

Д.С. Суханов¹, Е.Б. Артюшкова², В.Т. Дудка³

Гепато- и эндотелиопротективное действие рунихола и адеметионина при экспериментальном поражении печени противотуберкулезными препаратами в сочетании с алкоголем

¹ ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава России (191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41)

² НИИ экологической медицины ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет Минздрава России (305041, Курск, ул. К. Маркса, д. 3)

³ ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет Минздрава России (305041, Курск, ул. К. Маркса, д. 3)

В опытах на 66 крысах-самцах проведено изучение гепато- и эндотелиопротективного действия таблеток рунихола и адеметионина при поражении печени противотуберкулезными препаратами основного и резервного ряда в сочетании с алкоголем. Установлено однонаправленное положительное действие изучаемых препаратов, проявляющееся в снижении уровня биохимических маркеров цитолиза и холестаза в сочетании со значительным уменьшением проявлений жировой, гиалиново-капельной и гидropической дистрофии. При этом рунихол оказал более выраженное антицитолитическое действие, в то время как под действием адеметионина отмечена нормализация коэффициента эндотелиальной дисфункции.

Ключевые слова: противотуберкулезные препараты, поражения печени, алкоголь, рунихол, адеметионин

D.S. Sukhanov, E.B. Artyushkova, V.T. Dudka

Hepato- and endothelioprotective action of runihol and ademetonine in experimental liver injury induced by TB drugs in combination with alcohol

Hepato- and endothelioprotective action of runihol and ademetonine in 66 male rats with liver disease induced by essential and second-line antituberculosis drugs in combination with alcohol were studied. One-directed affirmative action study drugs, shown to reduce the level of biochemical markers of cytolysis and cholestasis in conjunction with a significant reduction in symptoms of fatty, hyaline droplet and hydropic degeneration. In this runihol had a more pronounced anticytolytic effect, while under the influence of ademethionine the normalization endothelial dysfunction was established.

Key words: antituberculosis drugs, liver injury, alcohol, runihol, ademethionine

В связи с необходимостью длительной терапии туберкулеза и высокой частотой употребления алкоголя у больных данной инфекцией остается актуальным поиск новых лекарственных препаратов для терапии этих состояний [2, 9]. Одним из новых оригинальных лекарственных препаратов является рунихол таблетки, покрытые оболочкой, находящийся на стадии доклинических исследований [5, 6]. В состав препарата входят четыре активных компонента: янтарная кислота, метионин, инозин и таурин.

В основе большинства внутриклеточных патологических процессов, в том числе в печени, лежит митохондриальная дисфункция, оптимальная коррекция

которой возможна путём активации сукцинатоксидазного окисления, обладающего мощной энергопродукцией [7]. Введение экзогенного сукцината способствует нормализации аэробного окисления в митохондриях, устраняет разобщение окислительного фосфорилирования и угнетение митохондриальных процессов. Метионин, входящий в состав препарата, способный к превращению в организме в S-аденозил-L-метионин (адеметионин), является эндогенным донором метильной группы и участвует в биологических реакциях трансметилирования, обеспечивающих текучесть и поляризацию мембран за счет увеличения содержания фосфолипидов, и транссульфатирования, восстанавливающих пул эндогенного глутатиона [3, 8].

Цель исследования — провести сравнительную оценку эффективности рунихола и адеметионина при поражении печени противотуберкулезными препаратами основного и резервного ряда в сочетании с алкоголем.

Для корреспонденции: Суханов Дмитрий Сергеевич — к.м.н., доцент кафедры фтизиопульмонологии и торакальной хирургии ГБОУ ВПО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, e-mail: dmitriysukhanov@mail.ru

Материал и методы

Исследование выполнялось в лаборатории доклинических исследований НИИ Экологической медицины Курского государственного медицинского университета в соответствии с «European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 123» на 66 белых крысах-самцах массой 180—200 г. Поражение печени моделировалось введением противотуберкулезных препаратов (ПТП) основного и резервного ряда и этилового спирта с учетом дозировок, используемых в лаборатории экспериментального туберкулеза и новых медицинских технологий Санкт-Петербургского НИИ фтизиопульмонологии [4, 5], а именно:

- противотуберкулезные препараты (ПТП) 1 ряда: изониазид 50 мг/кг подкожно + рифампицин 250 мг/кг внутривенно + пиперазид 45 мг/кг внутривенно;
- ПТП 2 ряда: ПАСК 1400 мг/кг внутривенно + протионамид 140 мг/кг внутривенно + циклосерин 140 мг/кг внутривенно;
- алкоголь: в поилку наливался 10% раствор алкоголя с добавлением в качестве вкусовой добавки 0,1% сахара.

Исследуемые препараты вводились внутривенно ежедневно один раз в сутки в течение 12 и 25 дней в следующих дозах: рунихол — 278 мг/кг, адemetионин — 161 мг/кг.

Методом рандомизации сформировано 11 групп наблюдения ($n=6$ в каждой группе):

1. Интактные 1 ($n=6$) — наблюдение 12 дней;
2. Контроль 1 (ПТП 1 ряда + алкоголь) 12 суток;
3. ПТП 1 ряда + алкоголь + рунихол 12 суток;
4. ПТП 1 ряда + алкоголь + адemetионин 12 суток;
5. Контроль 2 (ПТП 2 ряда + алкоголь) 12 суток;
6. ПТП 2 ряда + алкоголь + рунихол 12 суток;
7. ПТП 2 ряда + алкоголь + адemetионин 12 суток;
8. Интактные 2 ($n=6$) — наблюдение 25 дней;
9. Контроль 3 (ПТП 1 ряда + алкоголь) 25 суток;
10. ПТП 1 ряда + алкоголь + рунихол 25 суток;
11. ПТП 1 ряда + алкоголь + адemetионин 25 суток.

На 13 и 26 день от начала эксперимента оценивались систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частота сердечных сокращений (ЧСС) на аппаратно-программном комплексе «Віорас» с постановкой функциональных сосудистых проб (на эндотелийзависимую вазодилатацию (ЭВД) — внутривенное введение ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного, а так-

же эндотелийнезависимую вазодилатацию (ЭНВД) в ответ на внутривенное введение раствора нитропрусида натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного).

Оценка коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) проводилась как отношение площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение НП ($S_{НП}$) к площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение АХ ($S_{АХ}$).

В комплекс биохимических исследований входило определение уровня общего билирубина, общего белка, холестерина, триглицеридов, АСТ, АЛТ, щелочной фосфатазы на биохимическом анализаторе Виталон 400.

Для морфологического подтверждения развития моделируемых патологических процессов и в комплексной оценке эффективности препаратов проведено гистологическое исследование печени. Материал фиксирован в 10% формалине с последующей заливкой в парафин. нейтрального формалина с последующей стандартной проводкой, срезы окрашиваются гематоксилином и эозином.

В связи с однородностью содержания животных во всех исследуемых группах и невозможностью опровергнуть нулевую гипотезу о нормальности распределения из-за небольшого количества единиц наблюдения в статистической обработке использованы методы, применяемые для нормального распределения данных. Обработка полученных результатов проведена с помощью метода ANOVA для множественного сравнения выборочных средних. При опровержении нулевой гипотезы о равенстве средних исследуемых групп использовалось попарное сравнение с помощью теста Тьюки. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ [1].

Результаты и обсуждение

Статистически значимых отличий в массе тела, сердца и печени между интактными, контрольными и всеми экспериментальными группами крыс обнаружено не было.

При проведении биохимических исследований через 12 дней после моделирования поражения печени с помощью введения противотуберкулезных препаратов 1 ряда и алкоголя обнаружено статистически значимое увеличение концентрации триглицеридов, АСТ, щелочной фосфатазы, общего билирубина и холестерина что свидетельствует о вовлечении печени в патологический процесс (таблица). Моделирование токсического поражения печени с помощью противотуберкулезных препаратов 2 ряда и алкоголя привело к статистически значимому увеличению концентрации триглицеридов, щелочной фосфатазы и билирубина.

При применении таблеток рунихола и адеметионина обнаружено статистически значимое снижение концентрации всех исследуемых биохимических показателей функционирования печени и их приближение к физиологической норме для данного вида животных. Несколько более выраженным гепатопротективным действием обладал препарат рунихол, так как в соответствующей группе животных все биохимические показатели оказались в пределах физиологической нормы, а при применении таблеток адеметионина уровень АСТ оставался достоверно выше, чем у интактных животных.

При проведении биохимических исследований через 25 дней после моделирования поражения печени с помощью введения противотуберкулезных препаратов основного ряда и алкоголя и его коррекции с помощью рунихола и адеметионина статистически значимых изменений в большинстве биохимических показателях не обнаружено ни в одной из экспериментальных групп. Одновременно, моделирование поражения печени привело к достоверному увеличению концентрации билирубина. При применении исследуемых препаратов обнаружено статистически значимое снижение концентрации билирубина и его значения в данных группах оставалось в пределах физиологической нормы (таблица).

При проведении гистологического исследования у крыс группы контроль 1 обнаружена диффузная крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов и диффузная мелкокапельная жировая дистрофия с тотальным поражением долек (рис. 1 на 2-й странице обложки).

Степень изменений цитоплазмы гепатоцитов более выражена, за счет этого нарушена структура балок, на обширных участках коллабированы синусоидные капилляры. Очагово наблюдается кариолизис в гепатоцитах. Изменения выражены однотипно во всех зонах печеночных долек.

У животных, получавших ПТП 1 ряда + алкоголь и рунихол в течение 12 дней обнаружены участки очаговой мелкокапельной жировой дистрофии гепатоцитов наряду с участками печеночной ткани с полным отсутствием патологических воспалительных и дистрофических изменений (рис. 2 на 2-й странице обложки).

Гистологическая картина печени животных, получавших наряду с ПТП 1 ряда + алкоголь препарат адеметионин не отличалась от таковой в группе животных, получавших рунихол. Отдельные участки ткани с очагами мелкокапельной жировой дистрофии чередовались с участками печеночной ткани с полным отсутствием патологических изменений.

Таблица

Биохимические показатели в экспериментальных группах после моделирования поражения печени и его коррекции

Препарат	Триглицериды	АСТ, Ед/л	АЛТ, Ед/л	Щелочная фосфатаза, Ед/л	Билирубин, мкмоль/л	Общий белок, г/л	Холестерин, ммоль/л
Интактные 1	0,26±0,04	140,2±9,76	50,8±2,13	133,7±9,53	1,21±0,31	56,3±2,29	0,46±0,04
Контроль 1 (ПТП 1 ряда + алкоголь)	0,62±0,07*	159,7±6,59*	43,3±5,46	246,1±21,04*	21,18±4,04*	63±1,32	1,18±0,14*
ПТП 1 ряда + алкоголь + Рунихол	0,41±0,1**	139,5±6,13**	37,8±4,83	171,5±20,01**	8,03±1,51**	61,3±0,95	0,74±0,06**
ПТП 1 ряда + алкоголь + адеметионин	0,28±0,04**	143,6±5,41	42,2±4,8	178,2±34,3	6,84±1,02**	63,3±1,3	0,73±0,06**
Контроль 2 (ПАСК протионамид + циклосерин + алкоголь)	0,55±0,15*	154,9±10,19	41±3,27	175,2±11,59*	7,44±1,59*	62,7±3,73	0,46±0,04
ПТП 2 ряда + алкоголь + Рунихол	0,27±0,04***	141±5,15	38,3±4,03	157,3±18,89	1,53±0,54***	63,8±1,48	1,08±0,05*
ПТП 2 ряда + алкоголь + адеметионин	0,29±0,04***	152,2±6,99	35±1,86	151,3±20,19	1,27±0,43***	63,1±1,45	0,66±0,02***
Интактные 2	0,3±0,05	162,8±11,1	69,2±8,42	152,9±16,31	1,7±0,38	58±1,48	0,86±0,08
Контроль 3 (ПТП 1 ряда + алкоголь) 25 суток)	0,44±0,1	143,6±7,72	58,2±4,99	123,2±9,07	4,48±0,94*	61,4±58,5	0,56±0,09
ПТП 1 ряда + алкоголь + Рунихол 25 суток	0,35±0,08	125,9±15,38	52,7±8,2	103,6±10,91	1,84±0,6***	58,5±2,69	0,59±0,09
ПТП 1 ряда + алкоголь + адеметионин 25 суток	0,36±0,08	138,8±7,85	60,1±5,6	114,3±16,46	1,31±0,21***	60,5±3,8	0,4±0,06

Примечание. * — $p < 0,05$ в сравнении с интактными животными; ** — $p < 0,05$ в сравнении с Контроль 1; *** — $p < 0,05$ в сравнении с Контроль 2

У животных группы контроль 2 (ПТП 2 ряда) на фоне отсутствия воспалительных изменений печени в центральных зонах долек обнаружена выраженная гиалиново-капельная дистрофия гепатоцитов с участками гидропической дистрофии.

На фоне введения рунихола в сочетании с ПТП 2 ряда и алкоголем в центральных зонах долек печени обнаруживались лишь отдельные участки гиалиново-капельной дистрофии гепатоцитов наряду с участками печеночной ткани с полным отсутствием патологических дистрофических изменений.

Гистологическая картина печени животных, получавших на фоне ПТП 2 ряда и алкоголя препарат адеметионин в целом соответствовала таковой в группе животных, получавших таблетки рунихола.

Важно отметить, что у крыс группы контроль 3 обнаружены лишь единичные гепатоциты с участками мелкокапельной жировой дистрофии на фоне неизменной печени, которая полностью нивелировалась под воздействием рунихола и адеметионина. В связи с небольшой показательностью эксперимента при 25-дневном введении ПТП 1 ряда + алкоголь, опыт по введению ПТП 2 ряда в сочетании с алкоголем аналогичной длительности не ставился.

Моделирование поражения печени с помощью противотуберкулезных препаратов 1, 2 ряда и алкоголя а также введение таблеток рунихол и адеметионин не привело к статистически значимому изменению исходного артериального давления во всех сериях экспериментов. При внутривенном введении интактным животным раствора АХ наблюдалось падение уровня артериального давления с последующим его восстановлением. Моделирование поражения печени с помощью ПТП 1 ряда, ПТП 2 ряда и алкоголя, привело к статистически значимому увеличению абсолютных значений САД и ДАД в ответ на внутривенное введение АХ, что свидетельствует о снижении выработки оксида азота сосудистым эндотелием в ответ на ацетилхолиновую стимуляцию. Статистически значимых различий на реакцию ЭЗВД между группой контроль 1, контроль 2 и соответствующими им экспериментальными группами препаратов не наблюдалось.

В ответ на введение раствора нитропруссид натрия также наблюдалось падение значений систолического и диастолического артериального давления с последующей постепенной нормализацией показателей. Установлено, что сочетание противотуберкулезных препаратов 1, 2 ряда и алкоголь, а также применение рунихола и адеметионина не влияло на выраженность реакции ЭНВД по систолическому АД и диастолическому АД.

Рассчитав КЭД, было обнаружено, что под влиянием введения противотуберкулезных препаратов 1

ряда и алкоголя через 12 дней он увеличивался более чем в 2 раза. Статистически значимым положительным воздействием на величину коэффициента эндотелиальной дисфункции обладал как препарат рунихол, так и препарат сравнения адеметионин, что свидетельствует об эффективной коррекции моделируемого поражения печени и важной роли в данной патологии сосудистого эндотелия.

При применении противотуберкулезных препаратов 2 ряда и алкоголя обнаружено увеличение коэффициента эндотелиальной дисфункции в 1,8 раза. Дополнительное введение рунихола статистически значимо не влияло на КЭД, а адеметионин статистически значимо снижало КЭД, приближая его к значениям интактных животных.

У животных, получавших в течение 25 суток противотуберкулезные препараты 1 ряда и алкоголь, время реакции эндотелийзависимой и эндотелинезависимой вазодилатации сокращалось незначительно, не нося статистически достоверного характера. Аналогичная тенденция прослеживалась и при оценке КЭД.

Заключение

Введение противотуберкулезных препаратов в сочетании с алкоголем в течение 12 дней приводит к тяжелому токсическому поражению печени, сопровождающемуся характерной динамикой гистологических (диффузная крупно- и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов при воздействии препаратов 1 ряда и гиалиново-капельная и гидропическая при воздействии препаратов 2 ряда). При 25-дневном введении ПТП 1 ряда в сочетании с алкоголем патологические изменения в печени выражены незначительно.

Применение рунихола и адеметионина приводит к однонаправленным положительным сдвигам биохимических показателей в сочетании с выраженной коррекцией дистрофии печеночных клеток. При этом под влиянием рунихола отмечено более выраженное снижение АСТ.

Применение таблеток рунихол не влияло, а таблетки адеметионин позволили статистически значимо снизить КЭД и приблизить его к значениям интактных животных.

На основании результатов проведенных экспериментальных исследований препарат рунихол выраженной гепатопротективным действием на выбранной модели патологии и может быть рекомендован к клиническому изучению.

Список литературы

1. **Банержи А.** Медицинская статистика понятным языком. — М.: Практическая медицина, 2007.
2. **Загдын З.М., Браженко Н.А., Браженко О.Н.** и др. Коморбидность туберкулеза, алкоголизма и наркомании // Пульмонология. — 2007. — Вып. 2. — С. 22–27.
3. **Никитин И.Г.** Гепатопротекторы: мифы и реальные возможности // Фарматека. — 2007. — 13. — С. 14–18.
4. **Сливка Ю.И.** Сравнительная характеристика гепатотоксичности изониазида, рифампицина и пипразинамида // Фармакология и токсикология. — 1989. — №4. — С. 82–85.
5. **Суханов Д.С., Виноградова Т.И., Заболотных Н.В., Васильева С.Н., Витовская М.Л.** Сравнительное влияние рунихола и экзогенного S-аденозил-L-метионина на морфологическую картину печени при гепатотоксическом воздействии противотуберкулезных препаратов резервного ряда // Архив патологии. — 2012. — Т. 74, №5. — С. 51–57.
6. **Суханов Д.С., Виноградова Т.И., Петров А.Ю., Заболотных Н.В., Коваленко А.Л., Васильева С.Н., Романцов М.Г.** Влияние сукцинат- и метионинсодержащего препарата «Рунихол» и адеметионина на процессы репаративной регенерации печени в условиях экспериментальной частичной гепатэктомии // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2012. — Т. 75, №4. — С. 20–23.
7. **Хазанов Б.А.** Фармакологическая регуляция энергетического обмена // Экспер. Клин. Фармакол. — 2009. — 34. — С. 61–64.
8. **Santini D., Vincenzi B., Massaceisi C.** et al. S-Adenosylmethionine supplementation for treatment of chemotherapy-induced liver injury // Anticancer Res. — 2003. — 23. — 6D. — P. 5173–5179.
9. **Senaratne W.V., Pinidiyapathirage M.J., Perera G.A.** et al. Anti-tuberculosis drug Induced Hepatitis — a Sri Lankan experience // Ceylon Med. J. — 2006. — Vol. 51, №2. — P. 9–14.

Поступила 16.04.13

Сведения об авторах:

Артюшкова Елена Борисовна — директор НИИ экологической медицины ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, д.б.н.

Дудка Виктор Тарасович — зав. кафедрой патологической анатомии ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, доцент