ღონღაძე მ., ანთელავა ნ., ოკუჯავა მ., პაჭკორია ქ.

აცეტამინოფენის საინექციო ფორმით გამოწვეული მწვავე ჰეპატიტის ექსპერიმენტული მოდელის შემუშავება თაგვებში

თსსუ, ფარმაკოლოგიის მიმართულების ფარმაკოთერაპიის დეპარტამენტი

მთელ მსოფლიოში სულ უფრო აქტუალური ხდება სამკურნალო საშუალებების უსაფრთხოების პრობლემა. უპირველეს ყოვლისა ეს, ერთის მხრივ, დაკავშირებულია სამედიცინო პრაქტიკაში დიდი რაოდენობით პრეპარატების დანერგვასთან და მათ მიმართ მოსახლეობის სენსიბილიზაციასთან, ხოლო, მეორეს მხრივ, წამლების არარაციონალურ გამოყენებასთან [5].

სამკურნალო საშუალებების გამოყენებასთან ასოცირებულ უსაფრთხოების პრობლემებს შორის მეტად აქტუალურია ღვიძლის წამლისმიერი დაზიანება, რაზეც მიუთითებს წამლის გვერდითი ეფექტების რეგისტრაციის სტატისტიკა: 1-10 შემთხვევა 1000 ავადმყოფზე [5].

ამჟამად, ცნობილია 1000-ზე მეტი სამკურნალო პრეპარატი, რომელსაც ჰეპატოტოქსიკური მოქმედება გააჩნია და ასეთი პრეპარატების რიცხვი ყოველწლიურად პროგრესულად იზრდება [5,7,10]. განსაკუთრებულ ყურადღებას იმსახურებს ღვიძლის დაზიანება არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო საშუალებებით (აასს), ვინაიდან მათი ფართო გამოყენება და მოხმარების დიდი მოცულობა ხშირად განაპირობებს დაზიანების მაღალ რიცხვს.

ღვიძლის დაზიანების უნარი როგორც სამკურნალო პრეპარატებს, ასევე მათ მეტაბოლიტებსაც გააჩნია [2,7].

თითქმის ყველა შემთხვევაში, მიუხედავად დაავადების ეტიოლოგიისა, ღვიძლის დაზიანების პათოგენეზში საერთო პათოლოგიურ ჯაჭვს წარმოადგენს ჟანგვითი სტრესი [7,8]. აცეტამინოფენის ჰეპატოტოქსიკურობა განპირობებულია ორგანიზმში მისი მეტაბოლი ტი ს წარმოქმნით. იგი წარმოა დგენს თავისუფალ რადიკალს, რომელიც ოქსიდაციურ სტრესს უწყობს ხელს. აცეტამინოფენი (პარაცეტამოლი) ფართოდ გამოიყენება როგორც სიცხისდამწევი და ანალგეზიური საშუალება. აცეტამინოფენი (პარაცეტამოლი) წარმოადგენს ისეთ სამკურნალო საშუალებას, რომელიც თვითონ არ ავლენს ჰეპატოტოქსიკურობას, თუმცა მეტაბოლიზმის შედეგად წარმოქმნის ღვიძლის უჯრედებისთვის სახიფათო პროდუქტებს. მეტაბოლიზმის I ფაზაში ციტოქრომ P450-ის ზემოქმედებით პარაცეტამოლიდან წარმოიქმნება ტოქსიკური მეტაბოლიტი N-პარა-ბენზოქინონიმინი (NAPQI), რომელიც გლუტათიონთან კონიუგაციისას წარმოქმნის არატოქსიკურ წყალში ხსნად პროდუქტს. პარაცეტამოლის ტოქსიკური დოზის შემთხვევაში წარმოიქმნება N-პარა-ბენზოქინონ იმინის მაღალი კონცენტრაცია, რომელიც ამცირებს უჯრედული გლუტათიონის მარაგს და არღვევს მიტოქონდრიებში ჟანგვით ფოსფორილირებას. თერაპიულ დოზებში პარაცეტამოლი უვნებელია ღვიძლისთვის, მაგრამ მისი დიდ დოზებში (10-15 გრამი და მეტი)

მიღებისას NAPQI-ის ზემოქმედებით ჰეპატოციტების ცენტროლობური, სხვადასხვა ხარისხის ნეკროზი ვითარდება [7,8,9,11]. ოქსიდაციური სტრესი ს განმაპი რობებელი თავისუფალი რადიკალების ჭარბ დაგროვებას მოყვება ორგანელების სტრუქტურის და ფუნქციის დარღვევა, გენური მუტაციები და უჯრედის სიკვდილი [7].

თანამედროვე ჰეპატოლოგიაში გამოიყენება სამკურნალო საშუალებების ფართო სპექტრი, რომელიც ღვიძლის დაავადებების პათოგენეზურ ჯაჭვზე მოქმედებს [2,5,6]. ღვიძლის ტოქსიკური დაზიანების მოდელებში ძირითად როლს ასრულებს ჟანგვითი სტრესი და ენერგეტიკული ცვლის დარღვევა, რის გამოც ღვიძლის ტოქსიკური დაზიანების მკურნალობაში მნიშვნელოვანი როლი მიეკუთვნება ანტიოქსიდანტებს.

ჰეპატოპროტექტორული საშუალებების ძიება და ეფექტურობის შესწავლა ხდება მწვავე ჰეპატიტის სხვადასხვა ექსპერიმენტულ მოდელზე. ყველაზე ფართოდ გავრცელებულია მწვავე ტოქსიკური ჰეპატიტის მოდელირება აცეტამინოფენით.

ვინაიდან აცეტამინოფენი იწვევს ღვიძლის მძიმე დაზიანებას, რომელიც ლეტალურადაც შეიძლება დამთარდეს. ამ პრეპარატით გამოწვეული ღვიძლის ფუნქციის მოშლის პრევენციისთვის ჰეპატოპროტექტორების ძიება აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს.

ლიტერატურული მონაცემების მიხედვით, მწვავე ტოქსიკური ჰეპატიტის გამოსაწვევად აცეტამინოფენი ვირთაგვებში და თაგვებში შეჰყავთ კუჭში ერთჯერადად დოზით 500-1000მგ/კგ [3].

უკანასკნელ წლებში შემუშავებულია აცეტამინოფენის საინექციო ფორმა. ვინაიდან სამკურნალო საშუალებების ჰეპატოპროტექტორული აქტივობა ფასდება ექსპერიმენტულ მოდელებზე, მოდელირება ცხოველებზე საინექციო ფორმით უფრო ხელმისაწვდომი და მარტივია.

კვლევის მიზანი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა მწვავე ტოქსიკური ჰეპატიტის მოდელირებისათვის აცეტამინოფენის საინექციო ფორმის დოზის შერჩევა. ასეთი მოდელის გამოყენება შესაძლებელია სამკურნალო საშუალებების ჰეპატოპროტექტორული აქტივობის შეფასებისთვის.

მეთოდი და მასალები

ექსპერიმენტები ჩატარდა ვისტარის ჯიშის თეთრ მამრ თაგვებზე (n=32). კვლევის წინ ცხოველები იყვნენ 10 დღიან კარანტინში. ამ პერიოდის განმავლობაში ხდებოდა ცხოველებზე დაკვირვება, სხეულის მასის რეგისტრაცია, ქცევის და ზოგადი მდგომარეობის შეფასება. ცხოველების ექსპერიმენტში ჩართვის ძირითადი კრიტერიუმები იყო: სხეულის მასა – 20გრ, კანის საფარი – ბზინვარე, ქცევა და ზოგადი მდგომარეობა – მოძრაობის აქტიური დინამიკა და საკვების აქტიური მიღება.

კვლევის წინ ცხოველები, რომლებმაც ჩართვის კრიტერიუმები დააკმაყოფილეს, რანდომიზებულად დავყავით ჯგუფებად. თავდაპირველად ჩატარდა საორიენტაციო ცდები ტოქსიკური დოზის დასადგენად (n=12). კვლევისთვის ცხოველები 4 ჯგუფში განაწილდა:

1 ჯგუფი – საკონტროლო (ინტაქტური ცხოველები) (n= 3)

2 ჯგუფი – საცდელი (ცხოველები, აცეტამინოფენის საინექციო ფორმით გამოწვეული ტოქსიკური ჰეპატიტით, პრეპარატის დოზა 500მგ/კგ) (n= 3)

3 ჯგუფი – საცდელი (ცხოველები, აცეტამინოფენის საინექციო ფორმით გამოწვეული ტოქსიკური ჰეპატიტით, პრეპარატის დოზა 750მგ/კგ) (n= 3)

4 ჯგუფი – საცდელი (ცხოველები, აცეტამინოფენის საინექციო ფორმით გამოწვეული ტოქსიკური ჰეპატიტით, პრეპარატის დოზა 1000მგ/კგ) (n= 3).

დავადგინეთ აცეტამინოფენის საინექციო ფორმის ტოქსიკური დოზა, ანუ პრეპარატის ის დოზა, რომელიც ინექციიდან ერთ დღეში ცხოველების ნაწილში იწვევდა სიკვდილობას. ამ დოზის ტოქსიკური მოქმედება გამოვიკვლიეთ 2 ჯგუფად დაყოფილ ცხოველებზე (n= 10).

1ა ჯგუფი – საკონტროლო (ინტაქტური ცხოველები) (n= 5)

2ა ჯგუფი – საცდელი (ცხოველები, აცეტამინოფენის საინექციო ფორმით გამოწვეული ტოქსიკური ჰეპატიტით, პრეპარატის დოზა 750მგ/კგ) (n= 5)

თაგვებში აცეტამინოფენი შეგვყავდა ინტრაპერიტონულად, ერთჯერადად. საკონტროლო ჯგუფის ინტაქტურ ცხოველებში ექვივალენტური რაოდენობით შეგვყავდა ფიზიოლოგიური ხსნარი. შეფასების კრიტერიუმები იყო: ლეტალობა, ჰეპატოციტების ციტოლიზის ბიოქიმიური მარკერების (ALT, AST) მაჩვენებლები და ღვიძლის მასა. კვლევის მესამე დღეს, საკვლევი პარამეტრების შეფასების მიზნით, ორივე ჯგუფის თაგვებს ჩაუტარდა დეკაპიტაცია ეთერის ნარკოზის ქვეშ. ცხოველების სისხლის პლაზმაში ციტოლიზის ბიოქიმიური მარკერების (ALT, AST) მაჩვენებლები განვსაზღვრეთ ნახ ევრად ავტომატური ბიოქიმიური ანალიზატორით RT-1904C, “Humana”-ს ფირმის რეაქტივების გამოყ- ენებით. მონაცემები სტატისტიკურად დამუშავდა “MTB11” კომპიუტერული პროგრამით.

შედეგები და განხილვა

ტოქსიკური დოზის დასადგენად ჩატარებული საორიენტაციო ცდების შედეგად განისაზღვრა აცეტამინოფენის საინექციო ფორმის ტოქსიკური დოზა, რომელიც ერთ დღეში იწვევდა საკვლევი ცხოველების ნაწილის სიკვდილს. დადგენილ იქნა, რომ აცეტამინოფენი დოზით 500მგ/კგ არ იწვევდა ცხოველების სიკვდილს, 750მგ/კგ განაპირობებდა სიკვდილს 33%-ში. ხოლო 1000მგ/კგ – 100%-ში (ცხრილი 1).

ცხრილი 1

აცეტამინოფენით გამოწვეული სიკვდილობა საკვლევ ჯგუფებში

ჯგუფი	სიკვდილობა	%
2 ჯგუფი (n= 3) 500მგ/კგ	0/3	0%
3 ჯგუფი (n= 3) 750მგ/კგ	1/3	33%
4 ჯგუფი (n= 3) 1000მგ/კგ	3/3	100%

მიღებული შედეგების გათვალისწინებით აცეტამინოფენის საინექციო ფორმის ტოქსიკურ დოზად შეირჩა 750მგ/კგ, რომლის შეყვანაც ხდებოდა ინტრაპერიტონულად. აცეტამინოფენის საინექციო ფორმის ტოქსიკური დოზის შეყვანისას სარწმუნოდ გაიზარდა ღვიძლის მასა და ჰეპატოციტების ციტოლიზის ბიოქიმიური მარკერების (ALT, AST) მაჩვენებლები საკონტროლო ჯგუფთა ნ შედა რები თ (ცხრილი 2).

ღვიძლის მასის გაზრდა 47%-ით არაპირდაპირ მიუთითებს აცეტამინოფენის შერჩეული დოზის ორგანოტროპულ ტოქსიკურ მოქმედებაზე. ამას დამატებით ადასტურებს ჰეპატოციტების ციტოლიზის ბიოქიმიური მარკერების (ALT, AST) მაჩვენებლების სარწმუნოდ გაზრდაც, შესაბამისად, 88% და 91%ით. ცნობილია, [4] რომ ტრანსამინაზები ღვიძლის ციტოლიზური სინდრომი სინდიკატორები არიან. ორივე ეს ფერმენტი ღვიძლის უჯრედებშია, თუმცა ALT უპირატესად ღვიძლის, ხოლო AST გვხვდება ღვიძლის, გულის და თირკმლის უჯრედებში, მაგრამ მეტად ბოლო ორ ორგანოშია. იმის გათვალისწინებით, რომ ჩვენ კვლევაში კონტროლთან შედარებით სარწმუნოდ გაიზარდა ჰეპატოციტების ციტოლიზის ბიოქიმიური მარკერების (ALT, AST) მაჩვენებლები და ღვიძლის მასა, შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ აცეტამინოფენის საინექციო ფორმა დოზით 750მგ/კგ იწვევს მწვავე ტოქსიკურ ჰეპატიტს.

ცხრილი 2

ღვიძლის მასა და ციტოლიზის ბიოქიმიური მარკერების მაჩვენებლები საკვლევ ჯგუფებში

	ღვიძლის მასა (გრ)	ALT (ერთ/ლ)	AST (ერთ/ლ)
1ა ჯგ. საკონტროლო (ნ= 5)	0.832±0.09	7.25±2.31	3.61±0.81
2ა ჯგ. საცდელი (n= 5)	1.574±0.093	62.86±5.15	42.54±6.59
P	p=0.05	p=0.05	p=0.05

ჩატარებული კვლევის შედეგებზე დაყრდნობით შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ 750მგ/კგ აცეტამინოფენის საინექციო ფორმის ინტრაპერიტონულად შეყვანა რეკომენდებულია თაგვებში მწვავე ტოქსიკური ჰეპატიტის მოდელირებისათვის და ასეთი მოდელის გამოყენება შესაძლებელია სხვადასხვა ფარმაკოლოგიური საშუალებების ჰეპატოპროტექტორული აქტივობის შესასწავლად.

ლიტერატურია:

1. Буеверов А.О.. Патогенетические подходы к лечению лекарственных поражений печени. Гастроэнтерология .Заболевания печени 2008. №1, с. 17-23

2. Косенко И.М. Муколитические препараты в современной клинической практике Cons. Med. Педиатрия №1 / 2010 с. 52-59 -2

3. Скрыпник И.Н. Медикаментозные гепатиты: современные аспекты диагностики и лечения. *Cons. Med. 2008.* - Т. 10, № 8. - С. 48-52.

4. Соколовская А.Н." Влияние лохеина на метаболизм печени при острой интоксикации, вызванной парацетамолом и D-галактозамином", Бюллетень сибирской медицины №3, 2006, с.48-52

5. Суханов Д. С., Винаградова Т. И., Заболотных Н. В., Коваленко А. Л., Васильева С. Н., Романцов М. Г., Сравнительное изучение гепатопро- тективного действия ремаксола, реамберина и адеметионина при повреждении печени про-тивотуберкулёзными препаратами, Антибитики и Химиотерапия, 2011; 56; 1-2; с. 12-16.

6. Aashish Pandit, Tarun Sachdeva and Pallavi Bafna Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review Journal of Applied Pharmaceutical Science 02 (05); 2012: 233-243

7. Al-Majed A., Sayed-Ahmed M., Al-Omar F. et al. Carnitine esters prevent oxidative stress damage and energy depletion following transient forebrain ischaemia in the rat hippocampus. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2006; 33(8): 725-733.

8. Bessone Fernando Non-steroidal anti-inflammatory drugs: What is the actual risk of liver damage? World J Gastroenterol. 2010 December 7; 16(45): 5651–5661.

9. Hinson Jack A., Roberts Dean W., and James Laura P. Mechanisms of Acetaminophen-Induced Liver Necrosis Handb Exp Pharmacol. 2010; (196): 369–405.

10. Karima Begriche, Julie Massart, Marie-Anne Robin, Annie Borgne-Sanchez Drug-induced toxicity on mitochondria and lipid metabolism: Mechanistic diversity and deleterious consequences for the liver. Journal of Hepatology Volume 54, Issue 4 , Pages 773-794, April 2011

11. Mitchell R. McGill, Matthew R. Sharpe, C. David Williams, Mohammad Taha, Steven C. Curry and Hartmut Jaeschke The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation The Journal of Clinical Investigation, 2012;122(4):1574–1583.

Ghonghadze M., Antelava N., Okujava M., Pachkoria K.

DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL MODEL OF ACUTE HEPATITIS IN MICE USING SOLUTION OF ACETAMINOPHEN FOR INJECTION

TSMU, DEPARTMENT OF PHARMACOTHERAPY OF THE DIRECTION OF PHARMACOLOGY

The goal of the research was to define the dose of acetaminophen's solution for injection needed to develop the model of hepatitis in mice. Initialy the preliminary testing was provided and the dose, which caused the lethality in the part of experimental animals was found. Intraperitoneal injection of 500 mg/kg acetaminophen did not caused the death in mice, the lethality after injection of 750 mg/kg was 33% and use of 1000 mg/kg drug was the reason of lethal outcome in 100%.

We choose intraperitoneal injection of 750 mg/kg of acetaminophen for induction of hepatitis. After identification of the toxic dose we learned its effect on the weight of the liver and biochemical indexes. Injection of the toxic dose of acetaminophen significantly increased the weight of the liver (47%) and the biochemical markers indicating hepatocyte cytolyses (ALT – 88%, AST – 91%), thus the experimental model of hepatitis was developed.

Based on the obtained data we can conclude, that intraperitoneal injection of 750 mg/kg solution of acetaminophen is recommended to create the experimental model of acute hepatitis in mice, which is useful for investigation of hepatoprotective activity of different drugs.