

ЕФЕКТИ АСПИРИНА И ТИКЛОПИДИНА НА ПОКАЗАТЕЉЕ ЈЕТРИНЕ ФУНКЦИЈЕ ПАЦОВА

Станојевић З., Митић Р., Букумирић З., Бурсаћ М., Башчаревић С., Рашић Ј.

Институт за фармакологију са токсикологијом, Медицински факултет Приштина, Косовска Митровица

THE EFFECT OF ASPIRIN AND TICLOPIDINE ON LIVER FUNCTION TEST IN RATS

Станојевић З., Митић Р., Букумирић З., Бурсаћ М., Башчаревић С., Рашић Ј.

Institute of Pharmacology and toxicology, Medical faculty Priština, Kosovska Mitrovica

SUMMARY

The purpose of this study was to evaluate the effect of aspirin and ticlopidine, administered alone and in combination, on liver function parameters. The experiment was conducted on white laboratory rats, type Wistar. Thirty-two rats were divided in four groups and they received one of the following treatments for 4 days: group I, control, saline (1 ml/kg, i.p.); group II, aspirin (50 mg/kg/day i.p.); group III, ticlopidine (125 mg/kg/day i.p.) and group IV, aspirin+ticlopidine combination (50 mg/kg/day+125 mg/kg/day i.p.). After the treatment the animals were anaesthetised with ether and blood for further analyses was taken by cardiopunction. The total cholesterol serum level was significantly increased only in ticlopidine group in comparison to control ($p<0.01$). Also, the serum activity of alkaline phosphatase and total bilirubin concentration were significantly elevated only in ticlopidine treated group ($p<0.001$). Serum AST and ALT activities were not significantly elevated in all treating groups. On basis of the obtained results it can be noticed that the values of liver function parameters are greater in group treated with ticlopidine than in group treated with ticlopidine and aspirin combination.

Key words: Aspirin, Ticlopidine, Liver function parameters, Rats.

САЖЕТАК

Циљ овог рада је био да испитамо ефекте аспирина и тиклопидина, апликованих појединачно и у комбинацији на показатеље јетрине функције. Испитивање је спроведено на белим лабораторијским пацовима соја Wistar. Употребљене су 32 животиње, подељене у четири групе. Свака група је добијала одговарајуће дозе испитиваних супстанци континуирано током четири дана: I - контролна група, физиолошки раствор (1 ml/kg, i.p.); II - група, аспирин (50 mg/kg i.p.); III - група, тиклопидин (125 mg/kg i.p.) и IV - група, комбинацију аспирин+тиклопидин (50 mg/kg+125 mg/kg i.p.). Након последње апликације испитиваних супстанци животиње су подвргнуте етарској наркози. Узорци крви узети су кардиопункцијом. Концентрација укупног холестерола у серуму пацова третираних тиклопидином била је статистички значајно повећана у односу на контролну групу ($p<0.01$). Активност алкалне фосфатазе и концентрација укупног билирубина у серуму пацова третираних тиклопидином биле су такође статистички значајно повећане у односу на контролну групу ($p<0.001$). Активност серумских трансминаза (AST и ALT) није била статистички значајно различита код свих третираних група животиња. На основу добијених резултата може се уочити да су вредности показатеља јетрине функције биле веће код пацова третираних тиклопидином у односу на групу која је добијала комбинацију аспирина + тиклопидина.

Кључне речи: Аспирин, Тиклопидин, Показатељи јетрине функције, Пацови.

УВОД

Аспирин и тиклопидин су врло ефикасни анти-агрегациони лекови у болесника са исхемијским обољењима срца и цереброваскуларним обољењима (1,2,3,4). Многобројна истраживања показала су да аспирин умерено смањује ризик на збирну појаву možданог удара, инфаркта срца и изненадну срчану смрт за 18%, с тим да се позитивни ефекти аспирина испољавају и на сваки појединачни ентитет (5,6,7). Ефикасност тиклопидина је такође доказана у више великих клиничких студија, и слична је аспирину. У експериментално произведеној тромбози тиклопидин је показао много јачи ефект него аспирин. У компаративним клиничким студијама, они су били једнаки, или је тиклопидин био нешто мало ефикаснији (8). Према налазима Mishela и сар. (1999), при-

мена тиклопидина у комбинацији са аспирином код 361-ог болесника, после уградње коронарног стента, била је изванредно ефикасна у спречавању компликација тромбозе или других већих кардиоваскуларних догађаја (9).

Иако се терапија аспирином и тиклопидином показала као врло захвална у терапији претходно наведених стања, као и свака друга терапија, и она за собом повлачи одређене ризике и појаву доказаних нежељених дејстава.

Бројни литературни подаци (10,11,12) указују на могућу хепатотоксичност тиклопидина. Механизам којим тиклопидин доводи до оштећења јетре још увек није познат. Сазнања да је холестаза праћена молеку-

ларним променама у базолатералном и каналикуларном транспортном систему јетре захтевају даља истраживања (13). На могућу укљученост имунолошких механизма указује присуство ткивне еозинофилије, лимфоцитне инфилтрације у перипораталном простору, грануломатозни хепатитис (14). Међутим, резултати истраживања код пацова показала су да холестаза изазвана тиклопидином настаје као резултат директног токсичног деловања самог лека или његових метаболита, а не реакцијама преосетљивости (15). Аспирин, такође, може да изазове оштећење јетре, али обично када су дневне дозе лека веће од 2 грама и када је концентрација лека у плазми изнад терапијских (15-30 mg/dl) (16).

Током мултицентричне CATS студије, учесталост поремећаја у тестовима јетрине функције код пацијената који су добијали тиклопидин износила је око 4,4% у односу на 1,5% пацијената плацебо групе. Оштећење јетре типа холестазе је било заступљено око 75%, хепатоцелуларног типа 16,6% и мешовито 8,3% (17). У поређењу са аспирином (2%), током трогодишње студије код 3069 пацијената са транзиторном фокалном церебралном или ретиналном исхемијом, тиклопидин је повећао концентрацију укупног холестерола у крви за 9% (3).

ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Циљ рада је да се испитају токсични ефекти аспирина и тиклопидина понаособ и у комбинацији, праћењем биохемијских варијабли у односу на контролну групу.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

У огледу су коришћени бели лабораторијски пацови, мушког пола, соја Wistar, телесне масе 222-265 грама и старости 2-3 месеца. Пацови су били из окота узгојених на фарми лабораторијских животиња VMA у Београду.

На Институту за фармакологију и токсикологију Медицинског факултета - Приштина, са седиштем у Крушевцу, боравиле су најмање седам дана пре почетка огледа. Животиње су биле смештене у просторији која је проветравана више пута у току дана и осветљавана 14 сати дневно. Током целог дана животиње су имале слободан приступ води и храни.

За реализовање постављеног циља употребљене су 32 животиње, подељене у четири групе. Животиње су добијале одговарајуће дозе испитиваних супстанци једном дневно, континуирано током четири дана. Дозе употребљених супстанци утврђене су Слагс-овом формулом, као и на основу досадашњих публикованих података са сличним истраживањима (18,19,20).

I- Контролна група третирана је физиолошким раствором (1 ml/kg i.p.).

II- Група третирана је аспирином (50 mg/kg i.p.).

III- Група третирана је тиклопидином (125 mg/kg i.p.).

IV- Група третирана је комбинацијом аспирина (50 mg/kg i.p.) + тиклопидин (125 mg/kg i.p.), апликованих засебно.

Аспирин и тиклопидин су претходно растворени у физиолошком раствору. Нови раствори прављени су свакодневно.

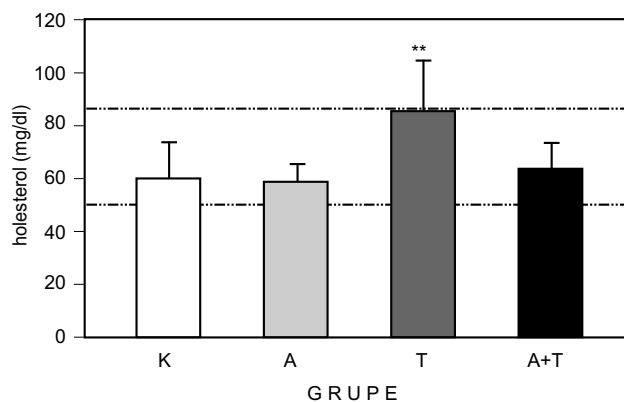
Након последње апликације лекова, по унапред утврђеном протоколу, животиње су подвргнуте анестезији. За анестезију је коришћен етар. Узорци крви узети су кардио-пункцијом. Узета крв је одмах центрифугирана, серуми замрзнути, а биохемијске анализе (укупни холестерол, укупни билирубин, активност алкалне фосфатазе, AST и ALT) рађене накондано.

Биохемијске варијабли су одређиване по референтним методама опште прихваћеним у клиничкој и експерименталној медицини.

За обраду добијених резултата коришћена је стандардна статистичка метода (Student t-test за мале и независне узорке).

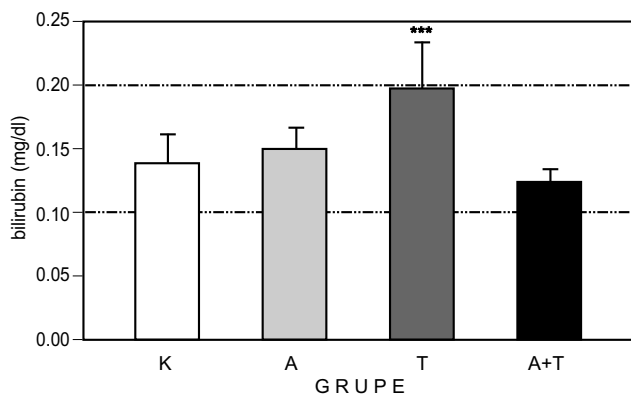
РЕЗУЛТАТИ

Концентрација укупног холестерола у серуму пацова третираних аспирином (50 mg/kg i.p.) није била статистички значајно различита у односу на контролну групу. Међутим, код животиња третираних тиклопидином (125 mg/kg i.p.) забележено је статистички значајно повећање концентрације укупног холестерола у односу на контролну групу ($p < 0.01$). Комбинована примена аспирина и тиклопидина (50 mg/kg + 125 mg/kg) није испољила статистички значајно повећање концентрације укупног холестерола у серуму пацова. (Графикон 1)

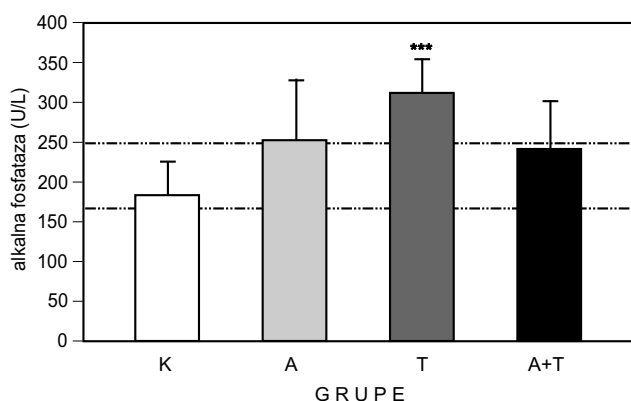


Графикон 1. - Концентрација укупног холестерола у серуму пацова

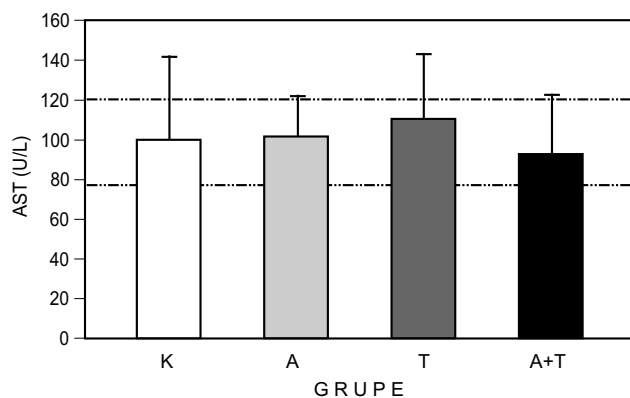
Одређивањем концентрације укупног билирубина и активности алкалне фосфатазе у серуму пацова добијени су слични резултати. Аспирин није испољило значајне ефекте у смислу повећања концентрације укупног билирубина и активности алкалне фосфатазе у серуму пацова. Код пацова третираних тиклопидином забележено је статистички значајно повећање концентрације укупног билирубина и активности алкалне фосфатазе у односу на контролну групу ($p < 0.001$). Комбинована примена аспирина и тиклопидина није испољила значајне ефекте у смислу повећања концентрације укупног билирубина и активности алкалне фосфатазе у серуму пацова. (Графикони 2 и 3)



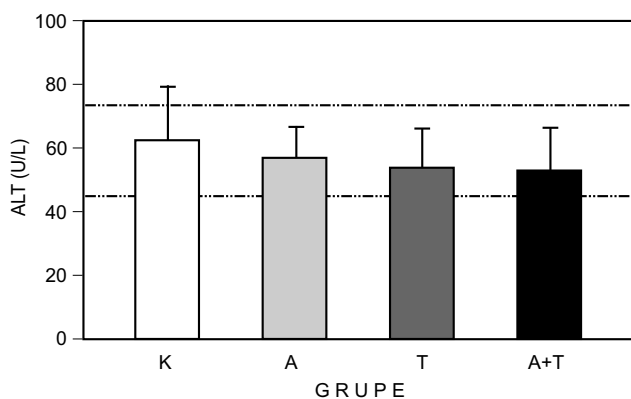
Графикон 2. - Концентрација укупног билирубина у серуму пацова



Графикон 3. - Активност алкалне фосфатазе у серуму пацова



Графикон 4. - Активност AST у серуму пацова



Графикон 5. - Активност ALT у серуму пацова

Активност серумских трансминаза: аспартат-аминотрансферазе (AST, раније SGOT) и аланин-амино-трансферазе (ALT, раније SGPT) код пацова третираних аспирином, тиклопидином и њиховом комбинацијом није била статистички значајно различита у односу на активност забележену код контролне групе. (Графикони 4 и 5)

ДИСКУСИЈА

Резултати досадашњих истраживања, Grim-a и сар. (1994), Alvара и сар. (1994), Cassidy-a и сар. (1995), Iqbal-a и сар. (1998), Tsai-a и сар. (2000), Tsui-a и сар. (2002) указују на значајну повезаност тиклопидина са холестазаом јетре.

Анализом добијених вредности, може се уочити да четвородневна интраперитонеална апликација тиклопидина остварује значајне ефекте у смислу повећања вредности холестерола, укупног билирубина и активности алкалне фосфатазе (показатељи холестазе) у серуму пацова. Међутим, иако у научној литератури готово и да нема података о ефектима комбиноване примене тиклопидина и аспирина на показатеље јетрине функције, неочекивано је да, у комбинацији са аспирином, тиклопидин није испољио значајне ефекте у смислу повећања вредности холестерола, укупног билирубина и активности алкалне фосфатазе. Активност серумских трансминаза AST и ALT (показатељи цитоллизе), након појединачне и комбиноване примене аспирина и тиклопидина, није била значајно промењена.

Имајући у виду велики значај примене антиагрегационих лекова у профилакси настајања атеросклеротичних и тромботичних оштећења крвних судова, као и чињеницу да су заштитни ефекти досадашњих стратегија свега 20%, даља истраживања би требала да буду усмерена и у правцу изналажења потенцијалних комбинација лекова. Тиме би се можда нашла одговарајућа заштита за садашњих 80% пацијената код којих примена стандардних антиагрегационих лекова остаје без резултата.

ЗАКЉУЧАК

На основу добијених резултата могу се извести следећи закључци:

- Тиклопидин је, након четвородневне апликације, значајно повећао концентрацију укупног холестерола, укупног билирубина и активност алкалне фосфатазе у серуму пацова. У комбинацији са аспирином овај ефекат је изостао.

- Појединачна и комбинована четвородневна апликација тиклопидина и аспирина не испољава значајне ефекте на кретање активности серумских трансминаза (AST и ALT).

ЛИТЕРАТУРА

1. Antiplatelet et Trialists Collaboration. Colaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy., Prevention of death., miocardial infarction and stroke by prolongation antiplatelet therapy in various categories of patients. Br. Med. J. 1994; 308:81-106.

2. Patrono C.: Drug Therapy: Aspirin as an antiplatelet drug. *N Engl J Med* 1994; 330:1287-94.
3. Hass W.K., Easton J.D., Adams H.P., Jr., Pryse P.W., Molony B.A., Anderson S., Kamm B.: A randomized trial comparing ticlopidine hydrochloride with aspirin for the prevention of stroke in high-risk patients. Ticlopidine Aspirin Stroke Study Group. *N Engl J Med* 1989; 321:501-507.
4. Gent M., Blacely J., Easton J.: The Canadian American Ticlopidine Study in thromboembolic stroke. *Lancet* 1989; 1215-20.
5. Warlow C.: Aspirin should be first-line antiplatelet therapy in the secondary prevention of stroke. *Stroke* 2002; 33:2137-8.
6. Diener H.C.: Aspirin therapy should be first-line treatment in secondary prevention of stroke-against. *Stroke* 2002; 33:2138-9.
7. Donnan G.A., Davis S.M.: Aspirin therapy should be first-line. *Stroke* 2002; 33:2139-40.
8. Kažić T.: Farmakologija. Klinička farmakologija. Treće izdanje. Integra. Beograd 2003; 231-4.
9. Bošković B.: Novosti u terapiji. Pregled literature o lekovima za 2000 godinu. VMA. Institut za naučne informacije. Informativni bilten 2001.
10. Skurnik Y.D., Tcherniak A., Edlan K., Sthoeger Z.: Ticlopidine induced cholestatic hepatitis. *Ann Pharmacother* 2003; 37(3): 371-5.
11. Varvello L., Arno C., Coggiola M., Ramassotto E., Pascale C.: Cholestasis from ticlopidine: two clinical cases. *Ann Ital Med Int* 2002; 17(4):252-5.
12. Placci A., Melandri G., Ceciloni L., Valgimigli M., Bolondi L., Branzi A.: Late-appearing cholesta-tic icterus after a month of treatment with ticlopidine. *Ital Heart J* 2001; 2(11):1240-2.
13. Trauner M., Meier P.J., Boyer J.L.: Molecular pathogenesis of cholestasis. *N Engl J Med* 1998; 339:1217-27.
14. Valverde P.R.: Ticlopidine-induced granulomatous hepatitis. *Ann Pharmacother* 1995; 29: 633.
15. Alvaro D., Gigliozzi A., Gaudio E et al.: Ticlopidine-induced cholestasis: reported of two cases and experimental evidence of the drugs adverse effect in isolated perfused rat liver. *Eur J Gas-troenterol Hepatol* 1994; 6: 943-50.
16. Freeland G.R., Northington R.S., Hedrich D.A. et al.: Hepatic safety of two analgesics used over the counter: ibuprofen and aspirin. *Clin Pharmacol Ther* 1988; 43:473-9.
17. Tsai M.H., Tsai S.L., Chen T.C., Liaw Y.F.: Ticlopidine-induced cholestatic hepatitis with antinuclear antibody in serum. *J Formos Med Assoc* 2000; 99(11):866-9.
18. Suehiro A., Oura Y., Meda M., Kakishita E.: Correlation between bleeding time and antithrombotic effects of platelet-suppressive agents in rat experimental model. *Res Comm Chem Pathol Pharmacol* 1994; 83(2):157-63.
19. Belougne Malfatti E., Aquejof O., Doutremepuich F., Belon P., Doutremepuich C.: Combination of two doses of acetyl acid: experimental study of arterial thrombosis. *Thrombosis Research*. 1998; 90(5):215-21.
20. Gregorini L., Marco J., Fajadet J.: Ticlopidine and acetylsalicylic acid pretreatment reduce coagulation and platelet activation during coronary dilatation procedures. *J Am Coll Cardiol*. 1997; 28.