

Studio ultrastrutturale epatico in conigli trattati con diclofenac

L. Butturini* / L. Boiardi* / I. Menozzi* / S. Bernardi* / G. Restori* / G. Martines*

RIASSUNTO

In considerazione del riscontro, in Letteratura, di alterazioni degli indici di funzionalità epatica, e di alcuni casi di epatite acuta imputabili all'uso dell'antiinfiammatorio non steroideo diclofenac sodico, è stato intrapreso uno studio sperimentale sottoponendo 8 conigli ad un trattamento di 14 giorni con diclofenac (15 mg/kg al giorno i.m.). Altrettanti animali sono stati considerati come controllo. La successiva analisi ultrastrutturale ha evidenziato i tipici segni della microcolestasi primaria e secondaria, indicando l'esistenza nell'animale da esperimento di un danno epatico subclinico da diclofenac. Questo rilievo, trasferito sul piano clinico, suggerisce particolare cautela nella somministrazione del farmaco, soprattutto nei pazienti epatopatici.

Introduzione

Il diclofenac sodico, farmaco antiinfiammatorio non steroideo derivato dall'acido fenilacetico, subisce una attiva biotrasformazione da parte del fegato, con formazione nell'uomo di metaboliti glucuronati, che successivamente vengono eliminati per via biliare (35 % ca¹) e renale.

Il fegato è pertanto una possibile sede degli effetti collaterali del diclofenac sodico, come annotano alcuni contributi della Letteratura.

In uno studio a lungo termine condotto su pazienti affetti da patologia artrosica, il monitoraggio degli indici di funzionalità epatica ha evidenziato in diversi casi una tendenza ad un innalzamento di ALT e AST, peraltro non oltre il limite massimo dei valori normali².

In un'altra esperienza clinica effettuata su una vasta casistica di pazienti³, fu possibile rilevare in notevole percentuale (60 %) di casi un innalzamento delle transaminasi, ma questo rilievo era solo in minima parte (11 su 426) di casi imputabile, a parere degli autori, al diclofenac stesso.

Si ricorda inoltre in Letteratura il caso di una epatite acuta da diclofenac documentata biotopicamente⁴, ed i 3 casi descritti da Morizane⁵ e Mizoguchi⁶, nei quali si è ipotizzata una patogenesi immunitaria (citotossicità).

La attuali conoscenze sul possibile danno epatico indotto da diclofenac e sulle alterazioni delle aree metaboliche epatocitarie sono scarse. Non vi pare vi sia notizia, infatti, di studi ultrastrutturali in trials clinici o in modelli sperimentali.

Questa sinossi introduttiva è la necessaria 'ratio' che ha supportato la realizzazione di un modello sperimentale, utilizzando il coniglio, il cui pattern di metabolizzazione e di eliminazione del diclofenac sodico è simile a quello dell'uomo, per quanto riguarda la quota-parte di escrezione biliare^{1, 7}.

Materiali e metodi

L'esperienza è stata condotta su 16 conigli leprati, dell'età di 3 mesi, del peso medio di 2,500 Kg (range 2,24-

2,81). Gli animali sono stati nutriti ad libitum con mangime MIL per tutta la durata della prova.

Gli animali sono stati successivamente assegnati con criterio casuale a 2 gruppi di pari numero: a 8 è stata somministrato diclofenac sodico i.m. alla dose di 15 mg/kg/die, e agli altri (considerati gruppo di controllo) è stato dato un placebo.

La quantità giornaliera di diclofenac è stata determinata moltiplicando per 5 (cioè il rapporto tra il tasso metabolico del coniglio e dell'uomo) la dose comunemente impiegata in terapia.

Dopo 14 giorni gli animali sono stati epatectomizzati previa anestesia. I frammenti di tessuto epatico prelevati sono stati prefissati per 2 ore in glutaraldeide al 2,5 % in tampone Millonig a pH 7,3-7,4, e successivamente fissati in soluzione all'1 % di osmio tetraossido, ed infine disidratati in acetone ed inclusi in Epon.

Le sezioni ultrasottili sono state allestite tramite ultramicrotomo LKB, contrastate con acetato di uranile e citrato di piombo sec. Reynolds, ed esaminate in microscopio elettronico Philips EM 300.

Risultati

Nei conigli di controllo l'indagine ultrastrutturale ha evidenziato una totale integrità delle aree metaboliche dell'epatocita.

Nei conigli trattati si sono invece osservati:

Polo biliare: a) dilatazione del canale biliare, con riduzione e anomalie morfologiche dei microvilli (vedi fig. 1);

* Cattedra di Terapia Medica Sistemica. Università degli Studi di Parma.

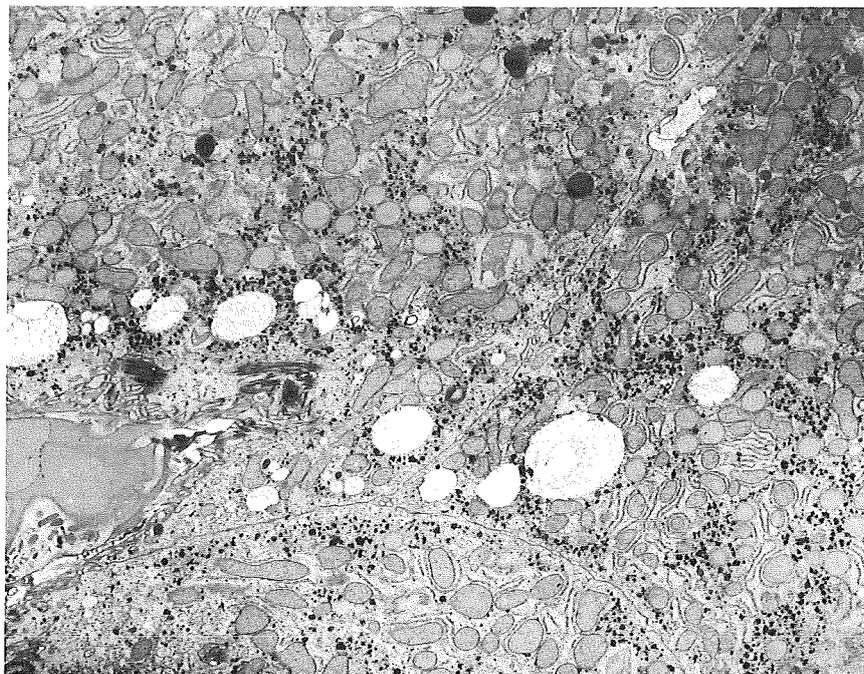


Fig. 1.—Fegato di coniglio trattato con diclofenac. Si noti l'aumento della quota lisosomiale, la dilatazione del canalicolo con alterazione dei microvilli. x 3.400.

b) lieve ispessimento edemigeno feltriforme del citoscheletro pericanalicolare (aspetto ultramicroscopico di una alterata disposizione dei microfilamenti e dei microtubuli);

Area del reticolo liscio: c) frequente presenza di micro-macro vescicole, anche in aggregati, confluenti ed in evoluzione, in assenza di segni di iperplasia del reticolo endoplasmatico liscio (Fig. 1);

d) diminuzione del glicogeno, a regolare morfologia;

Area del citoplasma: e) presenza di numerosi lisosomi secondari (Fig. 1);

f) depositi di pigmenti elettrondensi (ferritina, emosiderina) (Fig. 2);

g) diminuzione del numero dei ribosomi sia legati al reticolo rugoso che liberi (Fig. 1);

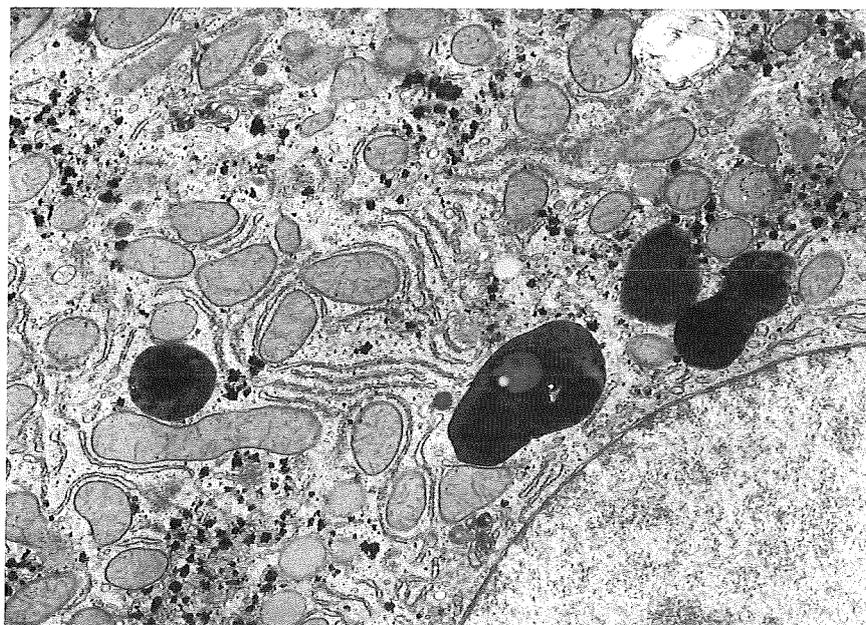


Fig. 2.—Fegato di coniglio trattato con diclofenac. Si notino le aggregazioni lipofuscinee e paralisosomiali in zona paranucleare; ed il calo del numero dei ribosomi liberi e aggregati. x 9.100.

Di sensibile normalità, l'aspetto del polo vascolare, del nucleo e dei mitocondri.

Discussione

I risultati dell'analisi ultrastrutturale suggeriscono l'esistenza di una microcolestasi primaria ed anche, in parte, secondaria⁸. Questo possibile indice di iatrogenicità epatica è il risultato dell'azione indotta del farmaco soprattutto a livello di alcuni 'pathways' metabolici deputati alla detossificazione. Fra questi si indicano la membrana canalicolare, le pompe sali-biliari dipendenti ed indipendenti⁹, ed il citoscheletro pericanalicolare, con lesione delle strutture miofilamentose contrattili.

L'indagine ultrastrutturale 'per se' permette di affermare con certezza che effettivamente una alterazione esiste, ma non rivela quale sia il primum movens fra le alterazioni osservate. Questo perché non vi sono dati 'in vitro' riguardanti gli intimi meccanismi biochimici della epatotossicità da diclofenac.

E' da notare piuttosto come in questo modello sperimentale il tempo di latenza della comparsa delle alterazioni, nonché la loro costante presenza negli animali trattati, suggeriscano la natura di una 'tossicità diretta' del farmaco, mentre gli sporadici rilievi di epatite nell'uomo sono stati attribuiti vuoi a cause idiosincrasiche⁴ o immunitarie, come prima menzionato. In ogni caso la natura delle alterazioni ultrastrutturali correla con quella delle epatiti umane da diclofenac sodico, in cui è stata notata una impronta colostatica⁴⁻⁶. Il rilievo infine¹⁰ dell'assenza di effetti collaterali additivi del diclofenac sodico in pazienti con insufficienza renale sembra suggerire che la molecola stessa, e non i suoi metaboliti idrossilati, sia la responsabile degli stessi.

Conclusioni

In conclusioni, questa ricerca afferma l'esistenza di un danno epato-canalicolare, estrinsecantesi in microcolestasi, in assenza di alterazioni obiettivamente rilevabili dello stato dell'animale (valutato attraverso peso corporeo, stato di idratazione, etc.) Questo tipo di alterazione subliminare, o disepatia¹¹, è stato riscontrato in modelli sperimentali analoghi in seguito a somministrazione di altri farmaci^{12, 13, 14}.

Pur tenendo conto dei limiti intrinseci del trasferimento analogico dall'animale all'uomo, questi risultati sug-

geriscono l'opportunità di un controllo periodico degli indici di funzionalità epatica in corso di terapia protratta con diclofenac, soprattutto nel caso di somministrazione a pazienti in cui l'indicazione al trattamento antiflogistico coesista con una epatopatia conclamata o latente, come nel caso, ad esempio, di numerose malattie autoimmuni (artrite reumatoide, L.E.S., dermatomiosite), oppure nel corso di trattamento di pazienti con epatopatie ad impronta colestatica.

Bibliografia

1. Greenslade D, Havler ME, Humphrey MJ, Jordan BJ e Rance JM. *Species differences in the metabolism and excretion of fenclofenac*. Xenobiotica 11: 421, 1981.
2. Miura T et al. *Long-term tolerability: study of Voltaren*. Journal of Internal Medicine Research 3: 145, 1975.
3. Ciccolunghi SN, Chaudri HA e Schubiger BI. *The value and results of long-term studies with diclofenac sodium*. Rheumatology and Rehabilitation (Suppl. 2): 100, 1979.
4. Dunk AA, Walt RP, Jenkins WS e Sherlock SS. *Diclofenac hepatitis*. British Medical Journal 284 (5): 6.329, 1982.
5. Morizane T. *Leucocyte migration inhibition induced by the combination of drug and a liver constituent in patients with drug-induced hepatitis*. Gastroenterologia Japonica 13 (4): 281, 1978.
6. Mizoguchi Y, Shiba T, Ohnishi F, Monna T, Yamamoto S, Otani S e Morisawa S. *Immunological studies on drug-induced allergic hepatitis. Hepatocellular injury by macrophage-mediate cytotoxicity*. Gastroenterologia Japonica 15 (1): 14, 1980.
7. Stierlin H e Faigle JW. *Biotransformation of diclofenac sodium (Voltaren) in animals and man. II. Quantitative determination of the unchanged drug and principal phenolic metabolites, in urine and bile*. Xenobiotica 9: 611, 1979.
8. Laschi R. *Patologia ultrastrutturale*. Ed. Compositori, Bologna 1980.
9. Schaffner F e Popper H. *Classification and mechanisms of Cholestasis* En "Liver and biliary disease". Editado por Wright R, Millward-Sadler GH, Alberti KGMM e Karran S. W. B. Saunders Company, 1985, pp. 359-386.
10. Stierlin H, Faigle JW e Colombi A. *Pharmacokinetics of diclofenac sodium and metabolism in patients with impaired renal function*. Scand J Rheum suppl. 22: 30, 1978.
11. Martines G. *Reportage ultrastrutturale sulle disepatie*. Ed. Bovolenta, Bologna 1981.
12. Arata G, Prandi G, Boiardi L, Marchionni E, Bucci MA e Martines G. *Terapia essenziale e rischio jatrogeno. La Sisomicina (rilievi ematochimici ed ultrastrutturali su un modello sperimentale)*. Eur Rev Pharm Sci 5: 147-154, 1983.
13. Boiardi L, Prandi G, Arata G, Bucci MA, Marchionni E e Martines G. *Farmaci essenziali e rischio jatrogeno. Aspetti ultrastrutturali ed ematochimici dopo somministrazione sperimentale di Gentamicina*. Eur Rev Pharm Sci 5: 249-260, 1983.
14. Butturini L, Boiardi L, Menozzi I, Bernardi S e Martines G. *L'epatolesività da dibekacina: correlazioni tra aspetto ultrastrutturale e parametri emato-chimici in un modello sperimentale*. Giorn Clin Med, in stampa.

ULTRASTRUCTURAL STUDY OF DICLOFENAC TREATED RABBIT LIVER

Summary

The existence of alterations of common indexes of hepatic function, and the case-reports of acute hepatitis after the use of diclofenac sodium are the rationale for this experimental study, in which 8 rabbits were given 15 mg/kg day of diclofenac, to check ultrastructural modifications with respect to a control group. The analysis showed the typical signs of primary and secondary microcholestasis, indicating the existence of liver distress. This finding, from a clinical standpoint, suggests caution in the administration of this drug, chiefly in the hepatopathic patients.

COLECCION CIENCIAS MEDICAS - LIBROS DE MEDICINA

PROTOCOLOS TERAPEUTICOS DEL CANCER - III. Investigación y desarrollo

Comisión de Oncología de la Clínica
Universitaria de Navarra

PROTOCOLOS TERAPEUTICOS DEL CANCER - II. Toxicidad, síntomas, síndromes y complicaciones

Comisión de Oncología de la Clínica Universitaria de Navarra
1983. ISBN 84-313-0783-8. 494 págs. 3.500 ptas.

PROTOCOLOS TERAPEUTICOS DEL CANCER - I. Diagnóstico y tratamiento (2.ª edición)

Comisión de Oncología de la Clínica Universitaria de Navarra
1983. ISBN 84-313-0724-2. 360 págs. 3.500 ptas.

Próxima
aparición

(PRECIOS SIN INCLUIR EL 6% DE IVA.)



EUNSA

EDICIONES UNIVERSIDAD DE NAVARRA, S. A. - Apdo. 396 - Tel. (948) 256850* - 31080 PAMPLONA (ESPAÑA)

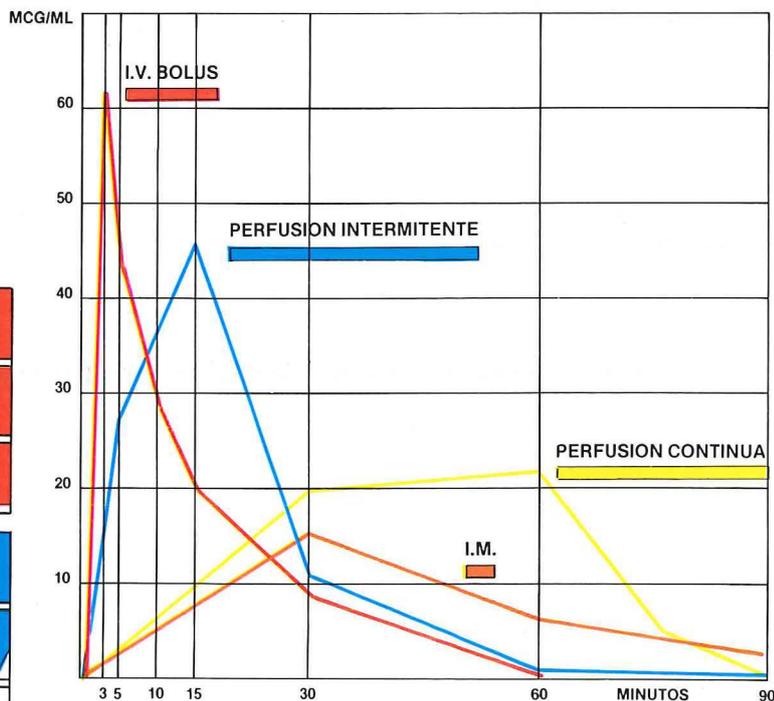
TRAVENOL, cerrando el sistema, abrió un mundo de seguridad.



Minibolsa VIAFLEX®

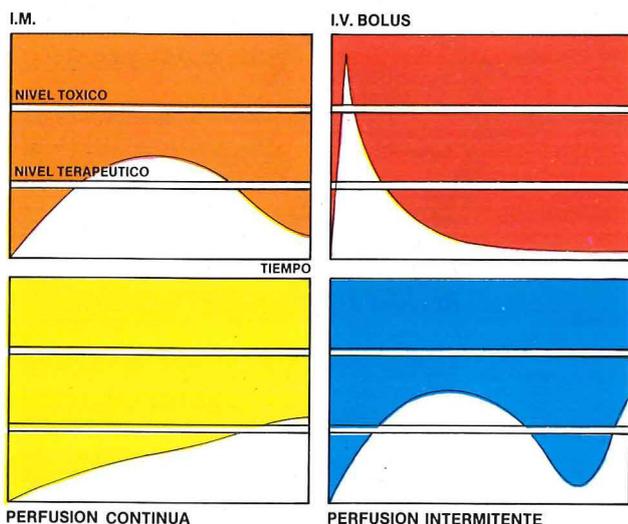
- Diluciones adecuadas de medicamentos producen efectos terapéuticos óptimos.
- Sistema Cerrado, que reduce la contaminación por aire ambiental.
- Reduce los riesgos de contaminación en la adición de medicamentos.
- La Minibolsa Viaflex tiene una capacidad de sobrellenado superior a su contenido.

NIVELES SERICOS DE ANTIBIOTICOS*



* Niveles séricos de cefalotina durante los 90 primeros minutos con los diferentes sistemas I.V. en una concentración de 30 mg/kg.

NIVELES SERICOS SEGUN EL METODO DE ADMINISTRACION DEL MEDICAMENTO



Minibolsas
VIAFLEX®
Un mundo de seguridad

TRAVENOL®

C/Dels Gremis, 7
Tel. (96) 379 77 00 - 370 44 66
Apdo. Correos 765 - Telex 64012
TNOL-E (46014-Valencia)