

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ РАЗНЫХ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ГРУПП ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

А.Н.Тауки, В.Н.Федоров, З.А.Куница, Н.А.Смирнов, Н.В.Кочнева

Ярославская государственная медицинская академия, г. Ярославль

В данной статье рассматриваются оценки фармакотерапевтической эффективности лекарственных средств разных фармакотерапевтических групп на экспериментальной модели токсического гепатита. Использовался метод двухэтапного фармакологического скрининга. Основные выводы: из иммуномодуляторов не обнаружено препаратов ухудшающих состояние печени на фоне токсического гепатита, комбинация эссенциальных фосфолипидов и глицирризиновой кислоты обладает существенно более значимой гепатопротективной активностью, в сравнении с эффективностью компонентов этой комбинации, применённых по отдельности, ряд представителей группы адаптогенов иммуностимулирующий эффект которых является лишь одним из компонентов их действия, обладают более выраженной гепатопротективной активностью по сравнению со специализированными иммуномодуляторами

Ключевые слова: экспериментальный токсический гепатит, фармакотерапевтические группы, лекарственные средства.

Высокий уровень поражаемости населения гепатитами, способствуя развитие хронического гепатита, цирроза печени, гепатоцеллюлярной карциномы, что и определяет актуальность изучения различных методов их лечения [7,9].

Несмотря на то, что проблеме терапии вирусных гепатитов уделяется значительное внимание исследователей, считать её решённой не представляется возможным. Противовирусный эффект лечения регистрируется только у 30% больных гепатитом С, причем у половины из них развивается обострение в течение последующих 6 месяцев после отмены препаратов интерферона [4,10]. Для повышения противовирусной терапии значительной части пациентов назначают иммуномодулирующие средства различного механизма действия (интерферогены, стимуляторы неспецифического и специфического звеньев иммунитета). Однако исследований по влиянию препаратов данной группы на ткань печени не проводилось [1,5]. Оценить индивидуальную активность иммуномодуляторов на функционирование печени можно только в эксперименте, поскольку в условиях клиники эти препараты используются только в составе комплексной терапии вирусных гепатитов.

Целью исследования является оценка фармакотерапевтической эффективности лекарственных средств на экспериментальной модели токсического гепатита.

Методы исследования

Опыты проводились на 380 белых крысах-самцах массой 180-200 г с использованием модели двухэтапного скрининга для поиска веществ с гепатопротективной активностью [5]. Препараты, используемые в работе, представлены в таблице 1.

Основной задачей первого этапа скрининга было быстрое, объективное и относительно нетрудоемкое выявление гепатопротективной активности препаратов с возможностью ее количественного расчета. Для этого воспроизводилась жесткая модель токсического гепатита (введение LD₅₀ CCl₄), сопровождающаяся выраженным некрозом печеночных клеток и массовой гибелью лабораторных животных. В нашем случае LD₅₀ CCl₄ составила 5,6 мл/кг. Анализируемыми критериями были процент летальности, продолжительность жизни погибших животных и весовой коэффициент печени. Введение препаратов осуществлялось внутривенно через 60 минут после введения токсиканта. Иммуномодулирующие средства вводили ежедневно всем выжившим животным на протяжении двух недель эксперимента. При определении дозы препаратов для крыс учитывали коэффициент пересчета 5,9, предложенный проф. Т.А. Гуськовой [6].

Для оценки фармакологической эффективности изучаемых препаратов нами введен коэффициент гепатопротективной активности – КГА [5].

В том случае, если КГА рассчитывался на основании сравнения результатов 3 групп животных (здоровые животные, контрольные и животные, получающие препарат), то использовалась следующая формула:

$$\text{КГА} = \frac{\text{К} - \text{О}}{\text{К} - \text{И}}$$

где И – результат интактного контроля,

О – результаты опыта,

К – результаты контроля

Суммарный КГА (по всем результатам опыта) рассчитывался по формуле:

$$\frac{(\text{КГА}' + \text{КГА}'' + \dots + \text{КГА}^n)}$$

$$\text{КГА} = \frac{\quad}{n}$$

где КГА', КГА'', КГАⁿ - это коэффициент гепатопротективной активности, рассчитанный на основании какого-либо одного показателя;

n – количество показателей в опыте.

Таблица 1

Лекарственные препараты, использованные в работе

Группа препаратов	Используемые препараты
Средства с иммуномодулирующей активностью	
Интерфероны и интерферогены	Интерферон (реаферон), амиксин, циклоферон, арбидол, глицирризиновая кислота
Гормоны тимуса и синтетические препараты, стимулирующие Т-звено иммунитета	Тактив, тимоген, левамизол
Нативные нуклеиновые кислоты и нуклеиновые основания	Деринат, ридостин, натрия нуклеинат, метилурацил, пентоксил
Стимуляторы неспецифического звена иммунитета	Иммунал, ликопид
Адаптогены	Экстракты элеутерококка и левзеи, настойки женьшеня, гастродии, заманихи, аралии и лимонника, пантокрин
Витамины и микроэлементы с антиоксидантной активностью	Аскорбиновая кислота, селенит натрия
Растительные препараты с неясным механизмом действия	Масло облепихи, бефунгин
Гепатопротекторы	
Эссенциальные фосфолипиды	Эссенциале форте
Растительные антиоксиданты, содержащие гликозиды-флавоноиды	Силимарин
Комбинированные препараты	
Эссенциальные фосфолипиды + глицирризиновая кислота	Фосфоглив

На II этапе скрининга проводили уточнение характера гепатопротективной активности средств, отобранных на I этапе, и выявление препаратов, обладающих наиболее стабильным и универсальным действием. Для этого у лабораторных животных на классической модели несмертельного токсического гепатита (однократное внутривенное введение 5 мл/кг 50% раствора СС1₄ на подсолнечном масле) [8]. На 7 сутки эксперимента выполняли относительно

простые и нетрудоемкие биохимические и гистоморфологические исследования, на основании которых можно было сделать вывод о характере влияния гепатопротекторов на различные стороны функциональной активности гепатоцита.

При помощи биохимических методов исследования оценивалась степень цитолиза (активность АлАТ крови), холестаза (активность щелочной фосфатазы – ЩФ крови), гликогенсинтезирующая (содержание гликогена в печени) и белковосинтезирующая (содержание альбуминов в плазме крови) функции печени [3]. Ежедневное введение препаратов осуществлялось внутривентрикулярно через сутки после применения токсиканта.

Результаты и их обсуждение

Как показали результаты I этапа скрининга (таблица 2), наиболее активно повышали выживаемость животных при введении смертельной дозы четыреххлористого углерода (с 50 до 75-90%, то есть не менее чем в 1,5 раза) 5 препаратов из 30: фосфоглив, экстракт элеутерококка, настойка гастродии, эссенциале, настойка женьшеня (ряд препаратов представлен по снижению величины КГА). Еще 5 препаратов увеличивали выживаемость крыс не менее чем в 1,4 раза (с 50 до 70%) – это селенит натрия, настойка аралии, пантокрин, силимарин, и глицирризиновая кислота.

Гепатопротективная активность исследуемых препаратов: итоги I этапа скрининга

Препарат	Выживаемость крыс (%)	Длительность жизни погибших крыс в днях	Весовой коэффициент печени	Суммарный КГА I этапа
Интактные животные	-	-	26,34±1,08	1,00
Контроль	50	2,7±0,4	32,80±1,20*	0,00
Фосфоглив	90	6,1±0,7**	26,92±2,42**	1,02
Настойка гастродии	80	6,3±1,1**	26,00±0,92**	0,99
Экстракт элеутерококка	85	4,9±0,6**	25,98±1,53**	0,86
Настойка женьшеня	75	5,0±0,6**	27,55±1,17**	0,72
Эссенциале	80	4,0±0,6	26,23±1,04**	0,70
Ликопид	65	5,5±0,4**	28,72±1,55	0,66
Настойка аралии	60	5,4±0,8**	28,50±1,07**	0,62
Силимарин	70	4,5±0,4**	27,53±2,14**	0,62
Глицирризиновая кислота	70	4,0±0,6	28,40±1,93	0,51
Селенит натрия	70	4,0±0,8	29,12±1,86	0,48
Масло облепиховое	65	3,7±0,6	28,33±1,25**	0,45
Экстракт левзеи	60	4,4±0,7**	29,86±1,92	0,43
Пантокрин	70	3,5±0,5	28,90±2,01	0,43
Амиксин	50	4,5±0,6**	30,65±0,94*	0,41
Интерферон	50	4,5±0,5**	29,88±1,03*	0,38
Циклоферон	40	5,2±0,8**	29,23±1,15	0,35
Иммунал	40	4,3±0,8	28,30±1,93	0,35
Настойка заманихи	50	3,8±0,7	29,95±1,01*	0,28
Настойка лимонника	50	3,6±0,7	30,47±1,28*	0,27
Тимоген	65	4,5±0,4**	34,05±2,36*	0,26
Метилурацил	50	3,7±0,6	32,36±1,61**	0,16
Аскорбиновая кислота	45	2,9±0,6	29,90±1,06*	0,14
Ридостин	50	3,0±0,7	31,77±1,45*	0,09
Тактив	50	3,5±0,4	33,12±2,11*	0,08
Арбидол	50	2,7±0,8	31,65±1,37*	0,06
Натрия нуклеинат	50	2,7±0,4	31,74±2,12**	0,06
Пентоксил	50	2,9±0,6	33,01±1,85**	0,01
Левамизол	40	3,0±0,6	33,09±3,26*	-0,04
Деринат	35	2,8±0,6	32,02±1,80*	-0,04
Бефунгин	35	2,5±0,9	31,12±1,34*	-0,10

*) достоверная разница с интактными животными

**) достоверная разница с контрольными животными

Продолжительность жизни крыс наиболее выражено (в 2 и более раз) удлиняли настойка гастродии, фосфоглив, ликопид и настойка аралии. Несколько уступали им в эффективности (увеличение продолжительности жизни на 60-90%) циклоферон, настойка женьшеня, экстракт элеутерококка, амиксин, тимоген, интерферон, силимарин, экстракт левзеи. Повышению весового коэффициента печени препятствовало введение экстракта элеутерококка, настойки гастродии, эссенциале и фосфоглива. Достоверно снижали весовой коэффициент следующие препараты: силимарин, настойка женьшеня, настойка аралии, облепиховое масло.

Суммируя данные по всем трём показателям (выживаемость, продолжительность жизни и весовой коэффициент печени), исследуемые препараты можно подразделить на 4 группы: 1 – лекарственные средства, показавшие высокую степень гепатопротективной активности (КГА не менее 0,70): фосфоглив (1,02), настойка гастродии (0,99), экстракт элеутерококка (0,86), настойка женьшеня (0,72), эссенциале (0,70); 2 группа – лекарственные вещества со средней степенью активности (КГА 0,40 – 0,69): ликопид (0,66), настойка аралии (0,62), силимарин (0,62),

глицирризиновая кислота (0,51), селенит натрия (0,48), облепиховое масло (0,45), экстракт левзеи (0,43), пантокрин (0,43), амиксин (0,41); к препаратам 3 группы относятся лекарственные средства с относительно низкой степенью активности (КГА 0,20 – 0,39): интерферон (0,38), иммунал (0,35), циклоферон (0,35), настойка лимонника (0,28), настойка заманихи (0,27), тимоген (0,26); препараты 4 группы (КГА менее 0,20) гепатопротективной активностью не обладают.

Анализируя эффективность препаратов отдельных фармакологических групп, следует отметить, что наиболее стабильной гепатопротективной активностью обладали гепатопротекторы (что и следовало ожидать) и адаптогены. Причем, на модели смертельного гепатита препараты эссенциальных фосфолипидов были эффективнее растительных антиоксидантов-флавоноидов. В частности, фосфоглив и эссенциале показали большую величину защитного действия, чем силимарин. Следует также отметить, что эффективность комбинированного препарата фосфоглив почти в 1,5 раза превосходила таковую у эссенциале. В данном случае наблюдалась не просто суммация эффектов эссенциальных фосфолипидов и глицирризиновой кислоты, а их взаимодействие по принципу потенцирования. Терапевтическая эффективность адаптогенов на фоне смертельного тетрахлорметанового гепатита, по всей видимости, явилась частным случаем их неспецифической антитоксической активности, не уступив таковой у известных, но достаточно специализированных гепатопротекторов. Как показал эксперимент, особый интерес для гепатологии могут представлять лекарственные средства, полученные на основе гастродии.

Из группы иммуномодуляторов наиболее важное значение в лечении вирусных гепатитов принадлежит интерферонам и интерфероногенам. Исследование 5 препаратов данной группы позволило утверждать, что при монотерапии они не ухудшают состояние печеночной ткани (арбидол) или его нормализуют (интерферон, глицирризиновая кислота, амиксил, циклоферон).

О лекарственных средствах стимулирующих Т-звено иммунной системы (тактив, тимоген, левамизол), нативных нуклеиновых кислот (деринат, ридостин, нуклеинат натрия) и производных нуклеозидов (метилурацил, пентоксил) можно заметить следующее: хотя гепатопротекторной активностью они не обладают, однако и отрицательного воздействия на печень у них не наблюдается.

Из группы иммуномодуляторов наиболее выраженной гепатопротекторной активностью обладал ликолипид. Не исключено, что терапевтическая эффективность данного средства связана с его олигопептидной структурой. Как известно, олигопептиды в различных тканях могут выполнять функции регуляторов метаболических и репаративных процессов.

Умеренная гепатопротективная активность селенита натрия и облепихового масла, по-видимому, обусловлена их антиоксидантной активностью. [2]

По результатам I этапа скрининга для дальнейших исследований были отобраны 8 иммуномодулирующих лекарственных средств (интерферон, амиксин, глицирризиновая кислота, ликолипид, селенит натрия, облепиховое масло, экстракт элеутерококка, настойка гастродии), 2 препарата-сравнения (эссенциале, силимарин) и комбинированное лекарственное средство – фосфоглив.

Проведенные биохимические исследования показали (таблица 3), что при развитии острого экспериментального гепатита происходил цитолиз гепатоцитов (в 2,3 раза повышалась активность АлАТ крови), в печени имел место холестаз (повышение активности ЩФ крови на 73%), нарушался синтез белка (снижение на 26% альбуминов плазмы крови) и гликогена (падение его концентрации в печени в 14 раз).

Эксперимент позволил выяснить, что исследуемые препараты существенно различаются по влиянию на динамику изменения значений маркеров патологического процесса. Так, цитолиз гепатоцитов предупреждают фосфоглив и настойка гастродии, а эссенциале, экстракт элеутерококка и силимарин достоверно ограничивают активность этого процесса. Холестазу препятствуют настойка гастродии, фосфоглив и интерферон. Значимое нарушение белковосинтетической функции печени предупреждало большинство (кроме интерферона и амиксина) исследуемых препаратов, но максимально активными были фосфоглив, настойка гастродии и экстракт элеутерококка. Гликогенсинтезирующую функцию наиболее полно восстанавливали настойка гастродии, экстракт элеутерококка, фосфоглив и далее по мере убывания эффективности следовали облепиховое масло, силимарин, глицирризиновая кислота, интерферон, ликолипид и эссенциале. Амиксин и селенит натрия значимого влияния на синтез гликогена в печени не оказывали.

Гепатопротективная активность изучаемых препаратов по результатам биохимических исследований: итоги II этапа скрининга

Препарат	Активность:		Содержание:		Суммарный КГА II этапа
	АЛАТ в крови /л	ЩФ в крови мМоль/л	альбуминов в крови г/л	гликогена в печени мг%	
Интактные	143 ± 9	0,19 ± 0,02	39,4 ± 3,0	3218 ± 506	-
Контрольные	331 ± 23*	0,33 ± 0,33*	30,2 ± 1,1*	223 ± 61*	-
Фосфоглив	175 ± 14**	0,23 ± 0,02**	37,6 ± 3,3**	2461 ± 216**	0,75±0,03
Настойка гастродии	183 ± 17**	0,23 ± 0,02**	37,1 ± 2,6**	2680 ± 306**	0,75±0,03
Экстракт элеутерококка	183 ± 17*/**	0,27 ± 0,02*	35,6 ± 1,3**	2473 ± 291**	0,60±0,06
Эссенциале	198 ± 16*/**	0,29 ± 0,02*	35,1 ± 2,9	987±101*/**	0,52±0,08
Силимарин	245 ± 22*/**	0,26 ± 0,02*	34,7 ± 3,0	1539±216*/**	0,46±0,02
Масло облепиховое	241 ± 19*/**	0,27 ± 0,03*	33,8 ± 1,6	1660±193*/**	0,44±0,02
Селенит натрия	226 ± 16*/**	0,32 ± 0,03*	34,8 ± 3,3	630 ± 195*	0,33±0,05
Глицирризиновая кислота	276 ± 32*	0,28 ± 0,03*	32,6 ± 3,8	1506±211*/**	0,33±0,03
Ликопид	243 ± 15*/**	0,28 ± 0,02*	32,8 ± 3,1	1051±137*/**	0,33±0,05
Интерферон	287 ± 16*	0,26 ± 0,03	31,9 ± 2,1*	1241±188*/**	0,30±0,06
Амиксин	303 ± 34*	0,30 ± 0,02*	30,9 ± 3,0*	638 ± 165*	0,14±0,03

*) достоверная разница с интактными животными

**) достоверная разница с контрольными животными

Подводя итог II этапа скрининга (таблица 3) можно отметить, что наиболее стабильным и универсальным гепатопротективным действием обладали комбинированный препарата фосфоглив и оба отобранных для дальнейших исследований адаптогена: настойка гастродии и экстракт элеутерококка. Классические гепатопротекторы (эссенциале и силимарин) обладали в сравнении с ними несколько меньшей активностью, в основе которой лежало угнетение процесса цитолиза, что, в свою очередь, способствовало сохранению синтетических процессов в печени на достаточно высоком уровне.

Действие облепихового масла на печеночную ткань в количественном плане было схоже с таковым у силимарина. Следует отметить, что эффективность обоих препаратов, по всей видимости, обусловлена содержащимися в них растительными антиоксидантами, основой механизма которых является способность «гасить» I и II этапы ПОЛ (перекисное окисление липидов). Подтверждением этого положения являются результаты наших исследований по антиоксиданту селениту натрия, продемонстрировавшего менее выраженную гепатопротективную активность. Как известно, селенит натрия не обладает столь универсальным действием на процесс ПОЛ, поскольку в основе его механизма действия лежит процесс восстановления глутатиона [2].

Относительно низкую гепатопротективную активность, согласно результатам наших биохимических исследований, продемонстрировали иммуномодуляторы: интерферон, глицирризиновая кислота, ликопид и амиксин.

Таким образом, проведенный эксперимент показал, что иммуномодулирующие препараты в условиях токсического гепатита не оказывают отрицательного влияния на печеночную ткань, более того, ряд таких средств как интерферон, глицирризиновая кислота, ликопид, обладают собственной гепатопротективной активностью, что открывает определенные перспективы при использовании их в клинике. Высокий потенциал гепатопротективной активности показали

адаптогены, причем как классические (препараты элеутерококка, женьшеня, аралии, пантокрина), так и открытые в последнее десятилетие (препарат гастродии).

Выводы

1. Из иммуномодуляторов глицирризиновая кислота, интерферон, ликопид, обладают собственной гепатопротективной активностью.
2. Комбинация эссенциальных фосфолипидов и глицирризиновой кислоты (фосфоглив) обладает существенно более значимой гепатопротективной активностью, в сравнении с эффективностью компонентов этой комбинации, применённых по отдельности.
3. Из адаптогенов обладает более выраженной гепатопротективной активностью настойка гастродии.

ЛИТЕРАТУРА

- 1- Буеверов А.О. Место гепатопротекторов в лечении заболеваний печени / А.О. Буеверов // Болезни органов пищеварения. –2001. – №2. – С.16-18.
- 2- Скворцов В.В. Пероксидация липидов и антиоксидантная система в гепатологии / В.В.Скворцов // Гепатология. – 2003. – №3. – С. 7-13.
- 3- Фёдоров В.Н. Биохимические маркеры тяжести воспалительного процесса и хронизации при парентеральных гепатитах / В.Н. Фёдоров, И.Г. Ситников, М.С. Бохонов // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2006. – Т. 16, №1.- С. 40.
- 4- Шахгильдян И.В. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика) / И.В.Шахгильдян, Г.Г. Онищенко, И.М Михайлов. – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2003. – 384 с.
- 5- Ситников И.Г. Фармакотерапевтическая эффективность гепатопротективных лекарственных средств при парентеральных вирусных гепатитах / И.Г. Ситников, А.А. Шошин, В.Н.Фёдоров // Инфекционные болезни. – 2005.– Т.3, №3. - С. 12-17.
- 6- Гуськова Т.А. Оценка безопасности лекарственных средств на стадии доклинического изучения / Т.А. Гуськова // Хим.- фармац. журн. – 1990. – №7. – С.10-15.
- 7- Блюм Х.Е. Гепатит С: современное состояние проблемы / Х.Е. Блюм // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2005. – № 1. – С. 20- 25.

COMPARATIVE EFFICACY OF DRUGS OF DIFFERENT PHARMACOTHERAPEUTIC GROUPS IN EXPERIMENTAL TOXIC HEPATITIS

A.N. Taouk, V.N. Fiodorov, Z.A. Kunitsa, N.A. Smirnov, N.V. Kotshneva

This article discusses the evaluation of pharmacological effectiveness of drugs of different pharmacotherapeutic groups in an experimental model of toxic hepatitis. The method of two-stage pharmacological screening. Key findings: of immunomodulators were found drugs worsen the condition of the liver against toxic hepatitis, the combination of essential phospholipids and glycyrrhizic acid is substantially more important hepatoprotective activity, in comparison with the effectiveness of this combination of components that are applied separately, the number of members of the group of adaptogens immunostimulant effect of which is the only one component of their actions, have a more pronounced hepatoprotective activity compared with the specialized immunomodulators.

Key words: experimental toxic hepatitis, pharmacological groups, drugs

Тауки Ахмед Набил – аспирант ГОУ ВПО Ярославская государственная медицинская академия
г.Ярославль, ул.Звездная 9/73; e-mail:nabilov@mail.ru