКИ (n = 6)**

Показник	Умови експерименту			
	Псевдо-оперовані щури	ГПН		
		контрольна патологія	мелатонін, 5 мг/кг	тіотриазолін, 48 мг/кг
Гомогенат печінки				
ТБК-реактанти, мкмоль/г	78,8 ± 0,98	208 ± 4,94*	172 ± 2,87**	162 ± 6,53**
ДК, мкмоль/г	5,93 ± 0,36	8,49 ± 0,21*	7,57 ± 0,18* #	7,00 ± 0,26 #
ВГ, умов. од.	118 ± 3,83	72,2 ± 2,80*	85,9 ± 3,06* #	94,9 ± 2,87* #
Глікоген, мкг/мл	1243 ± 48,4	722 ± 21,4*	836 ± 19,5**	1022 ± 44,3**
Сироватка крові				
ТБК-реактанти, мкмоль/л	1,17 ± 0,08	2,41 ± 0,07*	2,07 ± 0,09* #	1,88 ± 0,06**
Каталаза, мкат/л	0,37 ± 0,02	0,21 ± 0,02*	0,29 ± 0,01**	0,32 ± 0,01* #
Глюкоза, моль/л	7,79 ± 0,07	5,55 ± 0,19*	5,69 ± 0,08**	6,05 ± 0,08**
Загальний білок, г/л	72,7 ± 1,54	55,6 ± 2,29*	60,2 ± 1,81*	64,4 ± 1,59**
Церулоплазмін, г/л	0,43 ± 0,03	0,68 ± 0,02*	0,59 ± 0,02**	0,52 ± 0,01**

Примітки:

1) ГПН – гостра печінкова недостатність.

2) Статистично значущі відмінності з показниками групи псевдооперованого контролю: * – p < 0,01.

3) Статистично значущі відмінності з показниками групи контрольної патології: # – p < 0,05.

вуглеводів є також зниження концентрації глюкози у сироватці крові (табл. 3).

Мелатонін сприяє відновленню функцій печінки: в 1,1 рази зростає вміст загального білка у сироватці крові відносно групи контрольної патології (нормалізація білоксинтетичної функції), на 16 % збільшується кількість глікогену у гомогенаті печінки (нормалізація вуглеводного обміну) (табл. 3). Гепатопротектор тіотриазолін чинить більш виразний вплив на функціональні показники стану печінки.

ВИСНОВКИ

Таким чином, за умов ішемічної гострої печінкової недостатності мелатонін виявляє значну гепатопротекторну дію, позитивно впливаючи на різні ланцюги патогенетичного каскаду в ішемізованій печінці. За гепатопротекторною активністю мелатонін дещо поступається відомому гепатопротектору тіотриазоліну, особливо за нормалізацією функціональної активності печінки.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
2. КОМПЕНДИУМ 2012 – лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко. – К.: МОРИОН, 2012. – 2320 с.
3. Пат. 87952 Україна, МПК С 07 D 209/04, С 07 D 209/96, С 07 D 311/96, С 07 D 405/02, С 07 D 491/20, А 61 К 31/33, А 61 К 31/404, А 61 К 31/436, А 61 К 31/437, А 61 К 31/438. 4,3'-Спіро[[2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-с]хромен-5-он]-5-метил-2'-оксіндол], який проявляє антигіпоксантну активність / Н. А. Цубанова, В. П. Черних, Р. Г. Редькін; заявник та патентовласник НФаУ. – № 200815044. – Заявл.: 26.12.2008. Опубл.: 25.08.2009. – Бюл. № 16. – 8 с.
4. Пат. № 2456678 Российская Федерация, МПК G 09 B 23/28, А 61 К 31/4045, А 61 К 31/44, А 61 Р 1/16. Способ профилактики и лечения последствий ишемического воздействия на печень / А. А. Перьков, С. В. Лазаренко; заявитель и патентообладатель Курский государственный медицинский университет МЗ РФ. – № 2011113155/14. – Заявл.: 05.04.2011. Опубл.: 20.07.2012. – Бюл. № 20. – 7 с.
5. Butun I. The effects of different doses of melatonin on lipid peroxidation in diet-induced hypercholesterolemic rats / [I. Butun, H. Ekmekci, O. Ciftci et al.] // Bratisl. Lek. Listy. – 2013. – Vol. 114 (3). – P. 129-132.
6. Chojnacki C. Melatonin levels in serum and ascitic fluid of patients with hepatic encephalopathy / [C. Chojnacki, M. Romanowski, K. Winczyk et al.] // Gastroenterol. Res. Pract. – 2012. – Vol. 30 (6). – P. 760-764.
7. Constantin R. P. Prooxidant activity of fisetin: effects on energy metabolism in the rat liver / [R. P. Constantin, J. Constantin, C. L. Pagadigorria et al.] // J. Biochem. Mol. Toxicol. – 2011. – Vol. 25 (2). – P. 117-126.
8. Ebert E. C. Hypoxic liver injury / E. C. Ebert // Mayo Clin. Proc. – 2006. – Vol. 81 (9). – P. 1232-1236.
9. Fuhrmann V. Hypoxic hepatitis – epidemiology, pathophysiology and clinical management / [V. Fuhrmann, B. Jäger, A. Zubkova et al.] // Wien Klin. Wochenschr. – 2010. – Vol. 122 (5-6). – P. 129-139.

10. Fuhrmann V. Hypoxic hepatitis: underlying conditions and risk factors for mortality in critically ill patients / [V. Fuhrmann, N. Kneidinger, H. Herkner et al.] // Intensive Care Med. – 2009. – Vol. 35 (8). – P. 1397-1405.
11. Raurich J. M. Hypoxic hepatitis in critically ill patients: incidence, etiology and risk factors for mortality / J. M. Raurich, J. A. Llompert-Poy, M. Ferreruela // J. Anesth. – 2011. – Vol. 25 (1). – P. 50-56.
12. www.analystsoft.com/ru

УДК 615.01: 615.214:616.36**Н. А. Цубанова****ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МЕЛАТОНИНА В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У КРЫС**

Представлены материалы исследования влияния мелатонина в дозе 5 мг/кг на течение ишемической острой печеночной недостаточности у крыс. Препаратом сравнения был выбран тиотриазолин в дозе 48 мг/кг. Оценку интенсивности патологического процесса в печени проводили на высоте развития патологии. Установлено, что мелатонин проявляет гепатопротекторное действие. Мелатонин позитивно влияет на разные звенья патогенетического каскада в ишемизированной печени.

Ключевые слова: мелатонин; гепатопротекторный эффект; печеночная недостаточность

UDC 615.01: 615.214:616.36**N. A. Tsubanova****STUDY OF THE INFLUENCE OF MELATONIN IN THE ACUTE HEPATIC FAILURE IN RATS**

The article presents results of research of structural Melatonin in doses 5 mg/kg on the model of ischemic acute liver failure in rats. The Thiotriazoline was chosen as the reference drug. It was administered in a dose of 48 mg/kg. The estimation of intensity of pathological process in liver was carried out at the peak of the pathology evolutions. It has been established that Melatonin exhibits a pronounced hepatoprotective effect. Melatonin has a positive effect on the different links of the pathogenetic cascade in ischemic liver.

Key words: Melatonin; hepatoprotective effect; liver failure

Адреса для листування:
61099, м. Харків, вул. Рибалко, 23, кв. 60.
Тел. (050) 538-14-45. E-mail: tsubanova@rambler.ru
Цубанова Н. А.

Надійшла до редакції
10.03.2015 р.