

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ ИНОЗИНА ГЛИЦИЛ-ЦИСТЕИНИЛ-
ГЛУТАМАТА ДИНАТРИЯ И АДЕМЕТИОНИНА НА МОДЕЛИ ЭТАНОЛ –
ИНДУЦИРОВАННОГО ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ**

Орлов Ю.В., Гайдук С.В., Кузьмич В.Г., Синячкин Д.А., Антушевич А.Е.

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, 194044 ул.

Академика Лебедева 6Ж, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Рост заболеваемости циррозом печени делает актуальной проблему поиска новых лекарственных препаратов для лечения токсического поражения печени различной этиологии и профилактики развития их осложнений, таких как фиброз и цирроз. В настоящее время большое внимание уделяется препаратам дисульфида глутатиона в комплексной терапии токсических поражений печени. В тоже время, сведения о гепатопротекторном и антифиброзном эффектах препаратов дисульфида глутатиона, в современной научной литературе, ограничены, что и послужило поводом для проведения данного исследования. В ходе экспериментального исследования на лабораторных животных проведена сравнительная оценка эффективности использования препаратов инозина глицил-цистеинил-глутамата динатрия и адеметионина при лечении экспериментального токсического гепатита и цирроза печени, индуцированного введением этанола в комбинации с N-нитрозодиметиламином. Лабораторные животные, после моделирования этанол/нитрозодиметиламин индуцированного цирроза печени, были разделены на четыре группы. Первая группа – животные с этанол/нитрозодиметиламин индуцированным гепатитом и циррозом печени без лечения. Вторая группа – животные с этанол/нитрозодиметиламин индуцированным гепатитом и циррозом печени получали лечение физиологическим раствором. Третья и четвертая группы – получали препараты инозина глицил-цистеинил-глутамата динатрия и адеметионина, соответственно. В отдельную группу были выделены интактные животные, которые не получали токсиканты и лекарственные препараты. Исследуемые лекарственные препараты вводились внутривентрально в течение 6 недель. В ходе исследования оценивались биохимические показатели цитолитического и холестатического синдромов поражения печени, оценивалась гистологическая картина токсического повреждения печени и эффективность применения исследуемых препаратов. Основываясь на полученных данных, можно утверждать, о наличии гепатопротекторного и антифиброзного эффектов у исследуемых препаратов, более выраженном у инозина глицил-цистеинил-глутамата

динатрия, что свидетельствует о целесообразности применения его в лечении токсического поражения печени различной этиологии и профилактике развития их осложнений.

Ключевые слова: токсические поражения печени; токсический гепатит; фиброз печени; цирроз печени; N-нитрозодиметиламин; этанол; инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия, адеметионин

**EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF THE USE OF DISODIUM
GLYCYL-CYSTEINYL-GLUTAMATE INOSINE AND ADEMETHIONINE
PREPARATIONS ON A MODEL OF ETHANOL-INDUCED TOXIC LIVER DAMAGE**

Orlov Yu.V., Kuzmich V.G., Gaiduk S.V., Sinyachkin D.A., Antushevich A. E.

Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 6ZH
Akademika Lebedeva str., 194044, Saint Petersburg, Russia

Resume. The increase in the incidence of cirrhosis of the liver makes the urgent problem of finding new drugs for the treatment of toxic liver damage of various etiologies and the prevention of the development of their complications, such as fibrosis and cirrhosis of the liver. Currently, much attention is paid to preparations of glutathione disulfide in the complex therapy of toxic liver lesions. At the same time, information about the hepatoprotective and antifibrotic effects of glutathione disulfide preparations in the modern scientific literature is limited, which was the reason for this study. In the course of an experimental study on laboratory animals, a comparative evaluation of the effectiveness of the use of inosine glycyl-cysteinyl-glutamate disodium and ademethionine in the treatment of experimental toxic hepatitis and liver cirrhosis induced by the administration of ethanol in combination with N - nitrosodimethylamine was carried out. Laboratory animals, after modeling ethanol/nitrosodimethylamine induced liver cirrhosis, were divided into four groups. The first group - animals with ethanol/nitrosodimethylamine induced hepatitis and cirrhosis of the liver without treatment. The second group - animals with ethanol/nitrosodimethylamine induced hepatitis and cirrhosis of the liver were treated with saline solution. The third and fourth groups received preparations of inosine glycyl-cysteinyl-glutamate disodium and ademethionine, respectively. Intact animals that did not receive toxicants and medications were allocated to a separate group. The studied drugs were administered intraperitoneally for 6 weeks. In the course of the study, the biochemical parameters of cytolytic and cholestatic liver damage syndromes were evaluated, the histological picture of toxic liver damage and the effectiveness of the studied drugs were evaluated. Based on the data obtained, it can be argued that the presence of hepatoprotective and antifibrotic effects in the studied drugs is more pronounced in inosine glycyl-cysteinyl-glutamate disodium, which indicates

the expediency of its use in the treatment of toxic liver damage of various etiologies and prevention of the development of their complications.

Key words: toxic liver damage; toxic hepatitis; liver fibrosis; liver cirrhosis; N-nitrosodimethylamine; ethanol; inosine glycyl-cysteinyl-glutamate disodium; ademethionine

Введение. В структуре заболеваний токсического генеза печени и связанных с ними случаев летальных исходов, в настоящее время, ведущее место занимает алкогольная болезнь печени (АБП). В современном представлении, АБП — это клинико-морфологическое понятие, включающее несколько вариантов повреждения паренхимы печени вследствие злоупотребления алкоголем от стеатоза до алкогольного гепатита, приводящего к развитию последовательных стадий — фиброз, затем цирроз печени и далее гепатоцеллюлярная карцинома [1-3]. По данным ВОЗ, гепатотоксичным принято считать количество алкоголя, равное 40-80 грамм этилового спирта в сутки для мужчин и 20 грамм для женщин [4]. По данным Росстата, официальная заболеваемость алкоголизмом в России в 2017 году составила 1304600 человек.

Одним из наиболее значимых осложнений токсических поражений печени является цирроз. Среди причин смерти в мире, цирроз печени занимает девятое место. Только в 2017 году цирроз печени стал причиной более 1320000 случаев смерти в мире, что составило 2,4 % от общего числа смертей. Исследования, проводимые в России, установили достоверный рост заболевания декомпенсированным циррозом печени в период с 1990 года по 2017 год в 2 раза [4, 5].

Доля цирроза печени развившегося на фоне употребления алкоголя составляет, по разным данным, от 40-50 до 70-80 % всех случаев цирроза печени [1, 6-8]. Группа «иных» факторов, к которым относятся и промышленные токсиканты, составляет от 4 до 8 % всех случаев цирроза печени [9, 10]. Одним из наиболее распространенных представителей промышленных токсикантов является N-нитрозодиметиламин (НДМА) — вещество, отнесённое к классу супермутагенов. НДМА является первым представителем канцерогенных нитрозаминов, обладает высокой токсичностью, тератогенным и эмбриотоксическим действием, широко используется в промышленности, в достаточном количестве образуется в атмосферном воздухе, в табачном дыме, при копчении продуктов питания [11]. Летальная доза для крысы при приеме внутрь LD₅₀ составляет 37,0 мг/кг. Патогенетические механизмы формирования НДМА — индуцированного цирроза печени изучены недостаточно. Основным маркером заболевания считается разрастание в печени компонентов экстрацеллюлярного матрикса, клеточная пролиферация, гиперсекреция цитокинов и ремоделирование ткани.

Показано, что в результате гибели гепатоцитов и накопления токсических метаболитов усиливаются процессы воспалительной инфильтрации ткани печени. Как следствие, происходит активация Купферовских клеток [11], что сопровождается усугублением воспалительной реакции. Эта реакция способствует активации звездчатых клеток, которые имеют определяющее значение в формировании фиброза печени [12].

Прежде чем сформироваться циррозу печени из токсического гепатита, патологический процесс проходит стадию фиброза.

Фиброз печени – представляет собой процесс образования соединительной ткани в печени вследствие ее повреждения [13, 14]. Подобно процессу заживления повреждений кожи, восстановление печени происходит за счет депонирования коллагена и других компонентов матрикса, а также ремоделирования ткани. Со временем, этот процесс приводит к циррозу с нарушением функции печени, развитием портальной гипертензии, печеночной недостаточности.

Разнообразие патогенетических механизмов воздействия на печень, приводящих к развитию и хронизация процесса ее повреждения, сопровождаются системными, одноклеточными, эволюционно устоявшимися, однонаправленными структурными изменениями ткани печени. Триггерные механизмы, запускаемые различными этиологическими факторами, приводят к развитию некровоспалительной реакции различной степени выраженности [15].

Фиброз печени долгое время считался необратимым, пассивным процессом, возникающим при хроническом повреждении печени вследствие коллапса паренхимы и замещения ее соединительной тканью богатой коллагеном. За последние годы, отношение к данной проблеме коренным образом поменялось. В настоящее время фиброз печени рассматривается как обратимый процесс, при условии своевременного удаления этиологического и патогенетического факторов [14].

На сегодняшний день существует широкий ряд диагностических возможностей определения выраженности фиброза [16]. Морфологическое исследование среди них признается «золотым стандартом» [17].

Лечению токсического гепатита, фиброза, цирроза посвящено множество экспериментальных работ и клинических наблюдений. Возможности современной антифиброзной терапии при различных хронических заболеваниях печени, в настоящее время, следует признать очень скромными. Высокоэффективных препаратов с выраженным антифиброзным действием, пока не создано, а лечение фиброза печени находится в стадии разработки [18].

За последние годы в гастроэнтерологии, наркологии и психиатрии нашел широкое применение препарат гептрал. Его активным компонентом является S-аденозил-L-метионин (адеметионин) — физиологический субстрат многих биологических реакций, эндогенно синтезируемый из метионина и аденозина [18].

Адеметионин — универсальный субстрат, выступающий в качестве необходимого структурного элемента, по крайней мере, в трех важных биохимических цепочках: трансметилировании, транссульфурировании и аминопропилировании [1]. Последнее имеет прямое отношение к процессам пролиферации гепатоцитов и регенерации печени (синтез полиаминов) [19].

В последнее время все больший интерес представляют исследования направленные на изучение влияния тиопозитинов на структуры печени при наличии грубой органической патологии. Установлено, что окисленный глутатион способен оказывать стимулирующее действие на эндогенную продукцию гемопозитических факторов и цитокинов [20]. Стабилизация дисульфидной связи окисленного глутатиона способствует пролонгированию времени пребывания экзогенно введенного глутатиона в биологических средах в окисленной (дисульфидной) форме и усиливает впервые установленные биолого-фармакологические эффекты окисленного глутатиона. Окисленный глутатион метаболизируется ферментом НАДФН⁺ –зависимой глутатион-редуктазой, который расщепляет дисульфидную связь с образованием двух молекул восстановленного глутатиона в биологических средах [18]. Пролонгация эффектов экзогенно введенного окисленного глутатиона в биологических средах достигается добавлением инозина или инозинмонофосфата, это определяет защиту от НАДФН⁺ – зависимой глутатион-редуктазы.

Из препаратов этой группы выделяют препарат инозина глицил-цистеинил-глутамат динария, который представляет собой органическую соль, включающую инозин (пуриновый компонент) и глицил-цистеинил-глутамат динария (пептидный компонент) в соотношение 1:1. Регулирует тиол-дисульфидный обмен гепатоцитов, индуцирует экспрессию ферментов первой и второй фаз детоксикации ксенобиотиков, стимулирует продукцию интерферонов α и γ макрофагами печени. Иммуномодулирующая и цитопротекторная активность пуринового и пептидного компонентов препарата приводят к ингибированию цитолиза гепатоцитов, разрешению воспалительного процесса при токсических и вирусных поражениях клеток печени. Пуриновый и пептидный компоненты препарата опосредованно влияют на метаболизм, процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток печени, способствуя восстановлению нормально структуры печеночной ткани. Обладает гепатопротективным, противовирусным и иммуномодулирующим действием [20].

По данным научной литературы, инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия показал свою эффективность при лечении хронических вирусных гепатитов В и С, острых крайне тяжёлых отравлений этанолом [6, 20].

Эффективность пептидных гепатопротекторов при поражениях печени различной этиологии позволяет предположить, что данный препарат окажется эффективным при лечении АБП, что и послужило поводом для проведения настоящего исследования.

При анализе литературы установлено, что в механизме токсического поражения печени этанолом и НДМА, большую роль играют процессы перекисного окисления липидов. Так же, при анализе литературы, установлено, что инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия обладает гепатозащитным действием в ряде биологических и химических повреждающих факторов. Так же, дисульфид глутатиона, обладает опосредованным антиоксидантным действием за счёт активации ферментов антиоксидантной защиты с последующим ингибированием процессов перекисного окисления липидов [21].

Проведенный анализ литературных данных позволил сформулировать научную задачу и определил цель настоящего исследования, в сравнении эффективности инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия и адеметионина на модели этанол/НДМА-индуцированного гепатита и цирроза печени.

Цель исследования. В эксперименте оценить эффективность применения инозина глицил-цистеинил-глутамата динатрия (ИГ) и адеметионина (sAMe) в качестве средств патогенетической терапии токсических поражений печени и профилактики развития осложнения - фиброз печени.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование по оценке эффективности применения инозина глицил-цистеинил-глутамата динатрия и адеметионина в качестве средств патогенетической терапии токсических поражений печени и профилактики развития осложнения одобрено разрешением этического комитета (выписка из протокола № 247 от 22.11.2022 г.) и проведено на базе кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. Исследование проводилось в параллельных группах и носило сравнительный характер.

На беспородных белых крысах-самцах была отработана модель поражения печени этанол/НДМА с формированием гепатита тяжёлой степени и цирроза печени.

Затравка подопытных крыс токсикантами сопровождалось развитием выраженного токсического гепатита и цирроза печени с формированием основных синдромов поражения: цитолитического, холестатического и нарушением основных функций печени.

Для лечения применялись препараты ИГ и sАМе. Эффективность применения препаратов ИГ в дозе 30 мг/кг в сутки и sАМе в дозе 70 мг/кг в сутки через 6 недель при лечении цирроза печени.

Контроль оцениваемых показателей при лечении цирроза печени выполнялся 3-хкратно: – перед началом лечения; – через 3 недели лечения; – через 6 недель лечения.

Цирроз печени у экспериментальных животных моделировали, путем введения этанола и N-нитрозодиметиламина. Через 3 недели после начала введения токсикантов у животных отмечали появление характерных для цирроза печени признаков асцита. Гистологическая картина соответствовала циррозу печени: выявляли центрo-портальные, порто-портальные и центрo-центрoльные фиброзные мостики, формирование псевдодолек. Вдоль соединительно-тканых образований отмечали скопления плазмoцитарно-эозинофильного инфильтрата, дистрофические изменения гепатоцитов. Данные гистологического исследования представлены на рисунке 1.

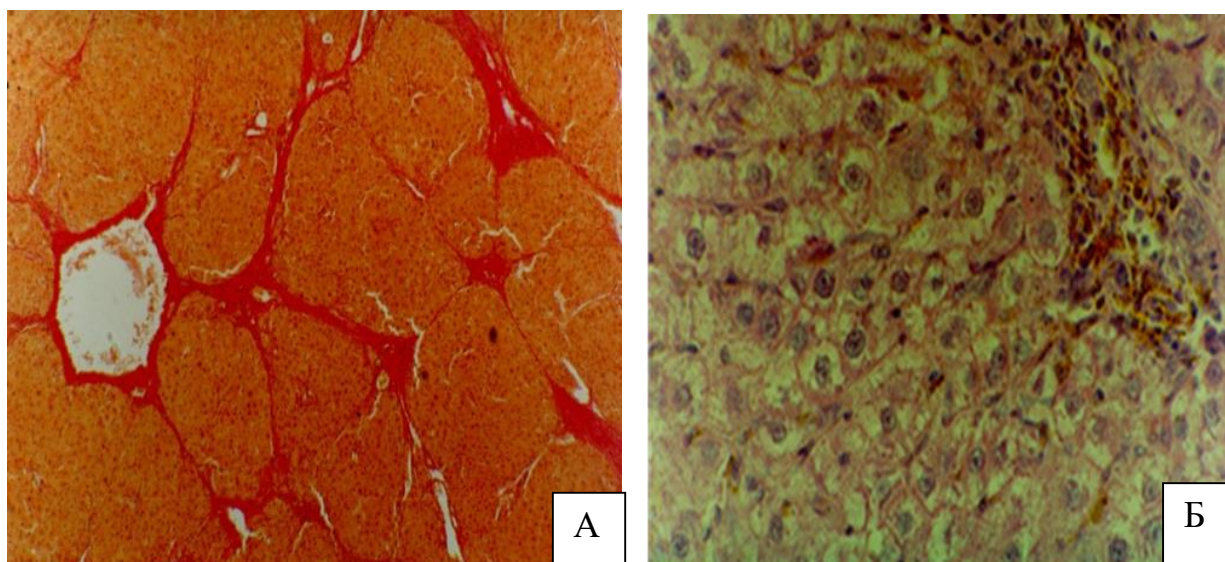


Рисунок 1 – Участок паренхимы печени через 3 недели после введения (этанол и НДМА).

А, Б – Сформированный цирроз: А: формирование псевдодолек (узелковая псевдодолька); разросшаяся соединительная ткань (фиброз портальных трактов). Б: дистрофические изменения гепатоцитов.

А – Окраска по Ван-Гизон, увеличение x 400.

Б – Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 400.

Гибель экспериментальных животных через 1 и 2 недели после начала эксперимента не отмечали. Количество погибших животных к концу 3 недели введения этанола и НДМА составило 20 %.

Данные биохимического анализа крови подтверждали формирование основных синдромов поражения печени: цитолитического и холестатического.

Схема организации экспериментального исследования представлена на рисунке 2.

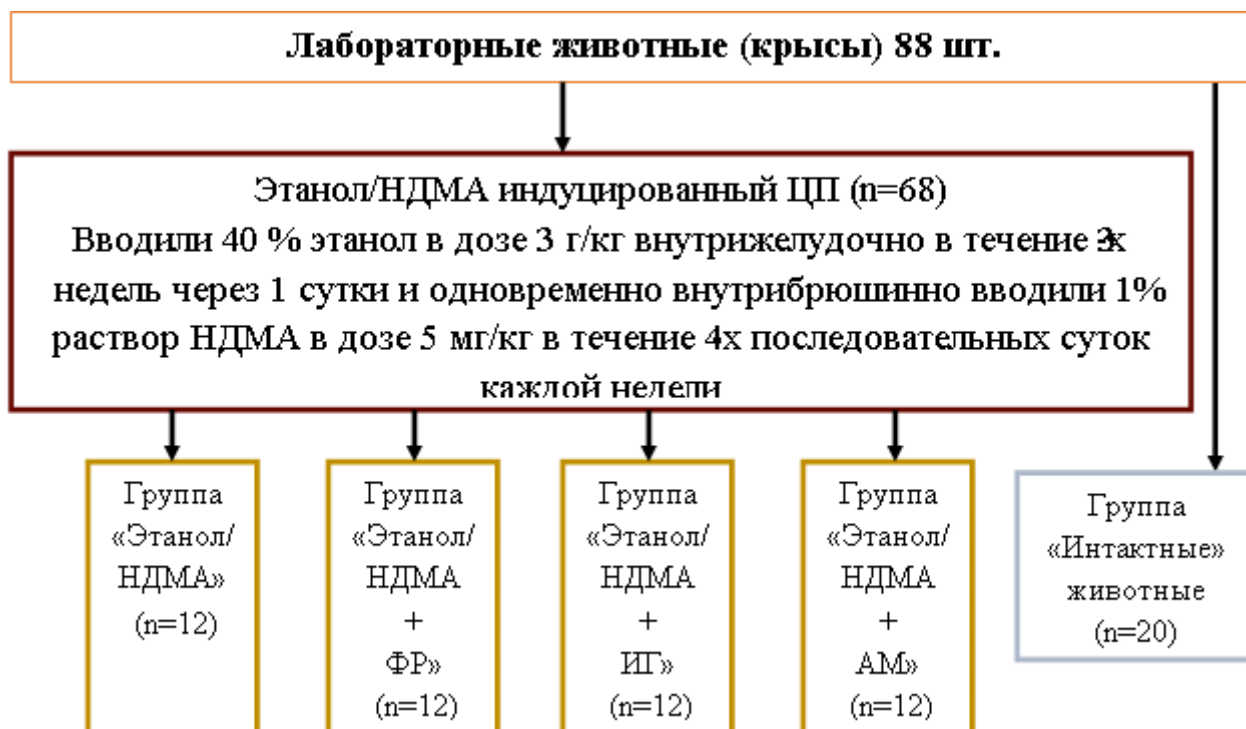


Рисунок 2 – Схема организации экспериментального исследования

Статистическую обработку данных экспериментальных исследований проводили при помощи программы Statistica 5.0 и Statistica 10.0. Описание данных, распределение которых было отличным от нормального, осуществляли при помощи медианы (Me), первого [Qn] и третьего [Qv] квартилей. Анализ независимых групп выполняли при помощи U-критерия Манна–Уитни. Для сравнения нескольких независимых групп применяли дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса и q-критерий Ньюмена–Кейлса для выполнения множественных сравнений. С помощью таблиц процентов и их ошибок по Генесу определяли среднюю величину относительных показателей и ее ошибку ($X \pm S_x$). Точный критерий Фишера с поправкой Йетса использовали для оценки значимости различий выживаемости между группами. О статистической значимости различий между группами судили при уровне $p < 0,05$.

Результаты исследования. Проводили сравнение эффективности препарата ИГ и sAMe при экспериментальном циррозе печени, индуцированным этанол/НДМА.

Назначение экспериментальных групп, сроки и объем проведенных исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Характеристика экспериментальных групп при исследовании эффективности препаратов ИГ и sAMe на модели (этанол/НДМА) - индуцированного цирроза печени

№ группы	Назначение группы	Срок выведения из опыта	Объем исследований
1	2	4	5
1	Интактные	3 недели	биохимический анализ крови, гистологические исследования ткани печени
2	Этанол/НДМА	3 недели	
3	Этанол/НДМА +ФР»	6 недель	
		9 недель	
4	Этанол/НДМА +ИГ	6 недель	
		9 недель	
5	Этанол/НДМА +sAMe»	6 недель	
		9 недель	

Динамика гибели всех экспериментальных животных контрольной и опытных групп в период с 4 по 9 неделю наблюдения приведены в таблице 2.

Таблица 2.

Динамика гибели животных на фоне развития ЭЦП (3 недели после начала введения (этанол/НДМА)) и в различные сроки в ходе курсового введения ФР, ИГ, sAMe (n до начала эксперимента – 68)

Показатели		Экспериментальные группы			
		«Этанол/НДМА» (n=12)	«Этанол/НДМА+ФР» (n=12)	«Этанол/НДМА+ИГ» (n=12)	«Этанол/НДМА+sAMe» (n=12)
Гибель в период 4 - 9 недель	гибель	4/12	3/12	0/12	2/12
	$X \pm s_x \%$	33 $\pm$ 15	25 $\pm$ 13	0 $\pm$ 8	17 $\pm$ 11
Примечание: в числителе – количество погибших животных; в знаменателе – общее количество животных в группе.					

В группе «Этанол/НДМА» и «Этанол/НДМА+ФР» выявлена гибель 33 % и 25 % животных соответственно в период с 4 по 5 недели наблюдения. Введение препаратов ИГ и sАМе уже в течение первых двух недель после формирования ЦП, значительно снижала гибель экспериментальных животных (до 17 %) в группе «Этанол/НДМА+sАМе», а в группе «Этанол/НДМА+ИГ» предотвращало гибель 100 % животных.

Общее количество погибших животных за все время наблюдения (с момента начала введения препаратов с 4 по 9 неделю) в экспериментальных группах составило: 4 – в группе «Этанол/НДМА»; 3 – в группе «Этанол/НДМА+ФР»; 2 – в группе «Этанол/НДМА+sАМе» и 0 в группе «Этанол/НДМА+ИГ», что позволило сделать вывод о выраженном гепатопротективном эффекте препаратов ИГ и sАМе.

Таким образом, курсовое введение препарата ИГ способствовало снижению летальности подопытных крыс на 16 % больше, чем при применении препарата sАМе.

Гибель животных после окончания введения (этанола/НДМА) была обусловлена недостаточной функцией печени на фоне выраженного цитолиза, а в отдаленные сроки - развитием выраженного фиброза на месте погибших гепатоцитов. Исследование основных биохимических показателей (через 6 и 9 недель после начала эксперимента) представлены в таблице 3 и 4.

Таблица 3.

Биохимические показатели крови экспериментальных животных через 3 недели после в/б введения препарата ИГ в дозе 30 мг/кг и препарата sАМе в дозе 70 мг/кг на фоне этанол/НДМА-индуцированного ЦП (Ме [Qн;Qв])

Показатель	Интактные (n=12)	Этанол/ НДМА, 3 недели (n=8)	«Этанол/ НДМА+ФР, 6 недель (n=6)	Этанол/ НДМА+ ИГ, 6 недель (n=6)	Этанол/ НДМА+ sАМе, 6 недель (n=6)
Щелочная фосфатаза, ед/л	345,12 [324,61;365 ,63]	537,35 [479,43;595,27] *	490,62 [463,84;517,4]	277,11 [246,48;307, 74]	375,51 [337,78;413,2 4]*
АСТ, ед/л	217,02 [211,33;222 ,71]	259,45 [244,83;274,07] *	333,11 [318,14;348,08]	246,91 [233,12;260, 7]	283,51 [266,0 5;300,97]*
АЛТ, ед/л	146,42 [134,05;158 ,79]	155,32 [145,99;165,31] *	351,51 [335,67;367,65]	133,92 [124,64;142, 48]	220,61 [200,72;240,5]*
Общий билирубин, мкмоль/л	1,81 [1,75;1,87]	4,36 [3,47;5,25]*	3,21 [2,86;3,56]*	2,21 [1,87;2,64]	2,82 [2,8;2,84]
Примечания:					

- * – различия значимы по сравнению с группой «Интактные», $p < 0,05$;
- ♦ – различия значимы по сравнению с группой «Этанол/НДМА+ФР», $p < 0,05$;
- – различия значимые по сравнению с группой «Этанол/НДМА+ИГ», $p < 0,05$.

Введение препарата ИГ в дозе 30 мг/кг внутривенно у крыс с этанол/НДМА-индуцированным циррозом печени в течение 3 недель привело к снижению биохимических показателей цитолиза гепатоцитов и холестаза: АЛТ на 15 %, ЩФ на 48 %, общего билирубина на 50 %. Введение препарата sАМе в дозе 70 мг/кг в течение 3 недель, привело к снижению ЩФ на 30 %, общего билирубина всего на 36 %, и не препятствовало нарастанию цитолитического синдрома.

Таблица 4.

Биохимические показатели крови экспериментальных животных через 6 недель после в/б введения препарата ИГ в дозе 30 мг/кг и препарата sАМе в дозе 70 мг/кг на фоне этанол/НДМА-индуцированного ЦП (Ме [Qн;Qв])

Показатель	Интактные (n=12)	Этанол/ НДМА, 3 недели (n=8)	«Этанол/НДМА+ ФР, 9 недель (n=2)	Этанол/ НДМА+ИГ, 9 недель (n=6)	Этанол/ НДМА+ sАМе, 9 недель (n=4)
Щелочная фосфатаза, ед/л	345,12 [324,61;365,63]	537,35 [479,43;595,27]*	487,92 [464,93;510,91]	376,51 [350,28;402,74]	382,11 [366,49;397,73]
АСТ, ед/л	217,02 [211,33;222,71]	259,45 [244,83;274,07]*	240,72 [218,27;263,17]	214,42 [198,66;230,18]●	239,51 [218,12;260,9]●
АЛТ, ед/л	146,42 [134,05;158,79]	155,32 [145,99;165,31]*	241,31 [231,87;250,75]*	128,01 [116,87;139,15]●	141,52 [129,0;154,04]*●
Общий билирубин, мкмоль/л	1,81 [1,75;1,87]	4,36 [3,47;5,25]*	1,92 [1,87;1,97]	1,82 [1,78;1,86]	1,88 [1,84;1,92]
Примечания: * – различия значимы по сравнению с группой «Интактные», $p < 0,05$; ♦ – различия значимы по сравнению с группой «Этанол/НДМА+ФР», $p < 0,05$; ● – различия значимые по сравнению с группой «Этанол/НДМА+ИГ», $p < 0,05$.					

Введение препарата ИГ в дозе 30 мг/кг внутривенно у крыс с этанол/НДМА-индуцированным циррозом печени в течение 6 недель снижало уровень общего билирубина на 58 %.

Введение препарата sАМе в дозе 70 мг/кг в течение 6 недель, снижало уровень общего билирубина снижался на 57 %.

Для оценки относительного содержания соединительной ткани в печени животных опытных и контрольных групп была проведена морфометрия соединительнотканых волокон на срезах печени (таблица 5).

Таблица 5.

Относительное содержание соединительной ткани в печени через 3 и 6 недель терапии этанол/НДМА - индуцированного цирроза, Ме [Qн;Qв]

Группы	Содержание соединительной ткани, %	
	Через 3 недели	Через 6 недель
Интактные	1,72 [1,61;1,83]	
Этанол/НДМА	8,72 [8,0;9,44]	15,82 [14,31;17,33]
Этанол/НДМА+ФР	9,31 [8,39;10,23]	13,31 [12,1;14,52]
Этанол/НДМА+ИГ	5,41 [4,9;5,92] ^{***}	8,02 [7,51;8,53] ^{***}
Этанол + НДМА+sАМе	7,51 [7,0;8,02] ^{***}	11,11 [10,8;11,42] ^{***}
Примечание: * – различия значимы по сравнению с группой «Этанол/НДМА+ФР», p<0,05; ** – различия значимы по сравнению с группой «Этанол/НДМА+ИГ», p < 0,05.		

На фоне введения препарата ИГ в дозе 30 мг/кг в течение 3 недель установлено достоверное уменьшение прогрессирования фиброза печени с 8,72 % до 5,41 %, что составило 38 % по сравнению с группой «Этанол/НДМА». Лечение препаратом sАМе в дозе 70 мг/кг за этот же период приводило к уменьшению прогрессирования фиброза с 8,72 % до 7,51 %, что составило всего 14 % по сравнению с группой «Этанол/НДМА». Через 6 недель лечения препаратом ИГ в дозе 30 мг/кг выявлено достоверное уменьшение прогрессирования фиброза печени с 15,8 % до 8 %, что составило 44 %, а лечение препаратом sАМе в дозе 70 мг/кг за этот же период приводило к уменьшению прогрессирования фиброза с 15,8 % до 11,1 %, что составило 30 % по сравнению с группой «Этанол/НДМА».

Из таблицы следует, что применение препарата ИГ в дозе 30 мг/кг в течение 6 недель при экспериментальном циррозе печени, индуцированном этанолом и НДМА, обеспечивает регрессию новообразования соединительной ткани, т.е. фиброгенеза. Этот эффект существенно превышает ранее предполагаемое антифибротическое действие препарата sАМе.

Использование препарата ИГ в дозе 30 мг/кг в течение 3 и 6 недель (с 4 по 9 недели наблюдения на фоне предшествующей хронической интоксикации этанолом) оказывало

значимый гепатопротективный (терапевтический) эффект, более выраженный по сравнению с препаратом sАМе.

В гистологических препаратах на фоне проводимой терапии ИГ через 3 недели выявлено снижение новообразования соединительнотканых септ в паренхиме печени, снижение количества гепатоцитов имеющих признаки белково-гидропической дистрофии, увеличение числа двухъядерных клеток, как признака активации процессов регенерации (рисунок 3).

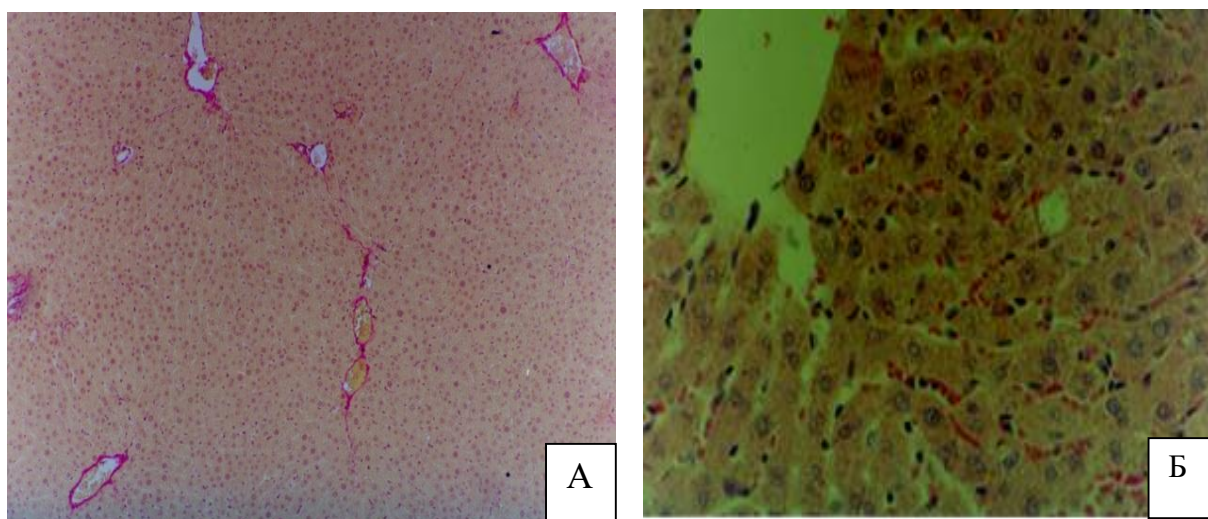


Рисунок 3 – Паренхима печени крысы с этанол/НДМА-индуцированным циррозом через 3 недели после начала введения ИГ в дозе 30 мг/кг

А: активность коллагеновых волокон минимальна, коллагеновые волокна распределены в виде тонких нитей в перисинусоидальной и перипортальной зонах долек. Окраска по Ван Гизону, увеличение x 200.

Б: двухъядерные гепатоциты. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 400.

Таким образом, применение препарата ИГ в течение 3 недель, обеспечивает регрессию новообразования соединительной ткани в 2,7 раза более эффективно, чем применение препарата sАМе за тот же период.

Продолжение введения препарата ИГ в течение 6 недель приводило к дальнейшему существенному снижению новообразования соединительной ткани и отсутствию признаков нарушения внутриорганной гемодинамики. Также, количество дистрофически измененных гепатоцитов значимо снижалось. Через 6 недель гепатопротективный эффект от применения ИГ был в 1,5 раза выше, чем от применения препарата sАМе за тот же период времени.

Таким образом, введение препарата ИГ в дозе 30 мг/кг оказывало значимое гепатопротективное действие и способствовало регрессии патоморфологических проявлений этанол/НДМА-индуцированного цирроза печени.

Введение препарата sАМе в течение 6 недель приводило к снижению объемного содержания соединительной ткани в паренхиме печени. Однако большое количество волокон соединительной ткани сохранялось перипортально, в составе крупных септ, наблюдались мелкие соединительнотканые септы. В гепатоцитах наблюдались признаки дистрофических изменений, а также имелись признаки умеренной лимфоцитарной инфильтрации.

Обсуждение. Основным результатом проведенного экспериментального исследования является доказательство эффективности препарата ИГ (30 мг/кг 1 раз в сутки на протяжении 6 недель) и препарата sАМе (70 мг/кг 1 раз в сутки за тот же период) при лечении экспериментального гепатита и цирроза печени. Оба препарата способствовали достижению клинического ответа на терапию, что определялось снижением уровня биохимических показателей цитолитического и холестатического синдрома, уменьшением относительного содержания соединительной ткани в печени.

Полученные в ходе экспериментальной части исследования результаты соотносятся с имеющимися литературными данными. Введение препарата ИГ в дозе 30 мг/кг внутривентрально у крыс с этанол/НДМА-индуцированным циррозом печени в течение 3 недель привело к снижению биохимических показателей цитолиза гепатоцитов и холестаза: АЛТ на 15 %, ЩФ на 48 %, общего билирубина на 50 %. Через 6 недель уровень общего билирубина снижался на 58 %.

Введение препарата sАМе в дозе 70 мг/кг в течение 3 недель, привело к снижению ЩФ на 30 %, общего билирубина всего на 36 %, и не препятствовало нарастанию цитолитического синдрома. Через 6 недель введение sАМе, уровень общего билирубина снижался на 57 %.

Полученные данные подтверждают наличие выраженного гепатопротекторного эффекта у препарата ИГ.

Высокая гепатопротекторная активность препарата ИГ была подтверждена и при исследовании морфометрических показателей.

Применение препарата ИГ в дозе 30 мг/кг внутривентрально и препарата sАМе в дозе 70 мг/кг внутривентрально при лечении этанол/НДМА-индуцированного ЦП приводило к регрессии всех трех признаков (некроз гепатоцитов, разрастание фиброзной ткани, развитие портальной гипертензии) заболевания.

На фоне лечения этанол/НДМА-индуцированного ЦП препаратами: ИГ в дозе 30 мг/кг в течение 3 недель выявлено достоверное уменьшение прогрессирования фиброза печени и

составило 38 % от исходного уровня; лечение sАМе в дозе 70 мг/кг за этот же период приводило к уменьшению прогрессирования фиброза и составило всего 14 % от исходного уровня. Через 6 недель лечения препаратом ИГ в дозе 30 мг/кг выявлено достоверное уменьшение прогрессирования фиброза печени на 44 % от исходного уровня, а лечение препаратом sАМе в дозе 70 мг/кг за этот же период приводило к уменьшению прогрессирования фиброза на 30 % от исходного уровня. Динамика биохимических показателей крови совпадает с данными морфометрии относительного содержания соединительной ткани в печени животных и свидетельствует о гепатопротективном эффекте препарата ИГ.

Выявленные эффекты препарата ИГ на течение этанол/НДМА-индуцированного гепатита и ЦП позволили предположить, что применение данного препарата в клинической практике, способно оказывать гепатопротекторное действие у пациентов с алкогольной болезнью печени на различных стадиях заболевания и обеспечить более быстрое восстановление нарушенных функций.

Гепатопротекторное действие препарата ИГ обусловлено либо действием препарата на нормальные гепатоциты, путём повышения их устойчивости к неблагоприятным факторам, либо путём индукции в поражённых гепатоцитах реакций программируемой гибели клеток – апоптоза, или сочетанием обоих механизмов. ИГ регулирует тиол-дисульфидный обмен гепатоцитов, индуцируя экспрессию ферментов первой и второй фаз детоксикации ксенобиотиков, опосредованно влияет на процессы пролиферации, метаболизм, дифференцировки и апоптоза клеток печени, способствуя нормальной структуре печеночной ткани [20].

Заключение. Результаты, полученные при проведении экспериментального исследования, свидетельствуют о положительном эффекте терапии препаратом ИГ и sАМе на показатели функционального состояния печени у лабораторных животных при токсическом гепатите и обладают антифибротическим эффектом при лечении цирроза печени. Эффективность препарата ИГ в дозе 30 мг/кг в сутки не уступает препарату sАМе в дозе 70 мг/кг в сутки, а по ряду исследованным параметрам имеет перед ним преимущество. Это делает обоснованным включение ИГ в число препаратов, обеспечивающих комплексный патогенетический подход при лечении токсических поражений печени различной этиологии и профилактики развития их осложнений – фиброза печени.

Список литературы

1. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С., и др. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени по ведению взрослых пациентов с алкогольной болезнью печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2017; 27(6): 20-40. DOI: 10.22416/1382-4376-2017-27-6-20-40.
2. Лазебник Л.Б., Голованова Е. В., Еремина Е. Ю., и др. Клинические рекомендации: алкогольная болезнь печени у взрослых. *Терапия*. 2020; 6.4(38): 10-35. – DOI 10.18565/therapy.2020.4.10-35.
3. Dasarathy S. Nutrition and alcoholic liver disease: effects of alcoholism on nutrition, effects of nutrition on alcoholic liver disease, and nutritional therapies for alcoholic liver disease. *Clin. LiverDis*. 2016; 20(3): 535-550. doi: 10.1016/j.cld.2016.02.010.
4. Max G.G., Fullman N., Hawley C. et al. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2018; 392: 1015–1035. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31310-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31310-2).
5. Roth G.A., Abate D., Abate K.H. et al. Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018; 392: 1736–1788.
6. Антушевич А.Е., Башарин В.А., Рейнюк В.Л., Бугаев П.А. Эффективность инозина глицил-цистеинил-глутамата динатрия и пиридоксина гидрохлорида при остром отравлении несимметричным диметилгидразином // *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2018; 1 (61): 164–167.
7. EASL Clinical Practical Guidelines: *Management of Alcoholic Liver Disease*. *J. Hepatol*. 2018; 69:154-181.
8. Sonika U., Jadaun S., Ranjan G., et al. Alcohol-related acute-on-chronic liver failure- Comparison of various prognostic scores in predicting outcome. *Indian J. Gastroenterol*. 2018; 37(1): 50-57. doi: 10.1007/s12664-018-0827-z.
9. Цыркунов В.М., Прокопчик Н.И., Андреев В.П. Аутоиммунные холестатические поражения желчных протоков. *Гепатология и гастроэнтерология*. 2021; 5(2): 99-100. <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2021-5-2-99-100>.
10. Доровских В.А., Симонова Н.В., Переверзев Д.И., и др. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2017; 80 (4): 18 -22.
11. Извещение о нежелательной реакции или отсутствии терапевтического эффекта лекарственного препарата. –URL: <http://www.roszdravnadzor.ru/drugs/monitpringlp/documents/547>. – (дата обращения 18.04.2019).

12. Евсеенко Д.А., Дундаров З.А. Экспериментальное формирование цирроза печени животных в лабораторных условиях. *Hepatology and Gastroenterology*. 2018; 2: 122-128.
13. Блинов Д.Е., Кухарева Е.И., Политидис Р.Р. Основные патогенетические механизмы фиброза печени и их особенности при вирусном гепатите В. *Трудный пациент*. 2021; 19 (6): 50–53. doi: 10.224412/2074-1005-2021-6-50-53.
14. Циммерман Я.С. Фиброз печени: патогенез, методы диагностики, перспективы лечения. *Клиническая фармакология и терапия*. 2017; 26 (1): 54-58.
15. Кулебина Е.А., Сурков А.Н. Механизмы формирования фиброза печени: современные представления. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2019; 98 (6): 166-170.
16. Крюков Е.В., Казаков С.П., Семисерин В.А., и др. Использование прямых маркеров фиброза печени в диагностике неалкогольной жировой болезни печени у военнослужащих контрактной службы. *Медицинский алфавит No 19*. 2016; 3: 85-86.
17. Патлусов Е.П., Колесник В.В., Чернов В.С., и др. Пункционная биопсия печени - прошлое или настоящее? *Уральский медицинский журнал*. 2019; 3 (171): 77-82.
18. Орлов Ю.В., Бугаев П.А., Халимов Ю.Ш. и др. Эффективность дисульфидов глутатиона в лечении токсических гепатитов и фиброзов печени. *Военно-медицинский журнал*. 2018; 339 (11): 21-27.
19. Гептрал. Справочник лекарств РЛС: инструкция, применение и описание препарата sАМе. – Режим доступа: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_10764.htm (дата обращения 29.01.2018).
20. Моликсан. Справочник лекарств РЛС: инструкция, применение и описание препарата ИГ. – Режим доступа: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_23291.htm (дата обращения 29.01.2018).
21. Tew K.D. Redox in redux: emergent roles for glutathione S-transferase P(GSTP) in regulation of cell signaling and S-glutathionylation. *Biochem. Pharmacol.* 2007; 73 (9): 1257-1269.