УДК 615.277.3.065.099-085

І. В. Ніженковська, В. П. Нароха, С. І. Савосько

Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця

ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КОМПЛЕКСНОЇ СПОЛУКИ ГЕРМАНІЮ З НІКОТИНОВОЮ КИСЛОТОЮ ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ ДОКСОРУБІЦИНОМ

Проблема токсичного ураження печінки за останні десятиріччя набула широкого соціального значення. Мета дослідження полягала у вивченні впливу комплексної сполуки германію з нікотиновою кислотою на показники енергетичного обміну та структурно-функціональні зміни печінки при інтоксикації доксорубіцином. За показниками енергетичного обміну та морфометричних змін печінки встановили потенційний гепатопротекторний вплив сполуки германію з нікотиновою кислотою при хронічній інтоксикації доксорубіцином.

Ключові слова: токсичне ураження печінки; доксорубіцин; МІГУ-1; нікотинова кислота

ВСТУП

Одним із актуальних питань сучасної фармакології є пошук препаратів, що мають органопротекторну дію при різних патологічних станах та інтоксикаціях [6, 7]. У публікаціях останніх років значна увага зосереджена на біологічній активності комплексів хімічного елементу германію, які мають різноманітні фізіологічні властивості, у тому числі церебропротекторну, антигіпоксичну, актопротекторну активність тощо. На відміну від більшості ксенобіотиків комплексні сполуки германію нетоксичні, легко проникають крізь біологічні бар'єри [2-5]. Одним з таких засобів є комплекс германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1).

Метою дослідження було вивчення впливу нової координаційної сполуки германію з нікотиновою кислотою в порівнянні з нікотиновою кислотою на стан метаболічних та структурних змін печінки за умов експериментальної хронічної інтоксикації доксорубіцином (ХІД).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експерименти були проведені на щурах лінії Вістар масою 180-220 г згідно з Директивою Європейського Союзу 2019/10/63 EU про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей і відповідно до Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Тварини були розділені на 4 групи по 10 особин у кожній: 1) тварини, яким щотижня впродовж 5 тижнів внутрішньом'язово вводили 0,9 % NaCl (група 1); 2) тварини, яким впродовж 5 тижнів вводили внутрішньом'язово доксорубіцин (ДОК) з розрахунку 5 мг/кг/тиждень (група 2); 3) тварини, які впродовж 5 тижнів отримували внутрішньом'язово ДОК на тлі внутрішньоочеревинного введення нікотинової кислоти в дозі 10 мг/кг щоденно (група 3); 4) тварини, які впродовж 5 тижнів отримували внутрішньом'язово ДОК на тлі внутрішньоочеревинного введення комплексу МІГУ-1 в дозі 10 мг/кг щоденно (група 4).

У дослідах були використані ДОК – КМП у формі ліофілізованого порошку для приготування розчину для ін'єкцій по 0,01 г (виробник ВАТ «Київмедпрепарат», Україна), нікотинова кислота (ніацин) BP, порошок кристалічний (субстанція) (виробник Aarti Drugs Ltd, Індія) та комплекс германію з нікотиновою кислотою (лабораторний шифр МІГУ-1), вперше синтезований в лабораторії кафедри загальної хімії та полімерів Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова під керівництвом професора І. Й. Сейфулліної.

Тварин декапітували під легким ефірним наркозом для подальшого біохімічного та гістологічного дослідження печінки.

Для визначення концентрації АТФ, АДФ і АМФ використовували метод тонкошарової хроматографії на силуфолових пластинах (Silufol-UV254, Чехія) [1]. Для гістологічного дослідження фрагменти печінки щурів фіксували в 10 % нейтральному формаліні, після стандартної спиртової проводки досліджувані зразки заливали в парафін і виготовляли зрізи

© Ніженковська І. В., Нароха В. П., Савосько С. І., 2015

Таблиця 1

ВМІСТ АДЕНІЛОВИХ НУКЛЕОТИДІВ У ГЕПАТОЦИТАХ ЩУРІВ, мкмоль × г тканини$^{-1}$, (M ± m, n = 10)

	Вміст аденілових нуклеотидів, мкмоль × г тканини$^{-1}$		
	АТФ	АДФ	АМФ
Група 1	2,56 ± 0,18	0,85 ± 0,08	0,37 ± 0,03
Група 2	2,03 ± 0,17*	1,07 ± 0,09*	0,48 ± 0,04*
Група 3	2,11 ± 0,19*	0,98 ± 0,09	0,42 ± 0,04
Група 4	2,32 ± 0,19	0,91 ± 0,08	0,39 ± 0,03#

Примітки:
1) * – достовірно до групи 1 ($p < 0,05$);
2) # – достовірно до групи 2 ($p < 0,05$).

Таблиця 2

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ ДОКСОРУБІЦИНОМ (M ± m, n = 10)

	Морфометрія гепатоциту, мкм^2		Діаметр гемокапіляра, мкм
	площа гепатоциту	площа ядра	
Група 1	739,7 ± 22,6	173,2 ± 9,4	4,45 ± 0,17
Група 2	856,9 ± 22,2*	118,6 ± 2,7	8,19 ± 0,30*
Група 3	520,7 ± 20,6*#	147,0 ± 4,7*#	5,00 ± 0,19*#
Група 4	536,3 ± 22,2*#	148,8 ± 4,2*#	4,42 ± 0,21#

Примітки:
1) * – достовірно до групи 1 ($p < 0,05$);
2) # – достовірно до групи 2 ($p < 0,05$).

товщиною 6 μм. Парафінові зрізи профарбовували гематоксилін-еозином. Морфометричне дослідження проводили на мікроскопі OlympusBX 51 (Японія) за допомогою програмного забезпечення Carl Zeiss Software (AxioVision SE64 Rel.4.9.1). Статистичний аналіз проводили за допомогою програм Excel і Statistica 6.0. Всі результати представлені у вигляді M ± m, де: M – середнє значення, m – середньоквадратична похибка, p – рівень значимості ($p \leq 0,05$). Порівняння середніх величин проводили за допомогою t-тесту або Манна-Уїтні для непараметричних кількісних вибірок.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За даними біохімічних досліджень при експериментальній ХІД (група 2) встановлено порушення енергетичного обміну гепатоцитів, на що вказує достовірне зменшення концентрації АТФ на 20,7 % ($p < 0,05$) і водночас збільшення вмісту низькоергічних аденілових нуклеотидів: АДФ на 25,9 % і АМФ на 29,7 % (табл. 1).

Показники балансу системи АТФ-АДФ-АМФ при введенні комплексу МІГУ-1 (група 4) засвідчили активацію процесів окисного фосфорилювання, спосте-

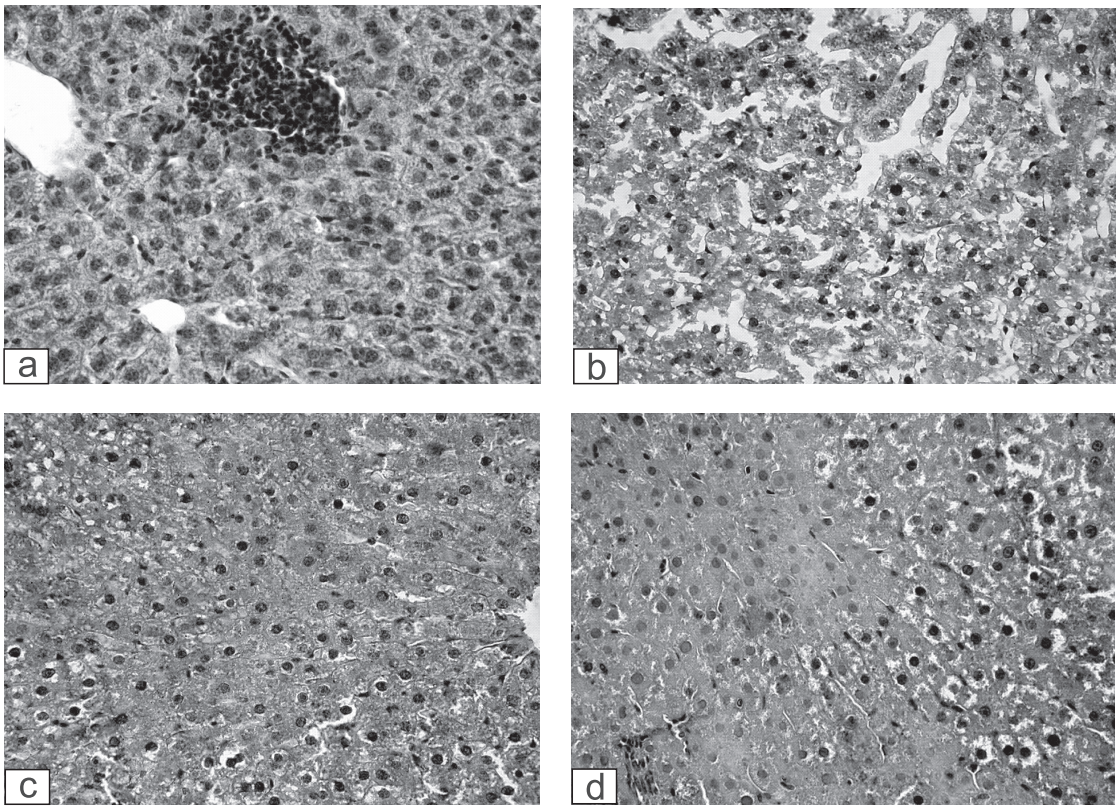

Рис. *Гістоструктура печінки щурів при ХІД. Дистрофічні зміни печінки на тлі ХІД, зменшення набряку тканини печінки при застосуванні нікотинової кислоти і сполук германію.*

Примітки: a – група 1; b – група 2; c – група 3; d – група 4. Гематоксилін-еозин. Об. 40, ок. 10.

рігалось достовірне зменшення рівня АМФ у порівнянні з групою тварин з ХІД та перерозподіл макроергів із пулу АМФ в бік АТФ. Слід відзначити, що в присутності нікотинової кислоти (група 3) вміст досліджуваних продуктів енергетичного обміну достовірно не відрізнявся від групи тварин з ХІД, спостерігалась тенденція до відновлення співвідношення аденілових нуклеотидів на рівні АМФ та АДФ, але вміст АТФ все ще був достовірно нижчим у порівнянні з тваринами контрольної групи.

Гістологічне та морфометричне дослідження печінки щурів із ХІД (група 2) засвідчило розвиток різко виражених дистрофічних змін органу, що проявлялось деструкцією печінкових часточок, набряком цитоплазми гепатоцитів, вакуолізації клітин, пікнозом їх ядер. Стазу формених елементів крові в гемокапілярах не виявлено, натомість встановлено різке збільшення просвіту синусоїдних мікросудин (табл. 2) із порушенням їх структурної цілісності, що ймовірно стало причиною розвитку гідропічної дистрофії (рис. b). Цитологічними маркерами структурних змін при інтоксикації ДОК були збільшення середньої площі ушкоджених гепатоцитів, вакуолізація і некроз клітин, каріопікноз. Реєстрували моноцелюлярні і фокальні некрози, що дифузно охоплювали всю печінкову часточку.

У дослідній групі із застосуванням комплексного засобу МІГУ-1 (група 4) також встановлено часткове збереження структурної організації печінкових часточок із системою радіальних балок гепатоцитів і синусоїдних мікросудин, що підтверджено морфометричним дослідженням (рис. d, табл. 2). У групі щурів, яким вводили нікотинову кислоту на тлі ХІД (група 3), встановлено зменшення рівня гідропічної дистрофії, збільшення щільності неушкоджених гепатоцитів (рис. c). Синусоїдні гемокапіляри розширені без ознак еритроцитарного стазу та лейкоцитарних інфільтратів, їх просвіт зменшився порівняно до групи 2. Про цитопротекторну дію нікотинової кислоти також свідчить зменшення рівня набряку гепатоцитів і збільшення площі неушкоджених ядер з ядерцями.

Отримані дані свідчать про цитопротекторну дію комплексу МІГУ-1 за умов моделювання ХІД, а за рівнем змін морфометричних показників системи мікроциркуляції вищу ефективність щодо нікотинової кислоти.

ВИСНОВКИ

Біохімічні та морфологічні дані структурно-функціональних змін печінки у щурів на тлі ХІД після введення комплексу МІГУ-1 свідчать про нормалізацію енергетичного обміну та цитопротекторний вплив досліджуваного комплексу. Гепатопротекторна дія нового комплексу МІГУ-1 була статистично значимо більшою порівняно із впливом нікотинової кислоти при ХІД, що свідчить про доцільність подальшого вивчення впливу нової комплексної сполуки германію з нікотиновою кислотою.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Зарубина И. В. Разделение и прямое количественное определение аденинуклеотидов на силуфоле / И. В. Зарубина, Б. И. Криворучко // Укр. биохим. журн. – 1982. – Т. 54, вып. 4. – С. 437-439.
2. Кресюн В. Й. Перспективи створення нових лікарських препаратів на основі комплексних сполук германію / В. Й. Кресюн, І. Й. Сейфулліна, В. В. Годован // Одеський мед. журн. – 2011. – № 1 (123). – С. 31-35.
3. Немятих О. Д. Вплив координаційних сполук германію з нікотиновою кислотою та нікотинамідом на біохемілюмінісценцію в модельних дослідах / О. Д. Немятих // Вісник фармації. – 2003. – № 3. – С. 14-17.
4. Ніженковська І. В. Вплив нікотинової кислоти та комплексу германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) на жирнокислотний склад ліпідів кардіоміоцитів і гепатоцитів щурів з експериментальною хронічною серцевою недостатністю / [І. В. Ніженковська, В. П. Нароха, І. В. Кузнецова та ін.] // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2015. – № 1 (42). – С. 68-75.
5. Ніженковський О. І. Фармакодинаміка та фармакокінетика потенційного церебропротектора «Вітагерм-2» на моделі закритої черепно-мозкової травми: автореф. дис. … канд. мед. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія». – К., 2014. – 24 с.
6. Angelis A. De. SIRT1 activation rescues doxorubicin-induced loss of functional competence of human cardiac progenitor cells / [A. De Angelis, E. Piegari, D. Cappetta et al.] // Int. J. Cardiol. – 2015. – Vol. 189. – P. 30-44.
7. Godoy P. Recent advances in 2D and 3D in vitro systems using primary hepatocytes, alternative hepatocyte sources and non-parenchymal liver cells and their use in investigating mechanisms of hepatotoxicity, cell signaling and ADME / [P. Godoy, N. J. Hewitt, U. Albrecht et. al.] // Arch. Toxicol. – 2013. – Vol. 87 (8). – P. 1315-1530.

УДК 615.277.3.065.099-085

И. В. Ниженковская, В. П. Нароха, С. И. Савосько

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ КОМПЛЕКСНОГО СОЕДИНЕНИЯ ГЕРМАНИЯ С НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТОЙ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ДОКСОРУБИЦИНОМ

Проблема токсического поражения печени за последние десятилетия получила широкое социальное значение. Цель исследования заключалась в изучении влияния комплексного соединения германия с никотиновой кислотой на показатели энергетического обмена и структурно-функциональные изменения печени при интоксикации доксорубицином. По показателям энергетического обмена и морфометрических изменений в печени установили гепатопротекторное влияние соединения германия с никотиновой кислотой при хронической интоксикации доксорубицином.

Ключевые слова: токсическое поражение печени; доксорубицин; МИГУ-1; никотиновая кислота

UDC 615.277.3.065.099-085

I. Nizhenkovska, V. Narokha, S. Savosko

THE STUDY OF HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES OF THE COMPLEX OF GERMANIUM WITH NICOTINIC ACID IN DOXORUBICIN INTOXICATION

The issue of the toxic hepatic injury has acquired a broad social value over the past decades. The purpose of the research was to study the effect of the complex of germanium with nicotinic acid on parameters of energy metabolism and the structural and functional hepatic changes in doxorubicin intoxication. Based on the parameters of energy metabolism and morphometric hepatic changes, the potential hepatoprotective effect of the compound of germanium with nicotinic acid in chronic doxorubicin intoxication has been established.

Key words: liver toxicity; doxorubicin; MIGU-1; nicotinic acid

Адреса для листування:
03057, м. Київ, вул. Довженко, 16А, кв. 33.
E-mail: v.narokha@ukr.net.
Національний медичний університет
ім. О. О. Богомольця

Надійшла до редакції 19.08.2015 р.