МИРЗААХМЕДОВА К.Т., ВЫПОВА Н.Л., АБРЕКОВА Н.Н.

ГЕПАТОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА «ФИТИН-С» ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ

Ташкентский педиатрический медицинский институт;
Институт биоорганической химии АН РУз

Цель исследования. Изучение фармакологической коррекции универсальных, мультифакторных звеньев патогенеза печени препаратом «Фитин-С».

Материал и методы. Лекарственное поражение печени воспроизводили введением парацетамола в желудок в дозе 500 мг/кг в течение 2 дней. «Фитин-С» и препарат сравнения Эссенциале вводили в/м в течение 10 дней после воспроизведения гепатита в следующих дозах: Эссенциале-80 мг/кг, «Фитин-С» в дозах 10, 20 и 50 мг/кг в виде 1-5% раствора. По окончании эксперимента животных усыпляли эфиром и проводили забор материала для регистрации биохимических и патоморфологических показателей.

Результаты. Исследование специфической активности препарата «Фитин-С» на моделях парацетамолового гепатита показало, что препарат при внутримышечном введении в дозах 10, 20 и 50 мг/кг оказывает выраженное гепатопротекторное действие. «Фитин-С» активирует ферменты, восстанавливает метаболизм, дезинтоксикационную и белковообразовательную функции, повышает синтез протромбина, обладает антиоксидантной активностью.

Лекарственные поражения печени являются одной из серьёзных проблем гепатологии. На долю медикаментозных поражений печени приходится до 9,5% всех регистрируемых побочных реакций, и в 15% случаев они заканчиваются летальным исходом [1].

Повреждения печени вызывают серьёзные нарушения метаболизма, иммунного ответа, детоксикации, которые реализуются через химические и иммунологические механизмы. В соответствии с современными принципами лечения хронических заболеваний печени, программа комплексной терапии включает два основных направления. Первое — этиотропное лечение, направленное на элиминацию возбудителя и санацию организма. Второе — патогенетическое, осуществляющее фармакологическую коррекцию универсальных, мультифакторных звеньев патогенеза [2].

Универсализм звеньев патогенеза поражений печени позволяет использовать патогенетическую терапию, основу которой составляют лекарственные препараты с направленным действием на печеночные клетки. Патогенетическим подходом является использование препаратов, способных не только восстанавливать митохондриальную мембрану, липидный биослой мембраны клетки, окислительное фосфолирирование, но и модифицировать клеточный обмен [3]. Это возможно за счет применения гепатопротекторов, обладающих антигипоксическим/антиоксидантным эффектом, поскольку печень является основным местом метаболизма и мишенью токсического действия с первичным нарушением функции мембран [4].

Цель работы — изучение фармакологической коррекции универсальных, мультифакторных звеньев патогенеза печени препаратом «Фитин-С».

Материал и методы

Водный раствор «Фитин-С» (фитин в смеси с аскорбиновой кислотой) разработан на кафедре технологии приготовления лекарственных средств Ташкентского фармацевтического института. Исследования проводили на белых беспородных крысах обоего пола массой тела 140-200 г. Лекарственное поражение печени воспроизводили введением парацетамола в желудок в дозе 500 мг/кг в течение 2 дней [2]. «Фитин-С» и препарат сравнения Эссенциале вводили в/м в течение 10 дней после воспроизведения гепатита в следующих дозах: Эссенциале-80 мг/кг, «Фитин-С» в дозах 10, 20 и 50 мг/кг в виде 1-5% раствора.

По окончании эксперимента животных усыпляли эфиром и проводили забор материала для регистрации биохимических и патоморфологических показателей.

Уровень аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови определяли кинетическим методом, содержание общего белка, глюкозы, мочевины общего и прямого билирубина в сыворотке крови определяли ферментативным методом на биохимическом автоматическом анализаторе «BS-380» фирмы MINDRAY (Китай) с помощью тест-систем фирмы Human (Германия). Концентрацию данных показателей регистрировали по калибровочной кривой при 6-точечной калибровке с использованием набора стабильных калибраторов различных концентраций. Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью статистических программ WindowsXP (Excel).

Результаты и обсуждение

Механизм патогенного действия парацетамола связан с преобразованием зависимой от цитохрома Р-450 монооксигеназной системой в свободные радикалы и электрофильные интермедиаторы, ковалентно связывающие биомакромолекулы центролобулярных гепатоцитов.

Влияния «Фитина-С» на парацетамоловый гепатит приведены в таблице №1. Установлено, что

введение парацетамола в дозе 500 мг/кг в течение 2 дней у контрольных животных приводит к повреждению мембран гепатоцитов, нарушению функционирования и сопровождается повышением активности маркерных ферментов аланин и аспартатаминотрансфераз (цитолитический эффект) на 25-56% и маркеров холестаза — щелочной фосфатазы на 32%.

Поражение печени носит смешанный гепатоцеллюлярный/ холестатический характер, что подтверждается коэффициентом (R) ЩФ/АлАТ, равным 1,4.

Парацетамол наиболее глубоко повреждает антитоксическую функцию печени. Как видно из приведенных в таблице 1 данных продолжительность наркоза крыс при внутрибрюшинном введении гексенала в контрольной группе животных увеличилась с 49±4,1 минут до 184±15,4 минут или в 3,8 раза. Проба с бромсульфалеином (БСФ), свидетельствующая о состоянии экскреторной и антитоксической функции печени в контроле увеличилась с 2,2±0,21 до 7,0±0,47. Содержание общего, прямого и непрямого билирубина увеличилось соответственно в 1,6 , 1,2 и 1,7 раза, а коэффициент глюкуронирования билирубина сократился с 0,119 до 0,083 или в 1,44 раза, что говорит о снижении способности ферментов гепатоцитов катализировать реакции конъюгации.

О влиянии парацетамола на белок синтезирующую функцию печени судили по содержанию общего белка, а участие печени в синтезе прокоагулянтов — по протромбиновому времени в плазме контрольных животных. Как видно из приведенных в таблице 1 данных содержание белка сократилось с 95,1±3,9 до 63,6±4,6 г/л или на 33%, протромбиновое время увеличилось в 1,7раза с 19,0±1,5 до 32,6±2,5 секунд, что говорит о низком содержании прокоагулянтов (VII IX X) в плазме крови контрольных крыс.

Лечение отравленных парацетамолом животных препаратом «Фитин-С» в дозах 10, 20 и 50 мг/кг и препаратом сравнения Эссенциале в дозе 80 мг/кг при внутримышечном введении в течение 10 дней снижало уровень трансаминаз соответственно: АЛТ — в 2,1; 1,9; 1,8 и 2,3 раза по сравнению с контролем. Соотношение показателей АСТ и АЛТ — коэффициент де Ритиса (АсАТ/АлАТ), под влиянием препарата «Фитин-С» в дозах 10, 20 и 50 мг/кг увеличился с 1,4 (контроль) соответственно, до 2,45; 2,4 и 2,2, а Эссенциале до 2,47, что свидетельствует о снижении остроты поражения печени. В интактной группе он составлял 2,9.

Средние уровни щелочной фосфатазы у животных, леченных препаратами «Фитин-С» в дозах 10, 20, 50 мг/кг и Эссенциале — 80 мг/кг были на 14-25% ниже, чем в контрольной группе животных и незначительно выше, чем у интактных животных (52±3,7 54±3,1, 58±4,0 и 51±3,2 U/L при норме 47±2,8).

Идет восстановление антитоксической функции печени. Как видно из приведенных в таблице 1 данных у всех опытных крыс в 2 раза по отношению к контролю, сократилось время гексеналового сна, что говорит о частичном восстановлении метобалической функции печени. В то же время, этот показатель превосходил время гексеналового сна у интактных животных в 2 раза. Бромсульфалеиновая проба по отношению к контрольной группе животных (7,2±0,51) снизилась под влиянием «Фитина-С» в 1,7 раза до 4,2±0,32, а Эссенциале — в 1,89 раза или до 3,9±0,26.

О влиянии препарата «Фитин-С», на белок синтезирующую функцию печени судили по содержанию общего белка, а участие печени в синтезе прокоагулянтов по протромбиновому времени в плазме

Таблица 1

Влияние препарата «Фитин-С» и препарата сравнения Эссенциале на показатели, характеризующие поражение гепатоцитов при интоксикации парацетамолом

Биохимические показатели	Интакт	Контроль	Эссенциале-80	«Фитин-С», доза мг/кг		
				10	20	50
Гексеналовый сон, мин.	49±2,1	184±16,4	95±7,9	90±8,2	90±8,2	90±8,2
Бромсульфалеиновая проба	2,2±0,21	7,2±0,51	3,9±0,26	4,2±0,32	4,2±0,32	4,2±0,32
Общий билирубин, ммоль/л	11,0±1,0	18,0±1,4	13,5±1,1	14,1±1,2	14,1±1,2	15,0±1,2
Прямой билирубин, ммоль/л	1,3±0,11	1,5±0,13	1,6±0,14	2,2±0,16	2,2±0,16	1,9±0,14
Коэфф. Глюкурониро вания билирубина (прямого/общего)	0,119	0,083	0,122	0,156	0,156	0,126
Непрямой билирубин, ммоль/л	9,7±0,85	16,5±1,20	11,9±0,7	11,9±1,1	11,9±1,1	13,1±1,1
Относительная масса печени,	27±2,3	33,6±2,8	27,0±2,2	25,0±1,8	22,0±1,8	27,0±1,8
АЛТ, U/L	32,0±3,1	84,3±3,9	36,3±2,8	40,0±2,1	45,0±2,1	48,0±2,1
АСТ,U/L	93,0±2,1	119±10,2	89,5±6,3	98±6,4	108±6,4	106±6,4
Коэфф. де Ритиса АСТ/АЛТ	2,9	1,4	2,47	2,45	2,4	2,2
Щелочная фосфатаза, U/L	47±2,8	67±4,6	51±3,5	52±3,7	54±3,7	58±4,0
ЩФ/ АЛТ	1,47	0,8	1,4	1,2	1,2	1,2
Содержание общего белка, г/л	95,5±3,9	63,6±4,6	109,0±2,6	84,1±2,6	77,2±2,6	75,0±2,6
Содержание глюкозы, ммоль/л	4,1±0,22	6,27±0,44	6,5±0,36	4,05±0,32	4,05±0,32	4,05±0,32
Протромбиновое время, сек	19,0±1,5	72,5±4,5	22,0±1,7	18,1,0±1,8	19,7±1,8	16,5±1,8

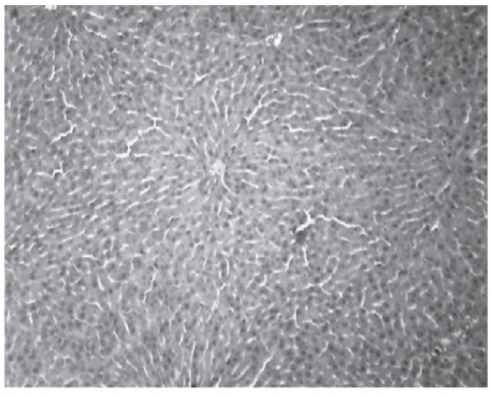

Рис. 1. Интанкт. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение х100

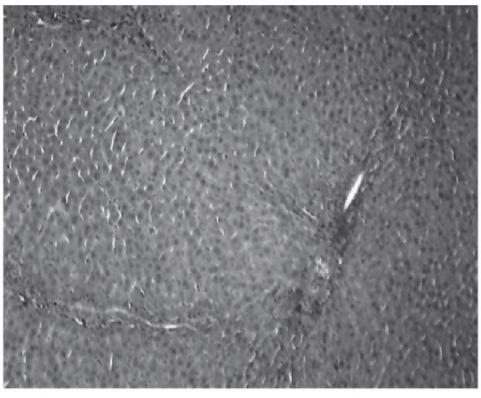

Рис. 2. Контроль парацетамол. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение х100

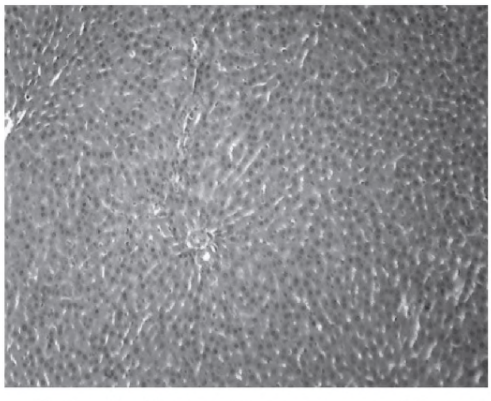

Рис. 3. Эссенциале; доза 80 мг/кг: Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение х100

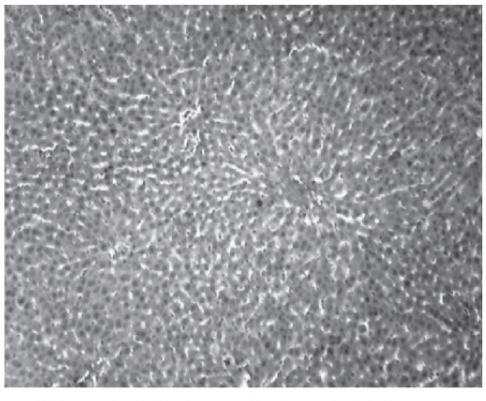

Рис. 4. «Фитин-С»; доза 10 мг/кг: Окраска: гемаоксилин-эозин. Увеличение х100

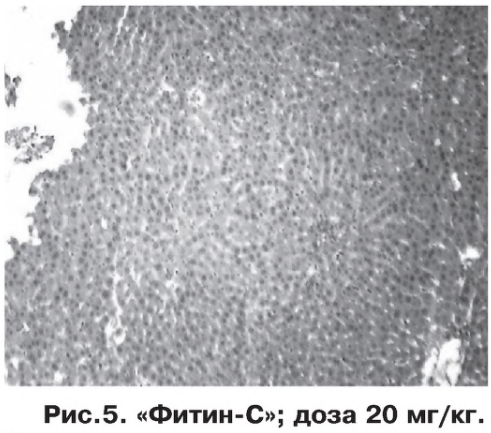

Рис.5. «Фитин-С»; доза 20 мг/кг. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение х100

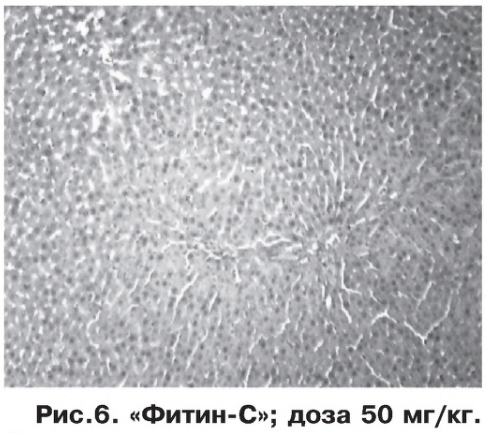

Рис.6. «Фитин-С»; доза 50 мг/кг. Окраска: гематоксилин-эозин. Увеличение х100

Таблица 2

Влияние препарата «Фитин-С» и препарата сравнения Эссенциале на гистологические показатели парацетамолового гепатита

Экспериментальные Группы, дозы мг/кг	Выраженность патоморфологических изменений в баллах		
	Жировая дистрофия	Склеротическая дистрофия	Воспалительные изменения
Интактные животные	0	0	0
Нелеченные животные	II-III	I	I
Леченные Эссенциале -80	I	I	I
Леченные «Фитин-С» - 10	I	I	0
Леченные «Фитин-С» - 20	I	I	0
Леченные «Фитин-С» - 50	I	I	I

контрольных животных. Как видно из приведенных в таблице 1 данных содержание белка по сравнению с контрольной группой животных увеличилось при введении Эссенциале до 100,0±2,6 г/дл, препарата «Фитин-С» соответственно до 84,0±2,6, 77,2±2,6 и 75,0±2,6 г/л.

Протромбиновое время сократилось, при введении Эссенциале с 72,5±4,5 сек (контроль) до 22,0±1,7, а при введении препарата «Фитин-С» соответственно до 18,1,0±1,8, 19,7±1,8 и 16,5±1,8 сек., что говорит о полном восстановлении синтеза прокоагулянтов в печени экспериментальных животных, при норме 19,0±1,5 сек.

Полученные результаты, приведенные в таблице 1 свидетельствуют о том, что «Фитин-С» оказывают гепатопротекторное действие на общее состояние экспериментальных животных с парацетамоловым гепатитом. Наиболее выраженное действие прослеживается в дозе 10 и 20 мг/кг. По эффективности «Фитин-С» приближался к гепатопротекторному действию препарата сравнения Эссенциале.

Данные биохимических анализов подтверждаются патоморфологическими исследованиями печени, представленными в таблице 2 и рисунках 1-6. Из этих данных следует, что введение Эссенциале уменьшает выраженность жировой дистрофии, а при введении и препарата «Фитин-С» в дозах 10 и 20 мг/кг жировая дистрофия, склеротические и воспалительные проявления нивелируются.

Выводы

Таким образом, исследование специфической активности препарата «Фитин-С» на моделях парацетамолового гепатита показало, что препарат при внутримышечном введении в дозах 10, 20 и 50 мг/кг оказывает выраженное гепатопротекторное действие. «Фитин-С» активирует ферменты, восстанавливает метаболизм, дезинтоксикационную и белковообразовательную функции, повышает синтез протромбина, обладает антиоксидантной активностью. Наиболее эффективными оказались дозы 10 и 20 мг/кг при 10 кратном внутримышечном введении. По эффективности препарат приближался к действию Эссенциале.

ЛИТЕРАТУРА

1. Астахова А.В., Лепахин В.К. Неблагоприятные побочные реакции и контроль безопасности лекарств. М: 2004.

2. Миронова А.Н. Методические рекомендации по изучению гепатопротективной активности лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Москва. 2012; 944.

3. Набиев А.Н., Туляганов Р.Т., Вахабов А.А. Методические рекомендации по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ с желчегонной и гепатопротекторной активностью. МЗ РУз Ташкент. 2007; 27.

4. Мышкин В.А., Еникеев Д.А., Химические поражения организма (молекулярно-клеточные механизмы, патогенез, клиника, лечение) Учебное руководство. Уфа. 2000.

Мирзаахмедова К.Т., Выпова Н.Л., Абрекова Н.Н.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ГЕПАТИТДА «ФИТИН-С» ПРЕПАРАТИНИНГ ГЕПАТОТРОП ТАЪСИРИ

Калит сўзлар: жигар, токсик гепатит, гепатопротекторлар, парацетамол, метаболизм.

Турли сабаблар натижасида юзага келувчи сариқликнинг профилактикаси ва давоси замонавий тиббиётнинг асосий муаммоларидан ҳисобланади. Ушбу мақолада эксперимантал парацетамол моделидаги гепатитда «Фитин-С» моддасини фармакологик текшириш натижалари келтирилди. Олинган натижаларга кўра, препарат 10, 20, 50 мг/кг тана вазнига ҳисоблаб мушак орасига юборилганда гепатопротектор таъсир кўрсатди.

Mirzaahmedova K.T., Vipova N.L., Abrekova N.N.

HEPATOPROTECTIVE ACTION OF DRUG FITIN-C AT EXPERIMENTAL HEPATITIS

Key words: liver, toxic hepatitis, hepatoprotectors, paracetamol, metabolism

Prevention and treatment jaundice of various genesis remains an urgent problem of modern medicine, despite introduction the great number of hypobilirubinomic means. The data of pharmacological researchers on influence of drug Fitin-C on hepatitis paracetamols' models were presented. The taken data showed, that the drug at intramuscular introduction in doses 10, 20 and 50 mg/kg made expressed hepatoprotective influence (action).