



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **103873**

(13) **U**

(51) МПК

**A61P 1/16** (2006.01)

**G01N 33/49** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<b>(21)</b> Номер заявки:	<b>u 2015 03626</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и):	<b>Поготова Гуля Аманмурадівна (UA), Горчакова Надія Олександрівна (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки:	<b>17.04.2015</b>	<b>(73)</b> Власник(и):	<b>НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ, бул. Шевченка, 13, м. Київ-4, 01601 (UA)</b>
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	<b>12.01.2016</b>		
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>12.01.2016, Бюл.№ 1</b>		

**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТІВ З ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЮ ДІЄЮ НА ПОКАЗНИКИ ЦИТОЛІЗУ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ**

**(57) Реферат:**

Спосіб визначення впливу препаратів з гепатопротекторною дією на показники цитолізу в сироватці крові щурів при токсичному гепатиті включає дослідження крові, у якому протягом 10 днів усім тваринам дослідних груп вводять 1 раз на добу внутрішньошлунково селеназу в дозі 50 мкг/кг, адеметіонін в дозі 100 мг/кг, епадол в дозі 100 мг/кг, лівонорм в дозі 100 мг/кг, детоксил в дозі 100 мг/кг на тлі токсичного гепатиту. Визначають рівень цитолізу і антицитолітичну активність препаратів. Отримані результати порівнюють з контролем і при зміні показників визначають їх вплив на цитоліз в сироватці крові щурів.

**UA 103873 U**



Корисна модель, що заявляється, належить до медицини, точніше до фармакології, і може бути використана для визначення впливу препаратів з гепатопротекторною дією на показники цитолізу в сироватці крові щурів при токсичному гепатиті.

Відомо, що маркери цитолізу - активність аланін амінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ) є показниками порушень структури і метаболізму життєво-важливих органів, тому при патологічних і екстремальних станах в сироватці крові активність цих показників зростає [1]. Гепато- і ораганопротекторні властивості при різних патологічних станах встановлені у селеназі, адеметіоніні, препаратах напівненасичених жирних кислот омега [12], лівонормі і детоксилі.

Попередніми дослідженнями порівнювали гепатопротекторний ефект селенази, препарату омега-3-поліненасичених жирних кислот епадолу, адеметіоніну, лівонорму та детоксилу на підставі їх впливу на енергетичний і прооксидантно-антиоксидантний обмін печінки, міокарда та тканин головного мозку при токсичному дихлоретановому гепатиті. При патології встановлено збільшення в усіх тканинах маркерів окисної модифікації білка - альдегідфенілгідразонів (АФГ), карбоксилфенілгідразонів (КФГ) та показника ацидозу - лактату, при падінні показників антиоксидантного захисту - активності супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГПР), вмісту відновленого глутатіону (ВГ), показників енергетичного обміну - вмісту АТФ, малату, пірувату. При токсичному гепатиті селеназа відновлювала прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз в усіх органах, енергетичний метаболізм тільки в печінці і міокарді. Епадол не впливав на показники метаболізму в мозковій тканині щурів, нормалізував активність СОД, ГПР, АФГ, КФГ, вміст лактату в печінці, рівень КФГ, АТФ, пірувату, малату, лактату в міокарді. Адеметіонін при токсичному гепатиті відновлював показники енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу при токсичному гепатиті в усіх органах. Лівонорм та детоксил реалізували захисну дію на всі показники метаболізму в гепатоцитах, в міокарді відновлювали лише маркери окислювальної модифікації білків і не впливали на показники енергетичного обміну і прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в головному мозку щурів [6, 7].

Тому доцільним було порівняти вплив селенази, епадолу, адеметіоніну, лівонорму і детоксилу за показниками цитолізу відносно їх гепатопротекторної дії при токсичному гепатиті.

Найбільш близьким аналогом за технічною суттю до способу, що заявляється, є спосіб фармакологічної детоксикації, який дозволяє безпосередньо діяти на токсичну речовину або її рецептори і лікувати ряд токсичних ефектів [6].

Задача запропонованого способу полягає у вивченні впливу селенази, епадолу, адеметіоніну, лівонорму і детоксилу на показники цитолізу в сироватці крові щурів при токсичному гепатиті.

Технічний результат при вирішенні задачі полягає в покращенні показників цитолізу в сироватці крові щурів при токсичному гепатиті.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, який включає дослідження крові, згідно з корисною моделлю, протягом 10 днів усім тваринам дослідних груп вводять 1 раз на добу внутрішньошлунково селеназу в дозі 50 мг/кг, адеметіонін в дозі 100 мг/кг, епадол в дозі 100 мг/кг, лівонорм в дозі 100 мг/кг, детоксил в дозі 100 мг/кг на тлі токсичного гепатиту, визначають рівень цитолізу і антицитолітичну активність препаратів, отримані результати порівнюють з контролем і при зміні показників визначають їх вплив на цитоліз в сироватці крові щурів

Спосіб здійснюють наступним чином.

Досліди проведені на 49 нелінійних білих щурах - самцях масою тіла 170-190 г, отриманих з ПП "Біомодельсервіс" м. Київ. Щурів утримували, згідно з Методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [10]. Протягом 20 днів щоденно щурів зважували і оглядали. Для моделювання токсичного гепатиту застосовували дихлоретан, який вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда щурам в дозі 500 мг/кг 1 раз на добу протягом 4 днів в суміші з оливковою олією (1:1). Токсичний гепатит, індукований дихлоретаном, супроводжується високим ступенем вільно-радикального окиснення, окисною модифікацією білків, дипривацією глутатіонової ланки тіолдисульфідної системи, порушенням енергетичного обміну, збільшенням об'єму жирової дистрофії і високим рівнем трансаміназ [5].

На 5 день експерименту введення токсичного агента припинялося і протягом 10 днів усім тваринам дослідних груп вводили 1 раз на добу внутрішньошлунково селеназу в дозі 50 мг/кг, адеметіонін в дозі 100 мг/кг, епадол в дозі 100 мг/кг, лівонорм в дозі 100 мг/кг, детоксил в дозі 100 мг/кг. Препарати, погано розчинні в воді, вводили у вигляді суспензії, стабілізованої Твіном 80. Інтактна і контрольна група отримували внутрішньошлунково в аналогічному обсязі воду з Твіном-80. Біохімічні дослідження проводили на 20-й день експерименту. На цей термін спостереження тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг), швидко

забирали кров. Ефективність лікування оцінювали за біохімічними показниками сироватки крові (визначали активність АлАТ, АсАТ, ЛФ), встановлюючи рівень цитолізу і антицитолітичну активність препаратів за допомогою біхроматичної фотометричної системи загального призначення STAT FAX 1904 PLUS (Awareness Technology inc, США). Активність АлАТ, АсАТ, ЛФ виражали в ОД/л. Аналіз нормальності розподілу оцінювали за критеріями Колмогорова-Смирнова (Д) і Lillifors, а також Shapiro-Wilk (W), якому віддавали перевагу. Дані представлені у вигляді середньої і стандартної помилки репрезентативності вибіркового середнього значення. Результати дослідження оброблені з застосуванням статистичного пакета ліцензійної програми STATISTICA® for Windows 6.0 (Stat. Soft. Inc. NAXXR 712D 83214 FANS), а також SPSS 16.0 "Microsoft Exel 2003". Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при  $p < 0,05$ .

Згідно з отриманими даними, у щурів в сироватці периферичної крові при дихлоретановому гепатиті зростає активність маркерів цитолізу АлАТ на 58 %, АсАТ на 28 %, ЛФ на 27 % (таблиця), що підтверджує зміни метаболізму та функції органів і узгоджується з порушенням показників енергетичного та прооксидантно-антиоксидантного обміну у щурів в серці, печінці, тканинах мозку при цій патології. Підвищення активності ЛФ в сироватці крові також свідчить про наявність холестазу та атрофічних змін в печінці [4,14]. Досліджувані препарати диференційовано відновлюють активність біохімічних показників, тобто знижують активність маркерів цитолізу (див. таблицю). Епадол зменшує активність АлАТ на 23 %, АсАТ на 11 %, ЛФ на 15 %; селеназа - АлАТ на 32 %, АсАТ на 17 %, ЛФ на 17 %. Адеметіонін знижує активність АлАТ на 26 %, АсАТ на 14 %, ЛФ на 13 %. Під впливом лівонорму АлАТ знижується на 22 %, АсАТ на 11 %, ЛФ на 13 %, детоксилу - АлАТ на 22 %, АсАТ на 11 %, ЛФ на 11 %.

Таблиця

Вплив селенази, епадолу, адеметіоніну, детоксилу і лівонорму на показники цитолізу в сироватці крові щурів при дихлоретановому токсичному гепатиті

Умови експерименту	АлАТ ОД/л	АсАТ ОД/л	ЛФ ОД/л
Інтактні щури	117±12,2	210±12,2	197±13,3
Дихлоретановий гепатит	185±10,3*	265±8,2*	254±7,5*
Дихлоретановий гепатит+епадол	136±7,7**	235±7,5**	215±7,3**
Дихлоретановий гепатит+селеназа	121±11,2**	220±9,2**	203±8,9**
Дихлоретановий гепатит+адеметіонін	130±12,8**	231±7,9**	221±6,3**
Дихлоретановий гепатит+лівонорм	137±6,8**	236±6,9**	231±4,2**
Дихлоретановий гепатит+детоксил	138±9,1**	234±5,2**	233±5,9**

\*  $P < 0,05$  порівняно з контролем

\*\*  $P < 0,05$  порівняно з гепатитом

Відомо, що дихлоретан, в першу чергу, є гепатотропним токсином, що пошкоджує мембрани та органи гепатоцитів, тому більш суттєві зміни метаболізму спостерігаються в печінці, але також знижується обмін речовин і в інших життєво-важливих органах, таких як міокард, мозкова тканина [8]. Цей токсин, як і інші пошкоджуючі фактори, викликає стан оксидативного стресу, активуючи вільнорадикальне окиснення та перекисне окиснення ліпідів, що веде до пошкодження мембран та загибелі клітин. При оксидативному стресі порушуються функціонально-структурна цілісність гепатоцитів та структура і функція мітохондрій. Маркери цитолізу (активність АлАТ, АсАТ, ЛФ), вміст яких зростає в сироватці крові, висвітлюють деструктивні і метаболічні зміни в гепатоцитах, в міокарді, мозковій тканині, що було відмічено нашими попередніми дослідженнями при моделюванні дихлоретанового гепатиту. При гострій інтоксикації, в тому числі дихлоретаном, коли при розвитку оксидативного стресу відмічають лише перший етап (ініціальний), можливе проведення фармакологічної корекції, яка в наших дослідженнях була здійснена введенням селенази, адеметіоніну, епадолу, лівонорму та детоксилу, що представляють антиоксиданти, належать до сквенджерів вільних радикалів жирних кислоти та гідроперексидів [11].

Більш виражено понижують активність маркерів цитолізу селенази і адеметіонін, що пов'язано з їх механізмами дії. Селен у складі селенази включається в структуру глутатіонпероксидази, яка руйнує гідроксипероксидазу та захищає мембрани ліпідів [2, 3, 9].

Адеметіонін належить до похідних метіоніну і не тільки завдяки антиоксидантній дії підсилює елімінацію вільних радикалів, але приймає участь у важливих біохімічних процесах, які лежать в основі регенерації клітин: трансметилуванні, синтезі поліамінів та ін. [13]. Крім цього, за нашими дослідженнями, при дихлоретановому гепатиті саме ці сполуки відновлюють енергетичний обмін та прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз не тільки в печінці, міокарді, але і в тканинах головного мозку.

Таким чином, отримані дані обґрунтовують доцільність застосування препаратів з гепатопротекторною та органопротекторної дією (селенази, епадолу, адеметіоніну, лівонорму, детоксилу) при токсичному дихлоретановому гепатиті.

В умовах дихлоретанового гепатиту в сироватці крові щурів підвищується активність маркерів цитолізу АлАТ, АсАТ, ЛФ. Селеназа, епадол, адеметіонін, лівонорм, детоксил при внутрішньошлунковому курсовому введенні щурам з токсичним дихлоретановим гепатитом диференційовано знижують показники цитолізу (активність АлАТ, АсАТ, ЛФ) в сироватці крові.

Джерела інформації:

1. Білай І.М. Фармакологічні дослідження 4-аміно-5-(фуран-2-іл)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіолу при парацетамоловому гепатиті / І.М. Білай, С.О. Михайлюк, В.В. Парченко [та ін.] // Укр. біофармацевтичний журнал. – 2014. - Т.12, № 3. - С. 60-62.

2. Громова О.А. Селен - впечатляющие итоги и перспективы применения / О.А. Громова, Н.В. Гоголева // Мед. неотл. состояний. - 2010. - Т. 31, № 6. - С. 124-128.

3. Коржинський Ю.С. Селен: біологічна роль і потреба дитячого організму / Ю.С. Коржинський, Х.Б. Слівінська-Курчак // Медицина транспорту України - 2011. - № 4. - С. 90-93.

4. Морозов С.Ю. Гепатопротекторы в практике врача-клинициста / С.Ю. Морозов // Рус. мед. журн. -2009. - Т. 11, № 1. - С. 25-26.

5. Мышкин А.В. Окислительный стресс и повреждение печени при химических воздействиях / А.В. Мышкин, А.Б. Бакиров. - Уфа, 2001. - 176 с.

6. Поготова Г.А. Вплив лівонорму та детоксилу на енергетичний обмін, прооксидантно-антиоксидантну систему в печінці, міокарді та головному мозку щурів при дихлоретановому гепатиті / Г.А. Поготова, Н.О. Горчакова, І.Ф. Беленічів, І.С. Чекман // Вісн. проблем біол. і мед. - 2014. - Т. 3, Вип. 3. - С. 187-191.

7. Поготова Г.А. Дія селенази на показники енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантної системи в органах щурів при токсичному гепатиті / Г.А. Поготова, Н.О. Горчакова, І.Ф. Беленічев, І.С. Чекман // Вісник проблем біології та медицини. - 2014. - Т. 2, Вип. 3. - С. 216-220.

8. Сивоконюк О.В. Патоморфологические аспекты периферической иммунной системы при экспериментальном токсическом гепатите / О.В. Сивоконюк, А.И. Даниленко // Достижения биологии та медицины. 2010. - № 1 (15). - Р. 14-17.

9. Степанов Ю.М. Селен и заболевания печени / Ю.М. Степанов, В.В. Белицкий, С.В. Косинская // Сучасна гастроентерологія. - 2012. - № 4 (66). - С. 90-100.

10. Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств / А.В. Стефанов. - К.: Авиценна, 2002. - 568 с.

11. Чекман И.С. Антиоксиданты: клинико-фармакологический аспект / И.С. Чекман, И.Ф. Беленичев, Н.А. Горчакова [и др.] // Укр. мед. часопис. - 2014 - № 1. - С. 22-28.

12. Шевелек А.Н. Влияние омега-3 полиненасыщенных кислот на биоэлектрическую активность сердца у пациентов с пароксизмальной фибрилляцией предсердий / А.Н. Шевелек // Укр. кард. журнал. - 2014. - № 2. - С. 93-99.

13. Юрьев К.Л. Гептрал® (адеметионин) - гепатопротектор и антидепрессант / К.Л. Юрьев // Укр. мед. часопис. - 2012. - Т. 1, № 87. - С. 61-69

14. Andrade R. Drug-induced liver injuries analysis of 461 residences sublimitted to the Spanish registry a 10-years period / R. Andrade, M. Lucena, M.C. Fernandes [et al.] // Gastroenterol. - 2005. - Vol. 129. - P. 512-521.

# ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб визначення впливу препаратів з гепатопротекторною дією на показники цитолізу в сироватці крові щурів при токсичному гепатиті, що включає дослідження крові, який **відрізняється** тим, що протягом 10 днів усім тваринам дослідних груп вводять 1 раз на добу внутрішньошлунково селеназу в дозі 50 мкг/кг, адеметіонін в дозі 100 мг/кг, епадол в дозі 100 мг/кг, лівононорм в дозі 100 мг/кг, детоксил в дозі 100 мг/кг на тлі токсичного гепатиту, визначають рівень цитолізу і антицитолітичну активність препаратів, отримані результати порівнюють з
- 10 контролем і при зміні показників визначають їх вплив на цитоліз в сироватці крові щурів.

---

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601