

УДК 615.244:615.322:616.36:616.36-002.2

О. В. ГЕРУШ¹, Л. В. ЯКОВЛЄВА², Ю. Б. ЛАР'ЯНОВСЬКА², Т. С. САХАРОВА²¹Буковинський державний медичний університет²Національний фармацевтичний університет

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ГРАНУЛ «ГЕПАТРОПІН» ЯК ПОТЕНЦІЙНОГО ГЕПАТОТРОПНОГО ЗАСОБУ

За наведеними у роботі результатами встановлено, що в умовах гострого тетрахлорометанового гепатиту новий препарат гранули «Гепатропін» чинить в 1,7 рази вираженішу гепатопротекторну дію, ніж класичний гепатопротектор «Силібор 35». Протективна дія оригінальної фітокомпозиції віддзеркалюється пригніченням набряку (за значенням МКП), зменшенням активності маркерних ферментів цитолізу (АЛТ і АсАТ) та холестазу (ЛФ), морфологічно – зменшенням зон деструкції та жирової дистрофії гепатоцитів. Отримані дані засвідчують наявність у механізмі гепатозахисної дії гранул «Гепатропін» протинабрякових, протизапальних, антицитолітичних та мембраностабілізуючих властивостей, які обумовлюються складом біологічно активних речовин вихідної рослинної сировини. У роботі експериментально обґрунтована доцільність подальшого фармакологічного вивчення гранул «Гепатропін» як потенційного гепатотропного засобу з гепатопротекторними властивостями.

Ключові слова: гранули «Гепатропін»; тетрахлорометановий гепатит; гепатопротекторна дія

ВСТУП

За даними вітчизняних та зарубіжних учених-медиків поширеність захворювань печінки і смертність від них у багатьох розвинених країнах продовжує зростати, що багато в чому обумовлено епідемією ожиріння та алкоголізму. Наприклад, у Великобританії госпіталізація з приводу хронічного захворювання печінки протягом останнього десятиріччя збільшилася приблизно на 8,3 %. Вартість кожної госпіталізації та лікування одного пацієнта з декомпенсованим захворюванням печінки оцінюється близько 5 тис. доларів. Враховуючи те, що більшість пацієнтів з хронічним захворюванням печінки є молодшими 60 років, збільшення їх чисельності створює істотну соціально-економічну проблему для суспільства в цілому та спонукає до пошуку нових більш ефективних методів і засобів лікування [2, 3, 4, 5, 6, 7].

Серед лікарських засобів, які використовуються для лікування захворювань печінки, окреме місце посідає група гепатотропних засобів з гепатопротекторними властивостями. Ці препарати зумовлюють вибірковий вплив на печінку, спрямований на відновлення метаболізму печінкових клітин, підвищення стійкості до пошкоджувальних впливів екзогенних або ендогенних чинників, стимуляцію репа-

ративних і регенераційних процесів в органі [6, 8, 10, 11]. Проте, існуючий на сьогодні в Україні асортимент лікарських препаратів з гепатопротекторною дією, зокрема рослинного походження, не вдовольняє потреб сучасної гепатології, що спонукає до пошуку нових високоефективних та безпечних гепатотропних засобів з гепатопротекторними властивостями на основі рослинної сировини. Зважаючи на вищевикладене вченим НФаУ доцентом кафедри заводської технології ліків С. В. Спіридоновим, був створений новий препарат – гранули «Гепатропін», до складу якого були введені нативні порошки квіток нагідків, коріння солодки, коріння і кореневища валеріани, квіток ромашки, насіння гіркокаштану, листя кропиви, плоди шипшини, висівки пшеничні. Склад препарату був обраний згідно з результатами літературного пошуку про гепатопротекторні властивості рослинної сировини з різних видів рослин.

Мета роботи – експериментально обґрунтувати доцільність використання нового препарату гранул «Гепатропін» як гепатотропного засобу з гепатопротекторними властивостями в умовах гострого експериментального токсичного гепатиту.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для досягнення мети роботи було обрано модель гострого тетрахлорометанового гепатиту у щурів, при відтворенні якого реалізується потужний мембрано-

© Геруш О. В., Яковлєва Л. В., Лар'яновська Ю. Б.,
Сахарова Т. С., 2015

Таблиця

ВПЛИВ ГРАНУЛ «ГЕПАТРОПІН» ТА ПРЕПАРАТУ ПОРІВНЯННЯ «СИЛІБОР 35» НА МАСОВИЙ КОЕФІЦІЄНТ ПЕЧІНКИ (МКП) ТА ЕНЗИМОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ В УМОВАХ ГОСТРОГО ТЕТРАХЛОРОМЕТАНОВОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ, n = 8

Показник	Умови досліджу			
	Негативний контроль	гострий тетрахлорометановий гепатит		
		позитивний контроль	гранули «Гепатропін», 900 мг/кг	таблетки «Силібор 35», 35 мг/кг
МКП, %	3,33 (2,63 ÷ 3,61)	4,47* (4 ÷ 5,12)	3,11** (4 ÷ 2,56)	3,30** (2,62 ÷ 3,9)
ЛФ, мкмоль/с л	1,05 ± 0,07	2,90 ± 0,32*	1,20 ± 0,14**	1,99 ± 0,138*/**/***
АлАТ ммоль/год л	0,56 ± 0,03	1,27 ± 0,07*	0,60 ± 0,03**	0,56 ± 0,03**
АсАТ, ммоль/год л	0,23 ± 0,01	0,50 ± 0,05*	0,25 ± 0,01**	0,27 ± 0,006**

Примітки:

- 1) * – відхилення показника вірогідне стосовно групи негативного контролю, $p \leq 0,05$;
- 2) ** – відхилення показника вірогідне стосовно групи позитивного контролю, $p \leq 0,05$;
- 3) *** – відхилення показника вірогідне стосовно гранул «Гепатропін», $p \leq 0,05$;
- 4) n – кількість тварин у групі.

токсичний потенціал CCl_4 , що призводить до розвитку цитолізу, набряку, запалення та порушення функцій печінки [2, 6, 8]. Як препарат порівняння обрано лікарський засіб рослинного походження силімариновмісний гепатопротектор «Силібор 35» (таблетки, 35 мг) виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», який є аналогом за дією.

В експерименті на моделі гострого тетрахлорометанового гепатиту використали 32 білих статевозрілих безпородних щурів самців масою 180-220 г, яких було розподілено на 4 групи по 8 особин у кожній: 1 – негативний контроль (НК) (інтактні тварини); 2 – позитивний контроль (ПК) (контрольна патологія – нелікований гепатит); 3 – щури, яким на тлі експериментального гепатиту вводили гранули «Гепатропін» у дозі 900 мг/кг; 4 – щури, яким на тлі експериментального гепатиту вводили таблетки «Силібор 35» в дозі 35 мг/кг. Гострий тетрахлорометановий гепатит у щурів викликали шляхом внутрішньошлункового введення 1 раз на добу 50 % олійного розчину тетрахлорометану в дозі 0,4 мл/100 г маси тіла впродовж 4-х днів через 1-у годину після введення препаратів. Тваринам 3-ї та 4-ї груп внутрішньошлунково вводили новий і референтний препарати у вигляді суспензії, відповідно, у вищезазначених дозах 1 раз на добу впродовж одного місяця до та на тлі введення гепатотоксину. Евтаназію тварин здійснювали на 5 добу експерименту декапітацією під наркозом. В день виведення з експерименту після визначення маси тіла тварин наркотизували, декапітували, збирали кров та брали частку печінки для морфологічних досліджень. Для оцінки функціонального стану мембран гепатоцитів та ступеня запальної реакції визначали в сироватці крові активність ферментів аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ) та лужної фосфатази (ЛФ) і розраховували масовий коефіцієнт печінки (МКП)

[1]. Результати оброблені статистично згідно з сучасними вимогами [1] та надані в таблиці. Для світлооптичного дослідження зразки готували за загальноприйнятими методиками. Зрізи фарбували гематоксином та еозином [1].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані дані засвідчують, що інтоксикація дослідних тварин тетрахлорометаном призводить до розвитку набряку, цитолізу, запалення, стеатозу та некрозу гепатоцитів, а отже і до порушення функціонального стану печінки щурів (таблиця, рис.). Це віддзеркалилось достовірним зростанням коефіцієнту маси печінки в 1,3 рази відносно групи негативного контролю, зростанням активності маркерних ферментів: цитолізу – АлАТ і АсАТ у 2,3 і 2,2 рази відповідно та ЛФ у 2,8 рази (таблиця). Порівняльний аналіз представленої на рис. гістоархітекtonіки тканини печінки інтактного щура (1) та щура групи позитивного контролю (2, 3) дозволив встановити, що тетрахлорометан при внутрішньошлунковому введенні протягом 4 діб спричиняє великогніздові ушкодження центроlobулярних та перипортальних зон ацинусів, дистрофічні зміни, некроз та стеатоз гепатоцитів, циркуляторні розлади, жирову дистрофію, яка у більшості щурів поєднувалася з білковою дистрофією; утворення жирових кіст. Серед некротизованих гепатоцитів виявлялись активовані зоряні ретикулоендотеліоцити (клітини Купфера) і нейтрофільні лейкоцити та лімфоцити, що свідчить про запальну клітинну реакцію. На циркуляторні розлади під впливом тетрахлорометану вказують діапедезні крововиливи, розширені та повнокровні синусоїдальні капіляри (рис.).

Лікування щурів препаратами «Гепатропін» у дозі 900 мг/кг та «Силібор 35» у дозі 35 мг/кг сприяло нормалізації досліджуваних показників (таблиця) та

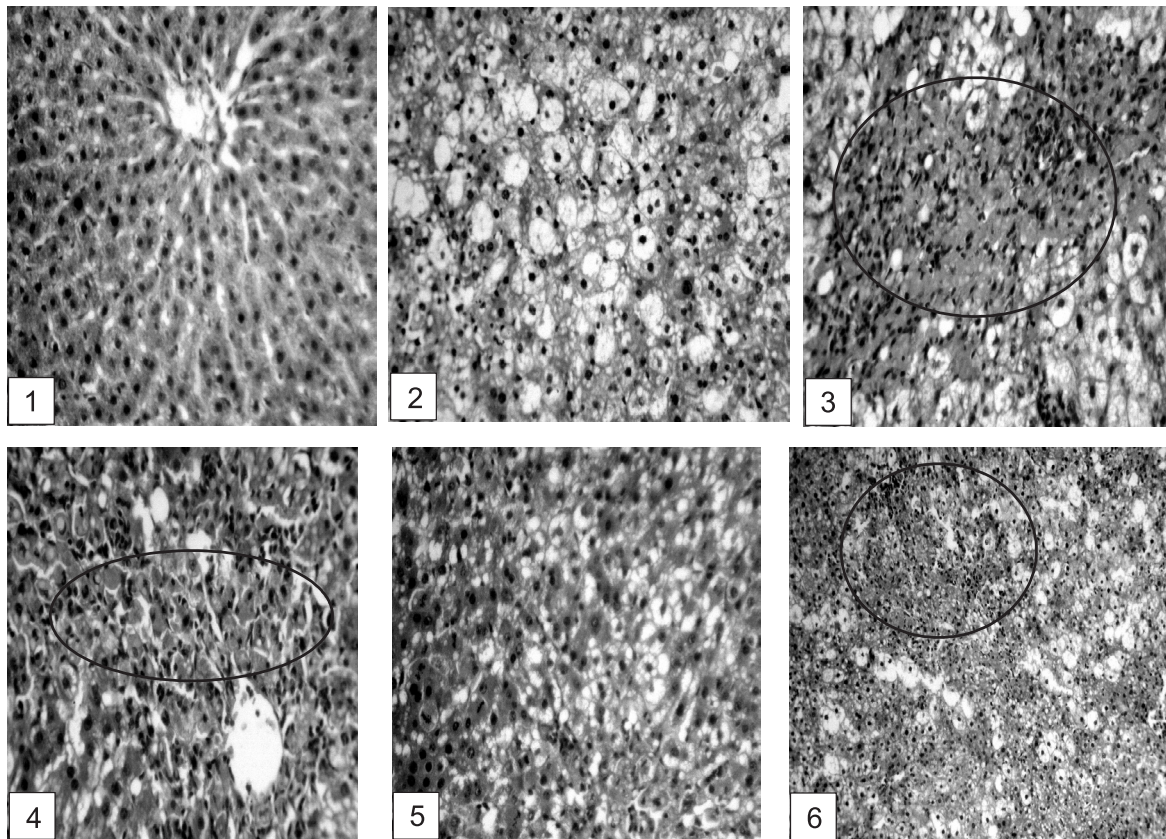


Рис. Печінка щурів групи: **Інтактного контролю:** нормальний стан печінкової паренхіми (1). Гематоксилін-еозин. $\times 200$. **Контрольної патології:** макровезикулярний стеатоз (2), некроз гепатоцитів (3), порушення гістоархітекτονіки паренхіми. Гематоксилін-еозин. $\times 200$. **«Гепатропін» на тлі тетрахлорометану:** зменшення зон деструкції (4); зниження виразності жирової дистрофії (5). Гематоксилін-еозин. $\times 200$. **«Силібор 35» на тлі тетрахлорометану:** зниження розміру зони ушкодження, жирова дистрофія доволі виразна (6). Гематоксилін-еозин. $\times 150$.

усуненню патологічних змін у морфоструктурі печінки (рис.). Так, мало місце достовірне відносно групи позитивного контролю зменшення активності маркерних ферментів цитолізу АлАТ і АсАТ приблизно в 2 рази у обох групах лікованих тварин (таблиця). Відзначалось достовірне відносно групи позитивного контролю відновлення до інтактного значення маси печінки, що відбулося також зменшенням КМП у 1,45 рази на тлі оригінальної фітокомпозиції «Гепатропін» та в 1,35 рази – на тлі препарату порівняння «Силібор 35» (таблиця). Рушійною силою наведених змін можуть служити протинабрякові властивості рослинних компонентів вивчених фітопрепаратів. Даний факт підтверджується достовірним відносно групи позитивного контролю зниженням активності лужної фосфатази під дією фітопрепаратів в 2,4 та 1,5 рази (таблиця). За вираженістю пригнічувального впливу на розвиток запальної реакції гранули «Гепатропін» достовірно переважають препарат «Силібор 35» в 1,7 рази (таблиця).

Підтвердженням більш вираженої, ніж у препарату порівняння лікувальної ефективності гранул «Гепатропін» на моделі експериментального токсич-

ного гепатиту є результати морфологічних досліджень тканини печінки щурів (рис., 4-6). Так, на мікрофотографії тканини печінки щура, якому вводили «Силібор 35», водночас із ознаками відновлення гепатоцитів спостерігали виразну жирову дистрофію та жирові мікрокисти (рис., 6). Під впливом оригінального фітопрепарату гранул «Гепатропін» мало місце наочно виражене в порівнянні з групою позитивного контролю зменшення зон деструкції (рис., 4) та жирової дистрофії (рис., 5). Такі зміни, поряд із свідченням біохімічних показників (таблиця) вказують на перевагу гранул «Гепатропін» перед референтним класичним гепатопротектором «Силібор 35» у 1,5-1,7 рази.

На наш погляд, перевага гранул «Гепатропін» над референтним препаратом «Силібор 35» пояснюється більшим вмістом та розмаїттям біологічно активних речовин, які входять до складу рослинної сировини. Умовно обрані рослинні джерела за основною біологічною дією можна розділити на 3 групи: харчова (поживна) група, яка представлена пшеничними висівками; загальнозміцнююча група, яка представлена м'якодіючими лікарськими рослинами – шипши-

ною та кропивою, та симптоматичною групою сильнотоксичних лікарських рослин, яка представлена календулою, солодкою, валеріаною, ромашкою і гіркокаштаном. Остання група відзначається високим вмістом поліфенольних сполук – флавоноїдів, дубильних речовин, оксикоричних кислот тощо, які забезпечують мембраностабілізуючу, антицитолітичну та протизапальну активність фітокомпозиції. Найбільш суттєвим є мембраностабілізуючий ефект поліфенольних сполук, який реалізується завдяки їх здатності вбудовуватися в гідрофільну фазу мембрани та внаслідок цього стабілізувати фосфоліпідну матрицю мембран. З іншого боку, поліфенольні сполуки здатні утворювати комплекси з мембранними білками, що також призводить до стабілізації клітинних мембран зі збереженням їхньої структури. Наведені властивості «структурного антиоксиданту» обумовлюють здатність поліфенольних сполук не лише пригнічувати цитолітичні явища, але й бути складовою їх протизапальної дії.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що в умовах гострого тетрахлорометанового гепатиту оригінальний фітопрепарат гранули «Гепатропін» чинить в 1,7 рази вираженішу гепатопротекторну дію, ніж референсний класичний гепатопротектор «Силібор 35».
2. Фітогранули «Гепатропін» чинять більш виражений, ніж референсний препарат «Силібор 35» пригнічувальний вплив на розвиток запальної реакції (за показником МКП, активністю ЛФ), цитодеструктивних процесів (за активністю АЛАТ і АсАТ та морфологічними змінами) та жирової дистрофії паренхіми печінки.
3. Лікувальна ефективність гранул «Гепатропін» на моделі гострого експериментального токсичного гепатиту обумовлена протизапальними, антицитолітичними та мембраностабілізуючими властивостями біологічно активних речовин нативних порошків вихідної рослинної сировини.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ

ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.

2. Попович В. П., Громовик Б. П., Сятиня В. А. Гепатопротекторний потенціал рослин: [монографія]. – К.: Інтерсервіс, 2012. – 188 с.
3. Ткач С. М. Перспективи розвитку гепатології в найближчому і недалекому майбутньому / С. М. Ткач // Здоров'я України. – 2012. – № 3 (25). – С. 10-11.
4. Харченко Н. В. Гепатопротектори в лікуванні захворювань печінки: клініко-біохімічні механізми дії / [Н. В. Харченко, Г. А. Анохіна, С. І. Чекман та ін.] // Здоров'я України. – 2013. – № 1 (27). – С. 28-29.
5. Чернявський В. В. Гепатопротектори в реаліях доказательної медицини і клінічної практики / В. В. Чернявський, А. К. Сизенко // Здоров'я України. – 2013. – № 17(318). – С. 52-53.
6. Andrițoiu C. V. Effect of apitherapy products against carbon tetrachloride-induced toxicity in Wistar rats / [C. V. Andrițoiu, V. Andrițoiu, M. Cuciureanu et al.] // Rom J. Morphol. Embryol. – 2014. – Vol. 55 (3). – P. 835-847.
7. Arias I. M. Liver function from Y to Z / I. M. Arias // J. Clin. Investig. – 2012. – Vol. 122. – P. 2763-2764.
8. Christina A. J. Inhibition of CCl₄-induced liver fibrosis by Piper longum Linn / [A. J. Christina, G. R. Saraswathy, S. J. Robert et al.] // Phytomedicine. – 2006. – Vol. 13, № 5. – P. 196-198.
9. El Kamary S. S. A randomized controlled trial to assess the safety and efficacy of silymarin on symptoms, signs and biomarkers of acute hepatitis / [S. S. El Kamary, M. D. Shardell, M. Abdel Hamid et al.] // Phytomedicine. – 2009. – Vol. 16, № 5. – P. 391-400.
10. Gharagozloo M. Combined therapy of silymarin and desferrioxamine in patients with beta-thalassemia major: a randomized double-blind clinical trial / [M. Gharagozloo, B. Moayedi, M. Zakerinia et al.] // Fundam. Clin. Pharmacol. – 2009. – Vol. 23 (3). – P. 359-365.
11. Hofmann A. F. Cholestatic liver disease: pathophysiology and therapeutic options / A. F. Hofmann // Liver. – 2002. – Suppl 2. – P. 14-19.
12. Schwenger K. J. Clinical approaches to non-alcoholic fatty liver disease / K. J. Schwenger, J. P. Allard // World J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20. – P. 1712-1723.

УДК 615.244: 615.322: 616.36: 616.36-002.2**О. В. Геруш, Л. В. Яковлева, Ю. Б. Ларьяновская, Т. С. Сахарова****ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГРАНУЛ «ГЕПАТРОПИН» КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ГЕПАТОТРОПНОГО СРЕДСТВА С ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫМИ СВОЙСТВАМИ**

Анализ приведенных в работе результатов позволил установить, что в условиях острого тетрахлорметанового гепатита новый препарат гранулы «Гепатропин» оказывает в 1,7 раза более выраженное гепатопротекторное действие, чем классический гепатопротектор «Силибор 35». Протективное действие оригинальной фитокомпозиции проявляется угнетением отека (по значению МКП), уменьшением активности маркерных ферментов цитолиза (АЛТ и АСТ) и холестаза (ЛФ), морфологически – уменьшением зон деструкции и жировой дистрофии гепатоцитов. Полученные данные свидетельствуют о наличии в механизме гепатозащитного действия гранул «Гепатропин» противоотечных, противовоспалительных, антицитолитических и мембраностабилизирующих свойств, которые обусловлены составом биологически активных веществ исходного растительного сырья. В работе экспериментально обоснована целесообразность дальнейшего фармакологического изучения гранул «Гепатропин» как потенциального гепатотропного средства с гепатопротекторными свойствами.

Ключевые слова: гранулы «Гепатропин»; тетрахлорметановый гепатит; гепатопротекторное действие

UDC 615.244: 615.322: 616.36: 616.36-002.2**O. V. Gerush, L. V. Iakovlieva, Yu. B. Laryanovskaya, T. S. Sakharova****EXPERIMENTAL STUDY OF GRANULES “GEPATROPIN” AS POTENTIAL HEPATOTROPIC AGENT WITH HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES**

In this work in acute carbon tetrachloride-induced liver's injury new drug granules “Gepatropin” has 1.7 times more pronounced hepatoprotective effect than the classic hepatoprotector “Silibor 35” are showed. Protective effect of the original combined phytodrug suppression manifests edema (by value MCP), a decrease of the activity of cytolysis's marker enzymes (ALT and AST) and cholestasis's marker enzymes (LF), morphologically – decreasing zones of destruction and fatty degeneration of hepatocytes. The findings suggest that there is a mechanism of hepatoprotective action granules “Gepatropin” decongestants, anti-inflammatory, anticytolytic and membranostabilizing properties, which are due to the composition of biologically active substances of the original plant material. In this article we experimentally proved the feasibility of further pharmacological study pellets “Gepatropin” as a potential hepatotropic drug with hepatoprotective properties.

Key words: granules “Gepatropin”; carbon tetrachloride-induced hepatitis; hepatoprotective action

Адреса для листування:
61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 27.
Тел. (057) 706-30-67.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції
15.02.2015 р.