

STUDII CLINICO-ȘTIINȚIFICE

Imupurin-ul în evoluția afecțiunilor hepatice toxice experimentale și a hepatitelor de etiologie virală

I. Pogonea, V. Ghicavii, V. Dumbrava, I. Butorov

Catedra Farmacologie și Farmacologie clinică
USMF „Nicolae Testemitanu”

Imupurin in the Evolution of Toxic Induced Liver Injury and Viral Hepatitis

The entomologic remedy has manifested the hepatoprotective properties in the pretreatment and treatment of the toxic and viral hepatic disorders. Experimentally, imupurin contributes to the diminishing of cytolytic syndrome (decreasing of ALAT and AsAT) and to the correction of metabolic disturbances. The usage of entomologic drug added to the complex treatment of hepatic diseases contributes to the diminishing of clinical symptoms and laboratory parameters (AsAT, ALAT, LDH, immunologic parameters etc.), decreasing of the hepatic and spleen diameters, more rapid than in the control group. Imupurin manifests immunotropic and hepatotropic properties because of its composition aminoacids (essential and non/ essential), polypeptides, lipoproteic complexes, and antioxidants, which lead to immunomodulating and protective effects of hepatocytes. This study is dedicated to the investigation of the imupurin properties - an entomologic drug obtained from Lepidoptera pupa.

Key words: imupurin, hepatitis, immunomodulators, hepatoprotection, entomologic, Lepidoptera.

Действие имупурина при экспериментальных токсических и вирусных гепатитах

При экспериментальном гепатите, вызванном парацетамолом, энтомологический препарат действует в качестве гепатопротектора, а также как средство профилактики и лечения данного заболевания. Результаты опытов показывают, что имупурин снижает показатели цитолитического синдрома (уровень АЛАТ и АсАТ) и устраняет метаболические нарушения. Использование энтомологического препарата в комплексном лечении печеночных заболеваний приводит к снижению клинических симптомов и лабораторных показателей (АЛАТ, АсАТ, LDH, иммунологических показателей и т. д.) на более ранних стадиях в сравнении с контрольной группой. Для имупурина характерны иммуностропное и гепатопротекторное действие благодаря своему составу: аминокислоты, полипептиды, липопротеиновые и антиоксидантные комплексы, которые имеют сложный механизм иммуномодуляции и гепатопротекции. Имупурин является веществом энтомологической природы, получаемым из коконов рода Lepidoptera.

Ключевые слова: имупурин, гепатит, иммуномодуляторы, гепато-протекция, энтомологический препарат.

Introducere

Din punct de vedere social, hepatitele virale și toxice reprezintă o problemă destul de actuală pentru Republica Moldova. Actualmente, a crescut evident numărul de pacienți, care suferă de hepatita virală C și doar o mică parte dintre pacienți pot beneficia de un tratament specific [1].

Din aceste considerente, elaborarea unor noi preparate cu acțiune hepatoprotectoare, inclusiv cele de origine naturală, este o direcție destul de actuală, având scopul de a completa arsenalul existent de remedii medicamentoase

În ultimii ani o atenție deosebită se acordă preparatelor de origine entomologică care, datorită componenței lor complexe și variate, pot dezvolta efecte hepatoprotectoare, imunomodulatoare, antiinflamatoare și antioxidante.

Funcționarea sistemului imun este controlată la diverse niveluri. Un rol aparte în reglarea imună revine ficatului, importanța căruia a fost apreciată abia cu 30 de ani în urmă, când s-a studiat dezvoltarea liniei limfocitare la făt. Astfel, s-a observat că ficatul este responsabil de geneza limfocitelor B, adică de coordonarea imunității umorale și de maturarea celulelor implicate în imunitatea celulară, adică a limfocitelor T. S-a demonstrat implicarea directă a ficatului în dezvoltarea antenatală a fenomenului de toleranță imună [2, 3].

După Knolle și coaut. (2000), rolul imunologic al ficatului este determinat de celulele endoteliului sinusoidal (CES), limfocitele, celulele Cawper (CC), celulele presinusoidale, celulele dendritice, hepatice și ale epiteliului biliar. CES sunt

primele celule care intră în contact cu antigenii ajunși în ficat prin fluxul sangvin, după care urmează interacțiunea între antigeni și CC. Ambele grupe de celule elimină antigenii prin endocitoză și prin fagocitoză. CES are și un rol major în clearance-ul macromoleculilor, prin producerea de prostanoii endogeni (prostaglandina E₂) [5].

În hepatitele cronice active B, asociate cu superinfecțiile delta și cu hepatita cronică activă C, s-a observat tendința spre declanșarea procesului autoimun, cu inhibarea imunității celulare [4, 6, 8].

Alterări imune induse de afecțiunile hepatice se observă și în hepatita toxică experimentală, indusă prin paracetamol la șoricea, în care apare o reducere a formării de anticorpi, fapt considerat răspuns primar la acțiunea hepatotoxicului [9].

Modificările biochimice și histopatologice cauzate de dozele subtoxice sau toxice ale paracetamolului corelează cu devieri importante ale unor substanțe biologice active care modulează statusul imun. S-a dovedit că hepatotoxicul, în cazul dat paracetamolul, provoacă o producție masivă a factorului α-tumoral (TNF α) în ficat [7, 8]. Injectarea intraperitoneală a paracetamolului la șoricea a contribuit la reducerea producției anticorpilor de T-celule și la supresia blastogenezei timocitelor, ceea ce denotă că inhibarea imunității umorale și celulare are loc la dozele acetamenofenului ce provoacă leziuni hepatice corelate cu hiperfermentemia [10].

Hepatotoxicitatea cauzată de paracetamol corelează cu creșterea cantității de interleuchină 8, apogeul cărora precede cel al transaminazelor.

Material și metode

Determinarea influenței Imupurin-ului asupra evoluției afecțiunilor toxice experimentale induse prin paracetamol s-a efectuat pe 33 de șobolani albi masculi, cu masa de 160–220 g, care au fost divizați în 5 loturi a câte 6–7 animale. Primul lot a servit drept lot intact.

În prima zi de studiu, loturilor 2-5 li s-a administrat paracetamol unimomentan intraperitoneal, în doză de 500 mg/kg. Loturile 2 și 4 au servit drept lot de control (fără administrarea Imupurin-ului), cu cercetarea parametrilor biochimici la a 8-a și la a 15-a zi de la administrarea hepatotoxicului. Loturile 3 și 5 au fost tratate cu imupurin în doză de 500 mg/kg intern, timp de 7 și 14 zile:

- (lotul 1 – lotul intact;
- lotul 2 – paracetamol 500 mg/kg în doză unică, cu examinarea în a 8-a zi;
- lotul 3 – paracetamol 500 mg/kg + Imupurin 500 mg/kg, timp de 7 zile;
- lotul 4 – paracetamol 500 mg/kg în doză unică, cu examinarea în a 15-a zi;
- lotul 5 – paracetamol 500 mg/kg în doză unică + Imupurin 500 mg/kg intern, timp de 14 zile).

La 8-a și la a 15-a zi toate animalele au fost eutanazate, iar sângele colectat pentru determinarea parametrilor biochimici (glucoză, colesterol, proteine totale, AsAT, ALAT, LDH).

Studiile clinice au fost efectuate pe pacienții cu hepatite virale B și C, în corespundere cu planul preliminar de randomizare ca studiu clinic de faza a III-a.

Pacienții din grupul experimental au luat câte 2 capsule de Imupurin a câte 150 mg zilnic, administrate o dată pe zi cu 2 ore după cină, timp de 2 luni.

Studiul a fost efectuat fără placebo și fără preparatul de comparație.

Rezultate și discuții

La administrarea unimomentană a paracetamolului la a 8-a zi se constata o creștere de 2 ori a nivelului ALAT și de 2,6 ori a nivelului de AsAT (tab. 1). La a 15-a zi după injectarea hepatotoxicului, activitatea transaminazelor era semnificativ mai mare decât la animalele intacte, dar manifesta o tendință de diminuare față de șobolanii de la a 8-a zi.

La animalele, cărora li s-a administrat Imupurin în doză de 500 mg/kg pe parcursul a 7 zile, s-a determinat o diminuare neesențială a activității AsAT – de la $325,0 \pm 34,9$ până la $314,6 \pm 19,2$ u/L ($p > 0,05$). În termenele studiate după administrarea preparatului entomologic, s-a depistat o tendință de micșorare și a altei transaminaze -ALAT – de la $150,7 \pm 19,4$ până la $124,0 \pm 9,1$ u/L ($p > 0,05$) (fig. 1, tab. 1).

La a 15-a zi după injectarea intraperitoneal a paracetamolului în doză unică activitatea AsAT și ALAT în ser era majorată față de animalele intacte, dar se constata o reducere neesențială a activității transaminazelor față de șobolanii după administrarea hepatotoxicului la a 7 zi. La animalele tratate cu Imupurin timp de 2 săptămâni s-a determinat o scădere mai progresivă a activității atât AsAT, cât și ALAT față de lotul de control, la a 15-a zi, și care se apropia de nivelul lotului intact (tab. 1). Concomitent s-a constatat și o micșorare a nivelului de AsAT de la $314,6 \pm 19,2$ până la $183,3 \pm 11,9$ u/L și ALAT – de la $124,0 \pm 9,1$ până la $86,3 \pm 4,7$ u/L față de administrarea preparatului timp de 7 zile ($p < 0,05$). Reieșind din faptul că transaminazele reflectă starea permeabilității membranare și se consideră ca markeri ai sindromului de citoliză, putem afirma că, în cazul administrării intraperitoneale unimomentane a paracetamolului, are loc o afectare toxică a hepatocitelor, cu o manifestare mai intensă la a 7-a zi și cu o tendință de restabilire după 14 zile. Preparatul entomologic reduce nivelul transaminazelor, cu o diminuare

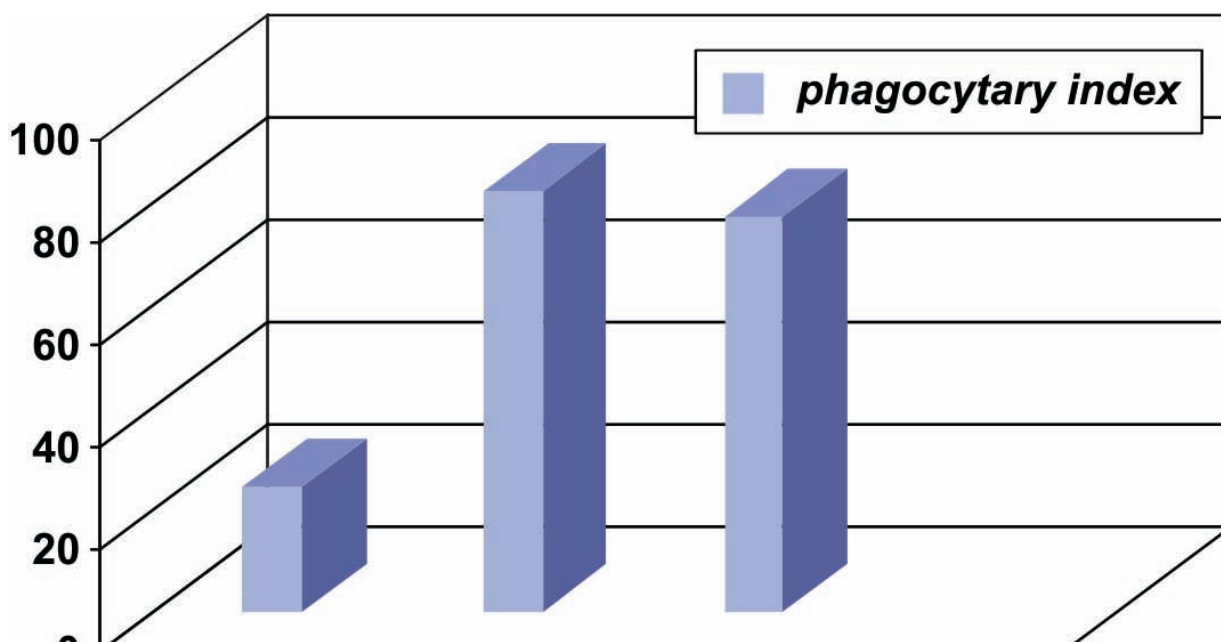


Fig. 1. Acțiunea Imupurin-ului asupra activității transaminazelor (AsAT, ALAT) în ser la șobolani, în hepatita toxică experimentală cu paracetamol.

Influența Imupurin-ului asupra activității AsAT, AIAT și LDH în ser la șobolani, în hepatita toxică experimentală cu paracetamol

Preparatele și doza	Nr. de animale	AsAT (u/L)	AIAT (u/L)	LDH (u/L)
1. Lotul intact	7	164,2 ± 10,9	56,7 ± 2,8	1710 ± 125,6
2. Paracetamol 500 mg/kg unimomentan, peste 7 zile	6	325,0 ± 34,9 P ₁₋₂ <0,05	150,7 ± 19,4 P ₁₋₂ <0,05	1737,0 ± 168,6 P ₁₋₂ >0,05
3. Paracetamol 500 mg/kg + Imupurin 500 mg/kg, 7 zile	7	314,6 ± 19,2 P ₁₋₃ <0,05 P ₂₋₃ >0,05	124,0 ± 9,1 P ₁₋₃ <0,05 P ₂₋₃ >0,05	1979,0 ± 107,1 P ₁₋₃ >0,05 P ₂₋₃ >0,05
4. Paracetamol 500 mg/kg unimomentan, peste 14 zile	6	314,6 ± 28,6 P ₁₋₄ <0,05 P ₂₋₄ >0,05	114,5 ± 7,9 P ₁₋₃ <0,05 P ₂₋₃ >0,05	1729,7 ± 137,5 P ₁₋₃ >0,05 P ₂₋₃ >0,05
5. Paracetamol 500 mg/kg + Imupurin 500 mg/kg, 14 zile	7	183,3 ± 11,9 P ₁₋₅ >0,05 P ₃₋₅ <0,05 P ₄₋₅ >0,05	86,3 ± 4,7 P ₁₋₅ >0,05 P ₃₋₅ <0,05 P ₄₋₅ <0,05	1351,8 ± 181,3 P ₁₋₅ >0,05 P ₃₋₅ <0,05 P ₄₋₅ >0,05

mai accentuată a hiperfermentemiei după 14 zile de tratament. E necesar de menționat că s-a depistat o micșorare a activității AsAT și AIAT proporțională cu durata utilizării Imupurin-ului. Prin urmare, putem concluziona că Imupurin-ul nu previne afectarea hepatocitelor, dar contribuie la restabilirea mai rapidă a funcțiilor lor.

La determinarea activității lactatdehidrogenazei în ser s-a constatat că, la animalele din loturile de control, atât după 7, cât și după 14 zile, activitatea enzimei nu suportă modificări esențiale (fig. 2).

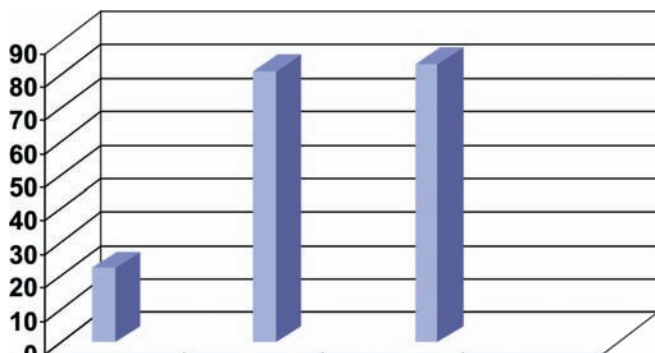


Fig. 2. Acțiunea Imupurin-ului asupra activității lactatdehidrogenazei în ser la șobolani, în hepatita toxică experimentală cu paracetamol.

La administrarea Imupurin-ului timp de 7 zile după injectarea unimomentană a paracetamolului, conținutul LDH în ser a crescut de la 1710,0±125,6 până la 1979,0 ± 107,1 u/L ($p > 0,05$). În același timp, la utilizarea Imupurin-ului pe parcursul a 14 zile s-a depistat o reducere semnificativă a activității LDH față de lotul de control și animalele ce au ingerat Imupurin timp de 7 zile (tab. 1). Probabil, efectele constatate sunt determinate de

polimorfismul LDH (eritrocitare, miocardiale, hepatice), precum și de perturbările metabolice ce au loc la acțiunea paracetamolului.

Posibil, Imupurin-ul induce o activitate mai mare a LDH prin necesitatea modificării raportului piruvatului și lactatului pentru o funcționare mai adecvată a hepatocitelor în condițiile dezechilibrului energetic și metabolic în primele 7 zile de la acțiunea hepatotoxicului, urmând ca ulterior aceste momente să revină la valorile adecvate.

S-a determinat evoluția tabloului clinic și modificările apărute pe fundal de tratament cu Imupurin. Inițial, simptomatologia clinică a fost săracă, persistând doar dureri în rebordul costal drept la 4 pacienți din 7, slăbiciune generală – la 3. După trei luni de tratament simptomele au dispărut complet. Hepato- și splenomegalia a fost depistată la toți pacienții de la 1 cm până la 6 cm mai jos de rebordul costal.

După administrarea preparatului entomologic s-a observat o micșorare în volum a ficatului și a splinei. La 4 pacienți ficatul se palpa de la rebord, iar la 2 pacienți – splina s-a micșorat până la rebordul costal.

Tabelul 2

Manifestările clinice la pacienții cu hepatite cronice

Sindroamele și simptomele clinice	Lotul de bază (n = 20)		Lotul martor (n = 20)	
	Inițial	După tratament	Inițial	După tratament
Sindromul astenoneurotic	17 (85%)	11 (64,7%)	12 (60%)	6 (50%)
Sindromul algic	13 (65%)	9 (60%)	20 (100%)	12 (60%)
Sindromul dispeptic	15 (75%)	8 (53,5%)	15 (75%)	6 (45,5%)

La începutul tratamentului cu Imupurin, la pacienți erau prezente următoarele simptome: astenoneurotic, manifestat prin fatigabilitate, amețeli, labilitate emoțională; dereglări ale ritmului de somn, constatat la 17 pacienți (85%); dureri sub rebordul costal drept – 13 (65%); sindrom dispeptic, depistat la 15 persoane (75%) și hepatomegalia detectată la 18 pacienți (90%). În urma tratamentului cu Imupurin s-a observat, că sindromul astenovegetativ a dispărut la 11 pacienți, ceea ce a constituit 64,7%. În lotul martor, sindromul astenovegetativ a regresat în 50% din cazuri (6 din 12). Sindromul algic s-a diminuat la 9 pacienți din 13, pe când, în lotul de control acest indice a reprezentat 60% (12/20); simptomul dispeptic s-a micșorat la 53,3% (8 din 15) pacienți, în grupul de control – 45,5% (6 din 11) (tab. 2).

La cercetarea indicilor biochimici s-a relevat că, pe parcursul a 4-5 săptămâni, s-au micșorat manifest aminotransaminazele (AlAT, AsAT), bilirubina, fapt neatestat în lotul martor (tab. 3).

Activitatea transaminazelor a revenit la normal în 85% din cazuri către finele tratamentului. În lotul martor normalizarea acestor indici a fost semnalată în numai 45% din cazuri.

La pacienții din lotul de bază a avut loc normalizarea bilirubinei (de la $62,5 \pm 0,5$ până la $31,4 \pm 0,3$ mmol/l), pe când în lotul martor nivelul bilirubinei s-a menținut ridicat (tab. 3).

Concentrația creatininei nu suportă schimbări manifeste, demonstrând o tendință de micșorare sub acțiunea Imupurin-ului (de la $90,0 \pm 2,4$ la $85,5 \pm 3,5$ mmol/l) ($p > 0,1$).

Pe parcursul tratamentului cu Imupurin s-a determinat ameliorarea verigii celulare a sistemului imun:

- Creșterea T- limfocitelor de la $53,0 \pm 0,3\%$ până la $62,0 \pm 0,2\%$, $p < 0,001$.
- Creșterea raportului T helperi/T supresori de la $25,5 \pm 0,2$ până la $38,0 \pm 0,1\%$, $p < 0,001$.
- Creșterea T – limfocitelor citotoxice de la $18,5 \pm 0,3$ până la $25,0 \pm 0,3\%$, $p < 0,001$.
- Creșterea B-limfocitelor de la $11,5 \pm 0,2$ până la $18,5 \pm 0,1\%$, $< 0,001$.

Pe parcursul tratamentului s-a determinat micșorarea indicilor imunității humorale la pacienții la care li s-a administrat Imupurin. Conținutul Ig G în sânge a scăzut cu 20%, IgM – cu 25%, în lotul martor – cu 9 și cu 8%, corespunzător.

Datele obținute permit să afirmăm că Imupurin-ul manifestă o acțiune benefică asupra funcției hepatice. Toleranța Imupurin-ului a fost bună, efecte adverse nu au fost semnalate.

Studiile clinice ale Imupurin-ului au evidențiat eficacitatea utilizării preparatului dat în practica medicală și a permis studierea lui de mai departe. În prezent preparatul entomologic Imupurin este accesibil pentru pacienți, ca preparat cu proprietăți imunomodulatoare și hepatoprotectoare.

Concluzii

1. Imupurin-ul a demonstrat o acțiune hepatoprotectoare marcantă prin micșorarea activității transaminazelor (AlAT, AsAT) și corecția proceselor metabolice în ficat.

2. Utilizarea clinică a Imupurin-ului în tratamentul complex al hepatitelor cronice a permis obținerea efectelor benefice în manifestările clinice și paraclinice, cu normalizarea imunității celulare și umorale, anihilarea sindroamelor citolitice, colestatice și hepatodepresive.

3. Imupurin-ul posedă anumite proprietăți imunomodulatoare, manifestate prin normalizarea indicilor imunității celulare și umorale (normalizarea numărului de limfocite totale și a indicelui de imunoreglare, normalizarea limfocitelor TFS și TFR și a subpopulațiilor limfocitare.

4. Inofensivitatea preparatului, eficacitatea respectivă, toleranța bună vor contribui la optimizarea tratamentului farmacoterapeutic al multor afecțiuni hepatice.

Bibliografie

1. Dumbrava V. Hepatologia bazată pe dovezi; Ghid practic, Chișinău, 2004, p. 109-129.
2. Mehai W. Y., Ayyaroli F., Crispe I. N. Immunology of the healthy liver: old question and new insights. Gastroenterology, 2001; 120: 250-260.
3. Vuitton D., Trepo C., Eloz R. Foie et immunite. Gastroenterol Clin. Biol., 1977; 1: 799-820.
4. Mezer yum Buschenfelde K. H., Gerken G. Immune mechanisms in the production of liver diseases. In: Zakim D. / Bozer T. D. (eds). Hepatology. A Textbook of Liver Disease, 4 th Ed, vol II, Philadelphia: Saunders, 2003: 1127-1161.
5. Knolle P. A., Gerken G. Local control of the immune response in the liver, Immunol. Rev., 2000; 174: 21-34.
6. Pădure G., Rusu Z. Tulburări imunologice în hepatita virală. Materialele I conferințe științifice naționale a imunologilor și alergologilor. Chișinău, 1996, p. 44.
7. Yamaura K. et al. „Inhibition of the antibody production by acetaminophen independent of liver injury in mice.” Biol. Pharm. Bull., 2002 Feb; 25: 201-205.
8. Chiu H. et al. „Role of tumor necrosis factor receptor 1 (p55) in hepatocyte proliferation during acetaminophen-induced toxicity in mice.” Toxicol. Appl. Pharmacol., 2003 Dec 1; 193(2): 218-227.
9. Garder C. R. et al. Reduced hepatotoxicity of acetaminophen in mice lacking inducible nitric oxide synthase: potential role of tumor necrosis factor-alfa and interleukin-10. toxicol. Appl. Pharmacol., 2002 oct 1; 184 (1): 27-36.
10. Chiu H. et al. Role of tumor necrosis factor receptor 1 (p55) in hepatocyte proliferation during acetaminophen-induced toxicity in mice. Toxicol. Appl. Pharmacol., 2003 Dec 1; 193(2): 218-227.

Ina Pogonea, asistent universitar
Catedra Farmacologie și Farmacologie clinică
USMF „Nicolae Testemițanu”
Chișinău, 2025, str. N. Testemițanu, 27
Republica Moldova
Tel.: 205413
E-mail: pogonea_ina@mail.md

Recepționat 16.04.2009