

## РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РЕМАКСОЛА И АДЕМЕТИОНИНА НА РЕПАРАТИВНО-РЕГЕНЕРАТОРНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Т. И. Виноградова<sup>1</sup>, Д. С. Суханов<sup>2</sup>, Н. В. Заболотных<sup>1</sup>, А. Л. Коваленко<sup>3</sup>,  
С. Н. Васильева<sup>1</sup>, М. Г. Романцов<sup>2</sup>

Представлены результаты изучения влияния ремаксола, реамберина и адеметионина на процессы репаративной регенерации печени белых крыс-самцов, подвергнутых частичной гепатэктомии, в сравнении с интактными и оперированными нелечеными (контроль операции) животными. Применение ремаксола и адеметионина способствовало более интенсивному и раннему накоплению массы регенерирующей печени, восстановлению общей архитектоники органа, а также появлению признаков репаративной регенерации. При этом только у крыс, леченных адеметионином, начиная с 10-го дня послеоперационного периода, обнаружено отчетливое усиление альтеративных процессов в печени. При морфометрическом исследовании установлено, что ремаксол и адеметионин улучшают качество течения компенсаторного процесса, стимулируют внутриклеточные регенераторные реакции. В условиях применения ремаксола максимально выраженный стимулирующий регенерацию печени эффект достигается раньше — уже на 4-й день после операции, при использовании адеметионина — на 10-й день.

**Ключевые слова:** ремаксол, реамберин, адеметионин, репаративная регенерация, печень

#### ВВЕДЕНИЕ

Комплексный подход в лечении патологии печени включает два основных направления: этиотропную и патогенетическую терапию. Этиотропная терапия, как правило, применяется при вирусных гепатитах с парентеральным механизмом заражения и направлена на подавление репликации возбудителя заболевания и его элиминацию [1]. В то же время, в основе патогенетической терапии лежит терапевтический эффект препаратов, содержащих активные вещества с гепатотропным эффектом и влияющих на структуру и функцию гепатоцитов. Средства патогенетической терапии принято обозначать условным термином “гепатопротекторы” [5, 6]. К ним относятся представители различных групп лекарственных средств, способствующих усилению детоксицирующих функций гепатоцитов и повышающих их устойчивость к воздействию различных неблагоприятных факторов [4].

Действие гепатопротекторов направлено на восстановление печеночного гомеостаза, повышение резистентности органа к патогенным воздействиям и нормализацию функциональной активности [6]. По критериям “идеального” гепатопротектора, сформулированным R. Preisig в 1970 г., важная роль отведена способности стимулировать регенеративно-репаративные процессы в печеночной паренхиме и естественный метаболизм препарата при патологии печени [12].

Оригинальный метионин- и сукцинатсодержащий инфузионный препарат ремаксол, позиционируемый как субстратный антигипоксикант и гепатопротектор метаболического действия [3], показал эффективность в многочисленных доклинических и клинических исследованиях при поражениях печени различного генеза [2, 7, 8]. В состав препарата входит янтарная кислота, метионин, инозин, никотинамид и электролиты (натрия, калия и магния хлорид, натрия гидроксид), а также N-метилглюкамин, обеспечивающий проникновение сукцинат-аниона в клетку. Несмотря на доказанную эффективность, остается неясным действие препарата на регенерацию паренхимы печени.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния ремаксола на репаративно-регенераторную способность печени в экспериментальных условиях на модели частичной гепатэктомии в сравнении с экзогенным адеметионином и реамберинем (Na-N-метилглюкамина сукцинат).

<sup>1</sup> Лаборатория патоморфологии и экспериментального туберкулеза (зав. — проф. Т. И. Виноградова) ФГУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии.

<sup>2</sup> Кафедра фтизиопульмонологии (зав. — проф. А. К. Иванов), ГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И. И. Мечникова, 195067, С.-Петербург, Пискаревский пр., 47.

<sup>3</sup> ООО “НТФФ “ПОЛИСАН”, Санкт-Петербург.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Доинформационное исследование проведено на 100 беспородных крысах-самцах с исходной массой тела 180 – 200 г.

Частичную экстирпацию печени у крыс выполняли по методике А. Фишера [10]. Для обезболивания использовали комбинированный препарат золетил (“Virbac S. A.”, Франция), содержащий тилетамин — общий анестетик диссоциативного действия, вызывающий анальгетический эффект, и золазепам — транквилизатор бензодиазепинового ряда, оказывающий анксиолитическое и седативное действие, мышечную релаксацию. Золетил вводили внутримышечно в дозе 15 мг/кг. Крыс фиксировали в специальных станках в положении на спине. Каудально от мечевидного отростка проводили медиальную лапаротомию (2 – 3 см). Вынимали одним пальцем левую и медиальную доли печени, составляющие порядка 68 % массы печени, и поворачивали вверх. Сосудистый ствол между двумя долями перевязывали, удаляли левую и медиальную доли печени, послойно сшивали брюшину и кожу.

Методом рандомизации были сформированы 5 групп животных: 1 — интактные — неоперированные и нелеченные ( $n = 6$ ); 2 — контрольные — оперированные, нелеченные ( $n = 24$ ); 3 — оперированные ( $n = 24$ ), получавшие реамберин в дозе 25 мл/кг внутривентриально; 4 — оперированные ( $n = 24$ ), получавшие ремаксолол (25 мл/кг внутривентриально); 5 — оперированные ( $n = 22$ ), получавшие адеметионин в дозе 0,09 мл/100 г массы тела внутривентриально.

Введение исследуемых препаратов начинали в день операции. Контрольным животным вводили физиологический раствор в эквивалентных количествах. Все исследуемые препараты применяли один раз в сутки, ежедневно на протяжении 14 дней.

Крыс 2 – 5-й групп выводили из опыта путем декапитации на 4, 10, 14 и 25-е сутки после операции. Извлекали печень, определяли массу органа, затем фиксировали в нейтральном формалине, осуществляли стандартную проводку, заливали в целлоидин — парафин — масло, срезы (4 – 6 мкм) окрашивали гематоксилином и эозином.

О скорости репаративных процессов судили по нарастанию абсолютной массы печени; морфометрическому исследованию срезов печени, окрашенных гематоксилином и эозином, при сопоставлении с данными интактных животных. В ходе морфологических исследований подсчитывали количество двуядерных гепатоцитов, незрелых гепатоцитов, а также гепатоцитов, содержащих более одного ядрышка в ядре. В каждом микропрепарате печени учитывали не менее 4000 гепатоцитов с помощью стандартной окулярной сетки.

При статистической оценке полученных результатов использовали параметрический тест Стьюдента — Фишера [9].

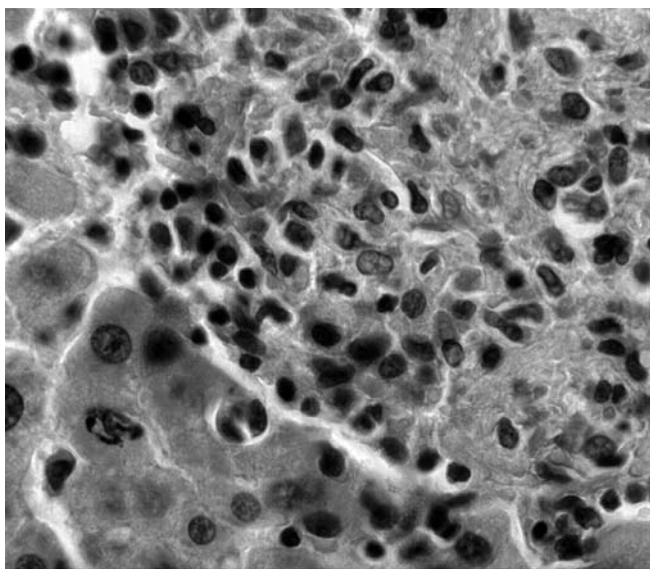
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У контрольных оперированных крыс масса регенерирующей печени достигла уровня интактных животных к 25-м суткам после операции. Исследуемые препараты отличались по степени влияния на темпы восстановления массы печени. Так, у крыс, получавших реамберин, накопление массы оставшейся части органа происходило менее интенсивно по сравнению с контрольными (оперированными, нелеченными) животными. К окончанию эксперимента (25-й день после операции) в этой группе масса печени составляла 88,89 % по отношению к показателю интактных крыс. Под влиянием ремаксолола и адеметионина абсолютная масса печени после гепатэктомии возрастала более интенсивно. Через 14 суток показатели средней величины массы печени крыс, получавших ремаксолол и адеметионин в послеоперационном периоде, были уже практически сопоставимы с показателем абсолютной массы печени интактных животных ( $9,17 \pm 0,3$  и  $9,34 \pm 0,7$  г против  $9,9 \pm 0,7$  г соответственно). У контрольных (оперированных, нелеченных) крыс масса печени к этому сроку регистрации составляла лишь  $7,92 \pm 0,53$  г ( $p < 0,05$ ).

Гистологическое исследование ткани печени контрольных оперированных нелеченных животных на 4-е сутки после частичной резекции показало нарушение архитектоники долек на фоне выраженного полнокровия в системе воротной вены и нарушения их балочной структуры. Ядра гепатоцитов в этих фрагментах пикнотичны, некоторые из них окружены светлым ореолом, что можно расценивать в качестве показателей некробиоза гепатоцитов. Зарегистрированы признаки “шоковой печени”: стазы в капиллярах, отчетливая диффузная инфильтрация долек лейкоцитами, расширение синусоидов пространств Диссе, белковая дистрофия гепатоцитов. Встречались также участки распадающихся безъядерных гепатоцитов, местами замещенных мелко-фокусными лимфогистиоцитарными инфильтратами.

При лечении крыс исследуемыми препаратами отмечена несколько большая сохранность архитектоники органа и меньшая выраженность признаков “шоковой печени” в группах животных, получавших ремаксолол (группа 4) и адеметионин (группа 5). Это проявилось сохранением балочной структуры долек и меньшей распространенностью белковой дистрофии в 2-х из 6 случаев в каждой обсуждаемой группе. В качестве начального признака репарации органа в этих группах можно отметить выраженную портальную лимфогистиоцитарную инфильтрацию (группа 4 — в 3-х из 6, группа 5 — в 2-х из 6 случаев).

На 10-е сутки после резекции печени в контрольной группе в 2-х из 6 случаев начало определяться восстановление архитектоники (печеночные балки прослеживались на большей площади срезов). При этом во всех случаях сохранялось полнокровие органа, часто



Печень крысы, леченной адеметионином, через 14 дней после частичной гепатэктомии. Фокус некротизированных гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 1500$

регистрировалась фрагментация балок и группы балок с пикнотичными ядрами. В 5 из 6 случаев отмечены фокусы некротизированных гепатоцитов. В то же время, наряду с наличием показателей “шоковой печени”, в ее ткани появились признаки активации процессов регенерации. В 4 из 6 случаев (66,7 %) вокруг некоторых, в основном крупных, сосудов появились участки компенсаторной гипертрофии печени размером с небольшую дольку.

Как и в первый срок наблюдения, у крыс, получавших ремаксол и адеметионин, отмечалась лучшая сохранность архитектоники долек (в 3-х из 6 случаев в обеих группах), меньшая выраженность полнокровия печени и инфильтрации ткани лейкоцитами. Число фокусов некротизированных гепатоцитов в этих группах также уменьшилось: у крыс, получавших ремаксол, только в одном случае, при лечении адеметионином — в 3-х из 6 случаев. Показатели стимуляции регенерации у животных всех опытных групп проявлялись отчетливее, чем в контроле операции. Участки компенсаторной гипертрофии увеличились до размеров 1–2-х долек и уже не были связаны только с сосудами. Исключение составили лишь 2 из 6 случаев в группе 3 (лечение реамберином), где эти участки были небольшими и находились периваскулярно. Участки с гепатоцитами, несущими признаки внутриклеточной регенерации, во всех трех группах были более выражены и отмечены во всех случаях. В группе животных, получавших адеметионин, чаще, чем в других опытных группах, отмечались очаговые скопления некротизированных гепатоцитов и, что самое важное, только в этой группе крыс в 2-х из 6 случаев обнаружены крупные участки некроза.

Через 14 суток после частичной экстирпации в контрольной группе архитектоника печени частично вос-

становилась у 50 % крыс. Из признаков “шоковой печени” местами определялись только слабо выраженные стаз капилляров и белковая дистрофия. Как и ранее, сохранялись полиморфизм гепатоцитов и в части долек — фрагментация долек с пикнозом ядер. Фокусы компенсаторной гипертрофии стали крупнее, располагались по всей поверхности среза печени, участки гепатоцитов с интенсивной окраской цитоплазмы и ядер встречались во всех случаях. В 3-х из 6 случаев зарегистрирована резко выраженная портальная лимфогистиоцитарная инфильтрация.

У крыс, получавших исследуемые препараты, на 14-е сутки после операции принципиальных отличий от контрольной группы не наблюдали. По показателям регенераторных процессов можно отметить только более частое наличие крупных лимфогистиоцитарных инфильтратов: при лечении ремаксолом — в 4-х из 6, адеметионином — в 5 из 6 случаев. В группе 5 у крыс, получавших адеметионин, как и в предыдущий срок наблюдения, продолжали обнаруживать признаки альтерации печени: мелко-фокусная лимфогистиоцитарная инфильтрация долек и фокусы некротизированных гепатоцитов (в 3-х из 6 случаев, рисунок).

К последнему сроку наблюдения (на 25-е сутки после операции) балочная композиция ткани печени у контрольных оперированных нелеченных крыс восстановилась в 100 % случаев. У животных, получавших исследуемые препараты, на 25-е сутки после частичной гепатэктомии архитектоника печени также была восстановлена во всех случаях. В отличие от контроля операции у них не наблюдалось фрагментации балок, как признака некробиоза. Как и в предыдущие сроки наблюдения у крыс, получавших адеметионин, гораздо чаще, чем в других группах, наблюдались признаки альтерации. В 3-х из 5 случаев обнаружены мелко-фокусная лимфогистиоцитарная инфильтрация долек и фокусы некротизированных гепатоцитов, а в 1 из 5 случаев — крупные очаги некроза.

Восстановление ткани печени у контрольных (оперированных нелеченных) животных регистрируется уже на самом раннем сроке (4-е сутки). Причем степень выраженности внутриклеточных регенераторных реакций меняется в течение всего периода наблюдения. Так, в первый срок наблюдения отмечено достоверное увеличение числа незрелых гепатоцитов (в 1,78 раза,  $p < 0,01$ ) и процента гепатоцитов с увеличением числа ядрышек (в 1,4 раза,  $p < 0,02$ ) по сравнению с показателями интактных животных. Через 10 дней после частичной экстирпации печени в этой группе животных повышается относительное количество двуядерных гепатоцитов (в 1,2 раза,  $p < 0,05$ ), которое достигает максимальных значений к 14-му дню наблюдения, превысив уровень интактных крыс в 2 раза ( $p < 0,001$ ).

Динамика обсуждаемых показателей в контрольной группе на 14 и 25-е сутки наблюдения после операции

практически не различается, что свидетельствует о завершении регенераторного процесса.

Оценивая влияние исследуемых препаратов, можно отметить, что динамика показателей внутриклеточных регенераторных процессов у крыс, получавших реамберин, существенно не отличалась от контрольной группы. При применении ремаксола отмечены отчетливые различия в качестве течения компенсаторного процесса, о чем свидетельствовало достоверное увеличение процента клеток, указывающих на стимуляцию активности внутриклеточных регенераторных реакций уже через 4 дня после операции. В этот срок наблюдения эффект ремаксола был максимальным: содержание двуядерных гепатоцитов по сравнению с нелеченым контролем увеличилось в 2,1 раза ( $p < 0,001$ ), количество незрелых гепатоцитов — в 2,2 раза ( $p < 0,001$ ), процент гепатоцитов, содержащих более одного ядрышка, повысился в 1,3 раза ( $p < 0,02$ ). Через 10 дней после частичной экстирпации печени эти различия сохранились, утратив лишь значимость по количеству гепатоцитов с содержанием более одного ядрышка. При этом численность двуядерных гепатоцитов осталось практически на тех же значениях, по-прежнему достоверно превышая уровень контроля ( $p < 0,002$ ). В 3-й и 4-й срок наблюдения показатели были на уровне контроля операции.

Действие адеметионина на гепатоциты, участвующие в репарации, отмечено также уже на 4-й день после операции, но его выраженность была несколько меньше, чем у ремаксола. Максимальный эффект адеметионина отмечен через 10 дней после частичной экстирпации печени. Так, процент двуядерных гепатоцитов по сравнению с нелеченым контролем под действием адеметионина увеличился в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ), количество незрелых гепатоцитов — в 1,6 раза ( $p < 0,001$ ), процент гепатоцитов содержанием более одного ядрышка — в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ). В третий срок наблюдения показатели, как и при использовании ремаксола, были на уровне контроля операции. К 25-му дню операции у крыс, леченных адеметионином, отмечен существенный подъем всех исследуемых показателей. Скорее всего, это связано с активацией регенерации, вызванной альтеративным эффектом адеметионина, который уже с 10-го дня введения препарата привел к появлению крупных сливных очагов некроза в ткани печени.

У крыс, леченных ремаксомом и адеметионином, отмечается более быстрое восстановление балочной структуры органа и более раннее появление признаков репаративной регенерации. Уже на 4-й день после частичной гепатэктомии практически у 50 % крыс в обеих группах выявлена портальная лимфогистиоцитарная инфильтрация. На 10-й день — большая частота выявления (в 100 % случаях в обеих группах против 66,7 % в контроле операции) и гораздо большая распространенность (по размерам и независимости от портальной системы) участков компенсаторной гипер-

трофии печени. Параллельно зарегистрированной способности стимулировать процессы репаративной регенерации у крыс, леченных адеметионином, начиная с 10-го дня после резекции печени, что соответствовало 10-дневному курсу введения препарата, обнаружено отчетливое усиление альтеративных процессов в печени. Чаще, чем у других леченных животных, выявлялись фокусы некротизированных гепатоцитов, в единственной из всех подопытных групп — крупные очаги некроза. Та же тенденция имела место и в последующий срок наблюдения и даже через 10 дней после отмены адеметионина (на 25-е сутки после операции), когда выявлены фокусы некротизированных гепатоцитов и крупные очаги некроза. У крыс, леченных ремаксомом, активации процессов альтерации не отмечено.

Морфометрический анализ показал, что ремаксол и адеметионин значительно повышают относительное содержание гепатоцитов, участвующих в репаративной регенерации печени, на 4-й и 10-й дни после частичной экстирпации органа. Уровень стимуляции гепатоцитов обоими препаратами практически не отличается друг от друга. Необходимо подчеркнуть, что в условиях применения ремаксола максимальная выраженность регенераторных реакций достигается раньше — на 4-й день после операции, при использовании адеметионина — на 10-й день. Стимуляция же внутриклеточных регенераторных реакций на 25-й день после частичной гепатэктомии у животных, получавших адеметионин, обусловлена репаративными процессами, вероятнее всего индуцированными альтеративным эффектом адеметионина, который находит свое отражение в литературе [11].

## ВЫВОДЫ

1. Ремаксол и адеметионин стимулируют репаративно-регенеративные процессы в печеночной паренхиме, о чем свидетельствует восстановление массы органа уже на 14-е сутки после оперативного вмешательства.

2. Под влиянием изучаемых препаратов уже на 4-е сутки наблюдается большее сохранение балочной структуры и архитектоники органа. В эти же сроки только под влиянием ремаксола наблюдаются признаки активной внутриклеточной регенерации. Значимого влияния реамберина на указанные процессы не отмечено.

3. Начиная с 10-х суток, применение экзогенного адеметионина способствует альтеративным изменениям печени, которые обуславливают активацию внутриклеточных регенераторных процессов к концу 25-го дня наблюдения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ф. И. Ершов, М. Г. Романцов, *Лекарственные средства, применяемые при вирусных заболеваниях*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2007).

2. А. Л. Коваленко, Д. С. Суханов, М. Г. Романцов, *Фармацевтическая промышленность*, № 4, 58 – 61 (2010).
3. Т. Г. Кожока, *Лекарственные средства в фармакотерапии патологии клетки*, Москва (2007).
4. *Клиническая фармакология: национальное руководство*, Ю. Б. Белоусов и др. (ред.), ГЭОТАР-Медиа, Москва (2009).
5. И. В. Маев, Е. С. Вьючнова, С. М. Бабина, *Рос. мед. вести*, № 4, 41 – 50 (2009).
6. С. В. Оковитый, Н. Н. Безбородкина, С. Г. Улейчик, С. Н. Шуленин, *Гепатопротекторы*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2010).
7. Т. В. Сологуб, Л. Г. Горячева, Д. С. Суханов и др., *Клин. мед.*, № 1, 62 – 66 (2010).
8. Д. С. Суханов, А. К. Иванов, М. Г. Романцов, А. Л. Коваленко, *Рос. мед. журн.*, № 6, 22 – 25 (2009).
9. В. Ю. Урбах, *Статистический анализ в биологических медицинских исследованиях*, Медицина, Москва (1975).
10. А. Фишер, *Физиология и экспериментальная патология печени (пер. с нем.)*, Будапешт (1961).
11. Eun-Sook Lee, Hontago Chen, Chadwick Hardman, et al., *Life Sci.*, **19**(83), 25 – 26 (2008).
12. R. Preisig, *Schweiz. Rundsch. Med. Prax.*, **59**, 1559 – 1560 (1970).

Поступила 12.11.10

## COMPARATIVE STUDY OF REMAXOL AND ADEMETHIONINE EFFECTS ON REPARATIVE REGENERATION PROCESSES IN LIVER UNDER SURGICAL INVASION CONDITIONS

T. I. Vinogradova<sup>1</sup>, D. S. Sukhanov<sup>2</sup>, N. V. Zabolotnykh<sup>1</sup>, A. L. Kovalenko<sup>3</sup>, S. N. Vasil'eva<sup>1</sup>, and M. G. Romantsov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, Ligovskii prosp. 2, St. Petersburg, 191036, Russia;

<sup>2</sup> St. Petersburg State Medical Academy, Piskarevskii prosp. 47, St. Petersburg, 195067, Russia;

<sup>3</sup> POLISAN Research and Technology Company, Ligovskii prosp. 112, St. Petersburg, 191119, Russia

The influence of remaxol, reamberin and ademethionine on the process of reparative regeneration in the liver was experimentally studied in a group of 100 white male rats subjected to partial hepatectomy in comparison with intact and drug-untreated operated control animals. The administration of remaxol and ademethionine favored more intensive and early accumulation of the regenerated liver weight, restoration of the general structure of the liver, and appearance of the signs of reparative regeneration. Only rats treated with ademethionine exhibited clearly pronounced enhanced alterative processes in the liver. A morphometric investigation showed that remaxol and ademethionine improved the quality of a current compensatory process and stimulated intracellular regeneration reactions. Under the conditions of remaxol administration, the most pronounced effect of liver regeneration was observed on the 4th day after operation, while in the case of ademethionine the maximum effect was observed on the 10th day.

**Key words:** Remaxol, reamberin, ademethionine, reparative regeneration, liver