ВЛИЯНИЕ СУКЦИНАТ- И МЕТИОНИНСОДЕРЖАЩЕГО ПРЕПАРАТА “РУНИХОЛ” И АДЕМЕТИОНИНА НА ПРОЦЕССЫ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧАСТИЧНОЙ ГЕПАТЭКТОМИИ

Д. С. Суханов[1], Т. И. Виноградова[2], А. Ю. Петров[3], Н. В. Заболотных[2], А. Л. Коваленко[3], С. Н. Васильева[2], М. Г. Романцов[1]

Представлены результаты изучения влияния рунихола и адеметионина на процессы репаративной регенерации печени белых крыс-самцов, подвергнутых частичной гепатэктомии в сравнении с интактными и оперированными нелеченными (контроль операции) животными. Адеметионин и рунихол вызывали в течение первых четырех суток после операции снижение относительной площади дискомплексации балок и появление предпосылок активации регенераторных процессов. При морфометрическом исследовании установлена стимуляция внутриклеточных регенераторных реакций: на фоне адеметионина — во все сроки после частичной экстирпации печени, наиболее отчетливо — на 4 и 10 дни; на фоне рунихола — только на 14-й день. Активация показателей регенераторных процессов паренхимы печени сохраняется и после отмены изучаемых препаратов.

Ключевые слова: рунихол, адеметионин, репаративная регенерация, печень

ВВЕДЕНИЕ

Патогенетическая терапия заболеваний печени должна обеспечивать адекватную фармакологическую коррекцию универсальных мультифакторных и разновременных звеньев патогенеза заболевания, влияя на структуру и функцию гепатоцитов. Средства патогенетической терапии заболеваний печени принято обозначать условными терминами “гепатопротекторы” или “гепатотропные средства”, объединяя в рамках одной фармакотерапевтической группы различные препараты, обладающие тем или иным влиянием на печень [4, 9]. К ним относятся представители различных групп лекарственных средств, способствующих усилению детоксицирующих функций гепатоцитов и повышающих их устойчивость к воздействию неблагоприятных факторов [3]. Действие этих препаратов направлено на восстановление гомеостаза в печени, повышение устойчивости органа к воздействию патогенных факторов, нормализацию функций и стимуляцию репаративно-регенеративных процессов [8].

Определенное место в патогенетической коррекции заболеваний печени занимают препараты на основе янтарной кислоты. В доклинических и клинических исследованиях с положительной стороны зарекомендовал себя оригинальный отечественный сукцинат- и метионинсодержащий раствор “ремаксол”, оказывающий позитивное влияние на процессы репаративной регенерации печеночной паренхимы [1, 2].

Таблетированный препарат рунихол (производство ООО “НТФФ “ПОЛИСАН”, Санкт-Петербург, Евразийская заявка № 201100309/26 от 03.03.2011), позиционируемый как комплексный субстратный антигипоксант и гепатотропное средство метаболического действия [3], находится на этапе доклинического изучения. В состав препарата входят янтарная кислота – 0,25 г, метионин – 0,05 г, инозин – 0,1 г, таурин – 0,05 г и вспомогательные вещества (крахмал картофельный, повидон, целлюлозы микрокристаллическая, кальция стеарат, гипромеллоза и полисорбат 80).

Цель исследования — сравнительное изучение действия рунихола и адеметионина на процессы репаративной регенерации печени крыс, подвергнутых частичной гепатэктомии.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 78 белых беспородных крысах-самцах с исходной массой тела 180 – 200 г. Частичную экстирпацию печени у крыс выполняли по методике А. Фишера [7]. Для обезболивания использовали золетил (“Virbac S. A.”, Франция), содержащий тилетамин — общий анестетик диссоциативного действия, вызывающий анальгетический эффект. Золетил вводили внутримышечно в дозе 15 мг/кг. Крыс фиксировали в специальных станках в положении на спине, каудально от мечевидного отростка проводили медиальную лапаротомию длиной в 2 – 3 см. Извлекали левую и медиальную доли печени, составляющие 2/3 органа и поворачивали вверх. Сосудистый ствол между двумя долями перевязывали, удаляли левую и медиальную доли, послойно сшивали брюшину и кожу.

Методом рандомизации были сформированы 4 группы животных: интактные — неоперированные и

[1] Кафедра фтизиопульмонологии (зав. — проф. А. К. Иванов) ГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И. И. Мечникова, 195067, Санкт-Петербург, Пискаревский пр., 47.

[2] Лаборатория экспериментального туберкулеза и новых медицинских технологий (зав. — проф. Т. И. Виноградова) ФГУ Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии.

[3] ООО “НТФФ “ПОЛИСАН”, Санкт-Петербург.

© 2012 Коллектив авторов

нелеченные ($n = 6$); контрольные — оперированные, нелеченные ($n = 24$); оперированные ($n = 24$), получавшие адеметионин в дозе 105 мг/кг внутрь; оперированные ($n = 24$), получавшие рунихол (160 мг/кг внутрь).

Введение исследуемых препаратов начали в день операции. Препараты вводили один раз в сутки через металлический зонд в желудок, ежедневно на протяжении 14 дней. Контрольные животные в эти сроки получали физиологический раствор в эквиобъемных количествах.

Крыс 2-й – 4-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 изменению относительной массы регенерирующей 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 результатов использовали параметрический тест Стьюдента — Фишера [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе введения адеметионина и рунихола на фоне в целом удовлетворительной переносимости этих препаратов отмечены случаи летальности крыс. В группе животных, получавших адеметионин, погибли 3 крысы, в том числе 1 — на 8-й; 2 — на 10-й день. В группе животных, получавших рунихол, погибла одна крыса на 6-й день введения. У погибших животных регистрировали дефицит массы тела по сравнению с исходными показателями.

Адеметионин и рунихол способствовали восстановлению массы регенерирующей печени, но не оказывали существенного влияния на темпы ее восстановления, о чем свидетельствует отсутствие статистических различий между коэффициентами массы печени контрольной и опытных групп. При макроскопическом обследовании внутренние органы — без особенностей.

Гистологическое обследование ткани печени контрольных оперированных нелеченных животных на 4-е сутки после частичной резекции показало выраженное нарушение архитектоники. Дискомплексация балок в большей части долек распространялась на всю ее площадь, в некоторых затрагивала 2/3 дольки. Отмечалось также выраженное полнокровие в системе воротной вены, в некоторых дольках наблюдали фрагментацию балок, сопровождавшуюся кариопикнозом гепатоцитов. В 4 из 6 препаратов печени контрольных крыс обнаружены мелкие (из 2 – 3 клеток) фокусы распадающихся безъядерных гепатоцитов и мелкофокусная лимфогистиоцитарная инфильтрация. По всей площади среза выявлены признаки “шоковой печени”: стазы в капиллярах, отчетливая диффузная инфильтрация долек лейкоцитами, расширение синусоидов (пространств Диссе) и белковая дистрофия гепатоцитов. На 10-е сутки после операции в контрольной группе отмечены признаки восстановления архитектоники печени, которое продолжалось и через 14 суток. К исходу опыта (на 25-е сутки после операции) архитектоника печени полностью восстановилась только у 50 % животных (в 3 из 6 случаев).

В условиях применения адеметионина и рунихола на четвертые сутки после операции архитектоника органа была нарушена несколько меньше, практически во всех случаях (кроме одного в группе, леченной адеметионином) было сохранено радиальное расположение балок в центральной части долек. К признакам предпосылок регенераторных процессов, зарегистрированных при использовании адеметионина и рунихола, можно отнести гиперемию сохранившихся синусоидов и набухание гепатоцитов по периферии долек (у 50 % животных в каждой опытной группе) [5].

Через 10 дней после операции в обеих опытных группах, как и на первом сроке наблюдения, сохранность архитектоники долек была несколько лучшей. Так, дискомплексация балок отмечалась только в наружной трети дольки: на фоне адеметионина — у 40 % крыс, на фоне рунихола — у 16,7 %, у остальных животных распространялась на 2/3. У крыс, получавших исследуемые препараты, на 14 сутки после операции восстановление архитектоники органа шло в том же темпе, как и в контроле операции. Активация репаративных процессов была несколько более выражена, о чем свидетельствовали чаще выявляемые крупные участки компенсаторной гипертрофии. Так, при лечении адеметионином они зафиксированы у всех 5 выживших животных (100 %), при использовании рунихола — в 4-х из 6 случаев (66,7 %).

У животных, получавших рунихол, на 25-е сутки после частичной гепатэктомии архитектоника печени была восстановлена практически в том же проценте случаев, как и в контроле операции. В отличие от контроля операции в обеих опытных группах не наблюдалось фрагментации балок, как признака некробиоза, а также значительно уменьшилась степень выраженности белковой дистрофии гепатоцитов (в группе 3 — в 100 %, в группе 4 — у 4-х из 5 случаев, 80 %).

При анализе морфометрической характеристики печени крыс в разные сроки после резекции у контрольных животных признаки активации регенераторных процессов в ткани печени регистрируются уже на первом сроке наблюдения (4-е сутки). По сравнению с показателями интактных животных наблюдается достоверное увеличение числа незрелых гепатоцитов (в 2,6

раза, $p < 0{,}01$) и процента гепатоцитов с увеличением числа ядрышек (в 2 раза, $p < 0{,}01$).

К 10 дню после частичной экстирпации печени в этой группе животных по отношению к интактной группе в 1,4 раза ($p < 0{,}01$) повышается относительное количество двуядерных гепатоцитов, которое достигает максимальных значений к 14 дню наблюдения, превысив уровень интактных крыс в 1,5 раза ($p < 0{,}001$). На 25-е сутки отмечалось снижение практически всех показателей, однако число незрелых гепатоцитов и процента гепатоцитов с увеличением числа ядрышек осталось на достоверно более высоком, чем в интактной группе, уровне, что свидетельствует о сохранении активности регенераторного процесса и на этом сроке наблюдения.

Применение адеметионина существенно повлияло на качество течения компенсаторного процесса, приведя уже через 4 дня после операции к достоверному увеличению, по сравнению с данными контроля операции, процента всех клеток, указывающих на стимуляцию активности внутриклеточных регенераторных реакций. Содержание двуядерных гепатоцитов по сравнению с нелеченным контролем увеличилось в 2,1 раза ($p < 0{,}05$), количество незрелых гепатоцитов — в 2,2 раза ($p < 0{,}01$), процент гепатоцитов, содержащих более одного ядрышка, повысился в 2 раза ($p < 0{,}001$).

Действие рунихола на гепатоциты, участвующие в регенерации, отмечено также уже на 4-й день после операции, но его выраженность была несколько меньше, чем у адеметионина, поскольку достоверно увеличился выше значений контроля операции только один из трех тестируемых показателей — количество двуядерных гепатоцитов. Более существенное активирующее действие на процессы внутриклеточной регенерации гепатоцитов в условиях применения рунихола отмечено через 14 дней после частичной экстирпации печени. Оно зарегистрировано при сравнении с оперированными нелеченными крысами по увеличению в 2,1 раза ($p < 0{,}01$) содержания незрелых гепатоцитов, а также в 1,8 раза ($p < 0{,}001$) процента гепатоцитов, содержащих более одного ядрышка. Через 25 суток после операции значения показателей в этой опытной группе и в контроле практически не различаются.

ВЫВОДЫ

1. Адеметионин и рунихол при экспериментальной частичной гепатэктомии способствуют более быстрому восстановлению балочной структуры печени с ранним (уже на 4-й день) появлением признаков репаративной регенерации в виде снижения относительной площади дискомплексации балок и появления участков компенсаторной гипертрофии.

2. Адеметионин значимо повышает относительное количество гепатоцитов, участвующих в репаративной регенерации, на всех сроках после частичной экстирпации печени, наиболее отчетливо — на 4-й и 10-й дни после операции. Максимальный фармакологический эффект рунихола отмечен через 14 дней после частичной гепатэктомии по увеличению содержания незрелых гепатоцитов и процента гепатоцитов, содержащих более одного ядрышка.

3. Активация показателей регенераторных процессов паренхимы печени сохраняется после отмены изученных препаратов (на 10-е сутки после операции).

ЛИТЕРАТУРА

1. Т. И. Виноградова, Д. С. Суханов, Н. В. Заболотных и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, № 2, 34 – 38 (2011).
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. С. В. Оковитый, Н. Н. Безбородкина, С. Г. Улейчик, С. Н. Шуленин, *Гепатопротекторы*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2010).
5. *Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций*, Д. С. Саркисова (ред.), Медицина, Москва (1987).
6. В. Ю. Урбах, *Статистический анализ в биологических медицинских исследования*, Медицина, Москва (1975).
7. А. Фишер, *Физиология и экспериментальная патология печени (пер. с нем.)*, Будапешт (1961).
8. R. Preisig, *Schweiz. Rundsch. Med. Prax.*, **59**, 1559 – 1560 (1970).
9. R. Schmidt, *World J. Gastroenterol.*, **16**, 6044 – 6045 (2010).

Поступила 12.07.11

EFFECT OF SUCCINATE- AND METHIONINE-CONTAINING DRUG RUNIHOL ON REPARATIVE REGENERATION PROCESSES IN LIVER UNDER EXPERIMENTAL HEPATECTOMY CONDITIONS

D. S. Sukhanov[1], T. I. Vinogradova[2], A. Yu. Petrov[3], N. V. Zabolotnykh[2], A. L. Kovalenko[3], S. N. Vasil'eva[2], and M. G. Romantsov[1]

[1] St. Petersburg State Medical Academy, Piskarevskii prospect 47/5, St. Petersburg, 195067, Russia
[2] St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology, Ligovskii prosp. 2, St. Petersburg, 191036, Russia
[3] POLISAN Research and Technology Company, Ligovskii prosp. 112, St. Petersburg, 192019, Russia

The effect of runihol and ademethionine on the processes of reparative regeneration in the liver has been experimentally studied in a group of 78 white male rats subjected to partial hepatectomy, in comparison to intact and drug-untreated operated control animals. The administration of ademethionine and runihol within the first four days after operation led to a decrease in the relative area of discomplexation in liver beams and the appearance of prerequisites of the activation of regeneration processes. A morphometric investigation showed that ademethionine stimulated intracellular regeneration reactions on all terms after the partial extirpation of liver, the most pppronounced effect being observed on the 4th and 10th days, while the administration of runihol led to comparable effects only on the 14th day. The activation of regeneration processes in the liver parenchyma is retained after cancellation of the preparations.

Key words: Runihol, ademethionine, reparative regeneration, liver