



Научно-практический рецензируемый медицинский журнал для специалистов в области гастроэнтерологии и других смежных нозологий. Журнал посвящен научным проблемам гастроэнтерологии, включая вопросы экспериментальной и клинической гастроэнтерологии, научные обзоры и лекции для практикующих врачей, случаи из клинической практики, а также информацию о последних научных форумах в России и за рубежом по основным проблемам гастроэнтерологии. Scientific-and-practical peered reviewed medical journal.

Расширенная редколлегия:

Абдулганиева Д. И. (Казань),
Абдулхаков Р. А. (Казань),
Алексенко С. А. (Владивосток),
Алиева Э. И. (Москва),
Ахмедов В. А. (Омск),
Бордин Д. С. (Москва),
Бурдули Н. М. (Владикавказ),
Бурков С. Г. (Москва),
Бутов М. А. (Рязань),
Вахрушев Я. М. (Ижевск),
Губергриц Н. Б. (Донецк, Украина),
Джугал Г. С. (Тверь),
Добрица В. П. (Санкт-Петербург),
Еремينا Н. Ю. (Саранск),
Ефремов Л. И. (Москва),
Звенигородская Л. А. (Москва),
Звягинцева Т. Д. (Харьков, Украина),
Иваников И. О. (Москва),
Исаков В. А. (Москва),
Каримов М. М. (Ташкент, Узбекистан),
Касьяненко В. И. (Москва),
Кашин С. В. (Ярославль),
Королев М. П. (Санкт-Петербург),
Коротко К. Ф. (Краснодар),
Корочанская Н. В. (Краснодар),
Курилович С. А. (Новосибирск),
Ливзан М. А. (Омск),
Лоранская И. Д. (Москва),
Миллер Д. А. (Тверь),
Неронов В. А. (Москва),
Нечаева Г. И. (Новосибирск),
Никитин И. Г. (Москва),
Орешко Л. С. (Санкт-Петербург),
Пальцев А. И. (Новосибирск),
Рустамова М. Т. (Узбекистан),
Саифутдинов Р. Г. (Казань),
Сарсенбаева А. С. (Челябинск),
Селиверстов П. В. к.м.н. (Санкт-Петербург),
Симаненков В. И. (Санкт-Петербург),
Скипенко О. Г. (Москва),
Федоров Е. Д. (Москва),
Фирсова Л. Д. (Москва),
Ткачев А. В. (Ростов на Дону),
Цуканов В. В. (Красноярск),
Чернин В. В. (Тверь),

Extended editorial board:

D. I. Abdulganieva (Kazan),
R. A. Abdulhakov (Kazan),
S. A. Alexeenko (Vladivostok),
E. I. Aliyeva (Moscow),
D. S. Bordin (Moscow),
N. M. Burduli (Vladikavkaz),
S. G. Burkov (Moscow),
M. A. Butov (Ryazan),
Y. M. Vakhroushev (Izhevsk),
N. B. Gubergits (Donetsk, Ukraine),
G. S. Dzhaulai (Tver),
V. P. Dobritsa (St. Petersburg),
E. Y. Eremina (Saratov),
L. I. Efremov (Moscow),
L. A. Zvenigorodskaya (Moscow),
T. D. Zuyagintseva (Kharkov, Ukraine),
I. O. Ivanikov (Moscow),
V. A. Isakov (Moscow),
M. M. Karimov (Tashkent, Uzbekistan),
V. I. Kasyanenko (Moscow),
S. V. Kashin (Yaroslavl),
M. P. Korolev (St. Petersburg),
G. F. Korot'ko (Krasnodar),
N. V. Korochanskaya (Krasnodar),
S. A. Kurilovich (Novosibirsk),
M. A. Livzan (Omsk),
I. D. Loranskaya (Moscow),
D. A. Miller (Tver),
V. A. Neronov (Moscow),
G. I. Nechayev (Novosibirsk),
I. G. Nikitin (Moscow),
L. S. Oreshko (St. Petersburg),
A. I. Paltsev (Novosibirsk),
M. T. Rustamov (Uzbekistan),
R. G. Saifutdinov (Kazan),
A. S. Sarsenbayeva (Chelyabinsk),
P. V. Seliverstov Ph.D. (Saint Petersburg),
V. I. Simanenko (St. Petersburg),
O. G. Skipenko (Moscow),
E. D. Fedorov (Moscow),
L. D. Firsova (Moscow),
A. V. Tkachev (Rostov-on-Don),
V. V. Tsukanov (Krasnoyarsk),
V. V. Chernin (Tver),

Главный редактор

Лазебник Л. Б. — д-р мед. наук, проф.

Научные редакторы:

Ардатская М. Д. — д-р мед. наук, проф., Ситкин С. И. — д-р мед. наук
Заведующий редакционно-издательским отделом
Мажуга П. А.

Члены редколлегии:

Белова Г. В. д-р мед. наук, проф. (Москва), Барановский А. Ю. д-р мед. наук, проф. (Санкт-Петербург), Белоусова Е. А. д-р мед. наук, проф. (Москва), Голованова Е. В. д-р мед. наук, проф. (Москва), Гриневич В. Б. д-р мед. наук, проф. (Санкт-Петербург), Голофеевский В. Ю. д-р мед. наук, проф. (Санкт-Петербург), Деровс А., д-р мед. наук (Рига, Латвия), Думитраску Д., проф. (Клуж, Румыния), Жуховицкий В. Г. д-р мед. наук, проф. (Москва), Казюлин А. Н., д-р мед. наук, проф. (Москва), Козлова И. В. д-р мед. наук, проф. (Саратов), Комиссаренко И. А., д-р мед. наук, проф. (Москва), Костюченко Л. Н., д-р мед. наук, проф. (Москва), Лычкова А. Э., д-р мед. наук (Москва), Лунделл Л., проф. (Стокгольм, Швеция), Маев И. В., д-р мед. наук, проф., Член-корр. РАН (Москва), Максимов В. А., д-р мед. наук, проф. (Москва), Мальфертайнер П., проф. (Магдебург, Германия), Мартынов А. И., д-р мед. наук, профессор, академик РАН (Москва), Минушкин О. Н., д-р мед. наук, проф. (Москва), Крстич М., проф. (Белград, Сербия), Осипенко М. Ф., д-р мед. наук, проф. (Новосибирск), Пасечников В. Д., д-р мед. наук, проф. (Ставрополь), Пейра Д., проф. (Вирджиния, США), Подымова С. Д., д-р мед. наук, проф. (Москва), Радченко В. Г., д-р мед. наук, проф. (Санкт-Петербург), Рустамов М. Н., д-р мед. наук, проф. (Минск), Сагынбаева В. Э., канд. мед. наук, доцент (Москва), Самсонов А. А., д-р мед. наук, проф. (Москва), Титгат Г., проф. (Амстердам, Нидерланды), Трубицина И. Е., д-р мед. наук (Москва), Тарасова Л. В., д-р мед. наук, проф. (Чебоксары), Успенский Ю. П. д-р мед. наук, проф. (Санкт-Петербург), Хавкин А. И., д-р мед. наук, проф. (Москва), Халиф И. Л., д-р мед. наук, проф. (Москва), Харитонов Л. А., д-р мед. наук, проф. (Москва), Хлынова О. В. д-р мед. наук, проф., Член-корр. РАН (Пермь), Хольт П., д-р мед. наук, проф. (Нью Йорк, США), Хомерики С. Г., д-р мед. наук, проф. (Москва), Чернышев А. Л. д-р мед. наук, проф. (Москва), Щеголев А. А. д.м.н., проф. (Москва), Щербakov П. Л. д-р мед. наук, проф. (Москва), Эрдес С. И., д-р мед. наук, проф. (Москва), Яковенко Э. П. д-р мед. наук, проф. (Москва)

Editor-in-Chief

Prof. L. B. Lazebnik, PhD. MD

Scientific Editors:

M. D. Ardatkaya, PhD. MD, S. I. Sitkin MD.

Head of the publishing department

P. A. Mazhuga

Members of Editorial Board:

G. V. Belova Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), A. Baranowski Dr. Med. Sciences, Prof. (St. Petersburg), E. A. Belousova, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), E. V. Golovanova, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), V. B. Hrynevych, Dr. Med. Sciences, Prof. (St. Petersburg), V. Y. Golofeevsky, Dr. Med. Sciences, Prof. (St. Petersburg), A. Derovs, Dr. Med. Sciences (Riga, Latvia), D. Dumitrascu PhD. MD, (Cluj, Romania), Zhukhovitskiy V.G. Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), A. N. Kazuyulin, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), I. V. Kozlova Dr. Med. Sciences, Prof. (Saratov), I. A. Komissarenko, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), L. N. Kostyuchenko, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), M. Krstic PhD. MD, (Belgrade, Serbia), L. Lundell PhD. MD, (Stockholm, Sweden), A. E. Lychkova, Dr. Med. Sciences (Moscow), I. V. Maev, Corresponding member of Russian Academy of Sciences, Professor, MD (Moscow), V. A. Maksimov, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), P. Malfertheiner PhD. MD, (Magdeburg, Germany), A. I. Martynov, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), O. N. Minushkin, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), M. F. Osipenko, Dr. Med. Sciences, Prof. (Novosibirsk), V. D. Pasechnikov, Dr. Med. Sciences, Prof. (Stavropol), D. Peura PhD. MD, (Virginia, USA), S. D. Podymova, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), V. G. Radchenko, Dr. Med. Sciences, Prof. (St. Petersburg), M. N. Rustamov, Dr. Med. Sciences, Prof. (Minsk, Belorussia), V. E. Sagynbaeva, Dr. Med. Sciences, Associate Prof. (Moscow), A. A. Samsonov, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), A. A. Schegolev (Moscow), G. Titgat PhD. MD, (Amsterdam, Netherlands), I. E. Trubitsina, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), L. V. Tarasova, Dr. Med. Sciences, Prof. (Cheboksary), Uspenskiy Yu. P. Dr. Med. Sciences, Prof. (St. Petersburg), A. I. Khavkin, Dr. Med. Sciences (Moscow), I. L. Khalif, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), L. A. Kharitonova, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), Khlynova O.V. Corresponding member of Russian Academy of Sciences, Professor, MD (Perm), P. L. Holt PhD. MD, (New York, USA), S. G. Khomeriki, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), A. L. Chernyshev, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), P. L. Shcherbakov Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), S. I. Erdes, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow), E. P. Yakovenko, Dr. Med. Sciences, Prof. (Moscow)

Журнал включен в перечень ведущих рецензируемых журналов и изданий ВАК.

Журнал включен в Реферативный журнал, Базы данных ВИНТИ

Входит в единую реферативную базу данных Scopus (www.scopus.com)

Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной

справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям

"Ulrich's Periodicals Directory"

Содержание всех номеров размещены на сайте журнала: www.nogr.org

Полный текст статей — на сайте Научной электронной библиотеки:

www.elibrary.ru

Адрес редакции: Москва, Китайгородский проезд, дом 7,

Консультативно-диагностический центр (КДЦ) ГНИИЦ

профилактической медицины Минздрава России.

2 этаж, 603 кабинет

E-mail: ECCGarticle@gmail.com, cholerez@mail.ru

Тел.: +7 (917) 561 9505

КАК ПОДПИСАТЬСЯ НА ЖУРНАЛ?

Уполномоченное агентство подписки —

АРПК ИД «Экономическая газета» —

«Пресса России» Тел.: +7 (495) 1527463, alt@ekonomika.ru

Индекс подписки 42372

Индекс Роспечати: 47230

По телефону: +7 (917) 561 9505

Бланк подписки вы можете найти на стр. 145

Анонс изданий и подписка:

www.nogr.org

Заместитель главного редактора:

Ткаченко Е. И. — д-р мед. наук, проф.

Выпускающий редактор:

Стефанюк О. В.

Ответственный секретарь:

Левченко С. В. — канд. мед. наук

Deputy Editor-in-Chief

E. I. Tkachenko, PhD. MD

Publishing Editor:

O. V. Stefanyuk

Executive secretary:

S. V. Levchenko, MD.

Оригинал-макет, дизайн, финобеспечение издания, печать,

распространение:

ООО «Глобал Медиа технологии»

Тел: +7 (917) 561 9505

Верстальщик Д. Жаровский

Корректор Л. Зелексон

Формат 60×90/8 Format 60×90/8

Печать офсетная. Бумага офсетная. Тираж 2500 экз. Издается:

12 выпусков в год.

Publisher: Global Media Technologies GmbH.

"Experimental and Clinical Gastroenterology" Journal

"Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologia"

12 issues per year

(ISSN 1682-8658)

Design Dmitry Zharovskiy

Proofreader L. Zelekson

Customer service e-mail: journal@cniig.ru,

Tel.: +7 (917) 561 9505

С требованиями к подаваемым для публикации материалам

можно ознакомиться на стр. 144

Требования для авторов статей:

<http://www.nogr.org/zhurnal-eikg/dlya-avtorov/123-pravilo-podachi-stati.html>

Для удобства статью можно подать on-line:

<http://www.nogr.org/podat-statyu.html>

НОВАЯ МОДЕЛЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕПАТОПРОТЕКТИВНОЙ И АНТИФИБРОТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ*

Голофеевский В. Ю., Антушевич А. Е., Антонов В. Г., Гребенюк А. А.
Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова

NEW MODEL OF THE EXPERIMENTAL CIRRHOSIS FOR ESTIMATION HEPATOPROTECTIVE AND ANTIFIBROTIC EFFICIENCY OF DRUGS

Golofeevskiy V. Yu., Antushevich A. E., Antonov V.G., Grebeniuk A. N.
The Chair of Military Therapy and the Chair of Military Toxicology and Medical Protection of Military Medical Academy of name S.M. Kirov

Резюме

* Иллюстрации к статье – на цветной вкладке в журнал

Голофеевский Вячеслав Юрьевич
Golofeevskiy Vyacheslav Yu.
vgolf@yandex.ru

Цель исследования: разработка модели цирроза печени у животных, оценка его клинико-морфологических особенностей и изучение терапевтической эффективности инозина глицил-цистеинил-глутамата динатрия в сравнении с S-адеметионином.

Материал и методы: Серии опытов (200 белых крыс), хроническая интоксикация диметилнитрозамином (ДМНА) в разных режимах и алкоголем в течение 3–4 недель. На фоне продолжающейся интоксикации введение инозина глицил-цистеинил-глутамата динатрия (10 или 30 мг/кг) или S-адеметионина (70 мг/кг) до 9 недель. Через каждую неделю серию из 7–8 животных взвешивали, оценивали состояние органов брюшной полости, видимых сосудов, наличие асцита. Брали образцы крови для биохимического анализа и печени для гистологического исследования.

Результаты: Установлено, что при введении ДМНА внутрибрюшинно в дозе 10 мг/кг 3 раза в неделю + этанола в дозе 3 г/кг (перорально через день) в течение 4 недель закономерно развиваются макроскопические (гепатомегалия, асцит, коллатерали), биохимические и гистологические признаки цирроза печени (дистрофия гепатоцитов, внутриклеточный холестаз, макрофагальная реакция, выраженный фиброз, узелковая перестройка, нарушения кровообращения). Применение с лечебной целью S-адеметионина способствовало регрессии признаков цирроза, но наиболее полный клинико-морфологический ответ обеспечил инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия в дозе 30 мг/кг.

Заключение: В данном исследовании разработана адекватная модель экспериментального цирроза печени с обоснованием соответствия большинства критериев циррозу печени у человека. **Сделан вывод о высокой поливалентной терапевтической эффективности препарата инозина глицил-цистеинил-глутамат динатрия и перспективности его применения в клинической гепатологии и токсикологии.**

Ключевые слова: экспериментальный цирроз печени, диметилнитрозамин, алкоголь, лечение.

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2017; 146 (10): 88–93

Summary

Research objective: working out of model of a cirrhosis at animals, an estimation of its clinical-morphological features, studying of therapeutic efficiency of inosin glitsil-tsisteinil-glutamata dinatrium in comparison with ademetionin.

Material and methods: Series of experiences (200 white rats), a chronic dimethylnitrosamine's intoxication (DMNA) in different modes and alcohol within 3–4 weeks. Against a proceeding intoxication introduction of inosin glitsil-tsisteinil-glutamata dinatrium (10 or 30 mg/kg) or ademetionin (70 mg/kg) till 9 weeks. Through every week series from 7–8 animals weighed, estimated a condition of bodies of a belly cavity, visible vessels, presence of ascites. Samples of blood for the biochemical analysis and a liver for histological research took.

Results: It is established that at introduction DMNA intraperitoneally in a dose of 10 mg/kg 3 times a week + ethanol in a dose of 3 g/kg (oral every other day) within 4 weeks naturally develop macroscopic (hepatomegaly, ascites, collaterals), biochemical and histological signs of a cirrhosis (a dystrophy of hepatocytes, endocellular cholestasis, the reaction of macrophages, expressed fibrosis, nodular reorganization, blood circulation infringements). Application with the medical purpose of ademetionin promoted regress of signs of a cirrhosis, but the fullest clinical-morphological answer has provided inosin glitsil-tsisteinil-glutamata dinatrium in a dose of 30 mg/kg.

Conclusion: In the given research the adequate model of an experimental cirrhosis with a substantiation of conformity of the majority of criteria to a cirrhosis at the person is developed. The conclusion is drawn on high polyvalent therapeutic efficiency of inosin glitsil-tsisteinil-glutamata dinatrium and perspectivity of its application in clinical hepatology and toxicology.

Keywords: an experimental cirrhosis, dimethylnitrosamine, alcohol, treatment.

Ekspierimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2017; 146 (10): 88–93

Введение

На протяжении десятилетий многие исследователи стремились разработать адекватную экспериментальную модель острой и хронической патологии печени, включая цирроз, для объективной оценки терапевтической и превентивной эффективности т.н. гепатопротекторных лекарственных средств, перспективных для клинической практики. К настоящему времени известны модели, основанные на хронической интоксикации формальдегидом, тетрахлорметаном (CCl_4), совтолом-1, этанолом и другими токсикантами, на хроническом дефиците незаменимых нутриентов, которые, по сути, обеспечивают в большей степени развитие токсического повреждения печени – острого токсического гепатита или острой дистрофии, и в меньшей степени – хронического гепатита и цирроза печени [1–8]. Анализ литературы свидетельствует, что клинико-морфологические проявления поражения печени при моделировании в эксперименте у животных по многим критериям не соответствуют таковым при циррозе печени у человека.

В процессе экспериментального анализа нами была разработана оригинальная модель цирроза печени у крыс, индуцированного N-диметилнитрозамином (ДМНА) в комбинации с этанолом (заявка на изобретение, регистрационный номер 2016145857

от 22 ноября 2016 г.), которому были присущи основные клинико-лабораторные и морфологические признаки цирроза печени у человека. Новая модель отличается от ранее предложенных способов комбинацией ДМНА с этанолом, режимами и дозами введения токсикантов. При этом следует напомнить, что ДМНА является наиболее «распространенным» токсикантом, попадающим в организм человека с продуктами питания, водой, при курении, образующийся в процессе переработки продуктов питания (особенно при жарении, копчении) и приготовлении ряда напитков. Таким образом, негативному постепенному воздействию ДМНА подвергается практически каждый человек. Токсическое воздействие этанола хорошо известно, при этом при хронической интоксикации алкоголем у человека закономерно развивается хронический алкогольный стеатогепатит и, нередко, цирроз печени.

Цель настоящего исследования заключалась в разработке нового способа моделирования цирроза печени в эксперименте на животных, оценке лабораторных и морфологических особенностей его развития и изучении на данной модели антитоксической, гепатопротективной и антифибротической эффективности инозина глицил-цистеинил-глутамата динатрия в сравнении с адеметионином.

Материал и методы исследования

Эксперименты выполнены на белых крысах-самцах массой 180–250 г, выращенных в питомнике РАН г. Санкт-Петербург. Животных наблюдали в стандартных условиях содержания и питания и руководствовались положениями Федерального закона № 86-ФЗ «О лекарственных средствах» от 22.06.1998 г., Приказа МЗ РФ № 267 «Правила лабораторной практики в РФ» от 19.06.2003 г.) и «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств» [9].

Был использован стандартный 99,9% раствор ДМНА (Sigma), из которого готовили 1% водный раствор. Животных подвергали комбинированному воздействию этанола в дозе 3 г/кг (через день в течение 6 недель) и ДМНА в субтоксической дозе 5–10 мг/кг. Схемы интоксикации: 1) внутрибрюшинное введение ДМНА через день в течение пяти недель с увеличением дозы (две недели по 5 мг/кг, третья неделя по 7,5 мг/кг и четвертая-пятая недели по 10 мг/кг); 2) ДМНА вводили перорально в дозах и режиме, аналогичных 1-й схеме; 3) внутрибрюшинное введение ДМНА в дозе 10 мг/кг 3 раза в неделю в течение четырех недель с перерывами между неделями по 4 дня.

Инозина глицил-цистеинил-глутамата динатрия (Na_2GCGI) и для сравнения – адеметионин, начинали вводить крысам через три недели от начала интоксикации (установленный срок формирования экспериментального цирроза печени). Na_2GCGI вводили подкожно через день в дозах 10 мг/кг и 30 мг/кг, а адеметионин ежедневно подкожно в дозе 70 мг/кг на протяжении последующих за формированием цирроза шести недель. *Расчет доз адеметионина был сопоставим с рекомендованными дозами для клинической практики.*

Общая продолжительность эксперимента составила 9 недель. Перед введением ДМНА и через 3 недели (формирование цирроза), а затем через 6 и 9 недель общей продолжительности опыта (группы лечения) у животных оценивали общий статус и массу тела, брали материал для лабораторных тестов. Биохимический анализ крови включал оценку общего белка, креатинина, мочевины, глюкозы, билирубина, калия, натрия, хлора, кальция, АЛТ, АСТ, ГГТП, ЩФ при помощи анализатора «Roche Omni C».

Фрагменты печени для гистологического исследования фиксировали в смеси 10% формалина, этилового спирта и уксусной кислоты, заливали в парафин. Срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином (оценка общей структуры) и пикрофуксин по Ван Гизону (оценка соединительной ткани). Препараты изучали при помощи исследовательских микроскопов Polyvar и Leica DMRE, цифрового комплекса видеонаблюдения и программы анализа изображений «Видеотест-4». Препараты подвергали стереоморфометрии с компьютерной обработкой изображений для более отчетливого выделения окрашенных в красный цвет коллагеновых волокон.

Достоверность различий средних выборок оценивали при помощи t-критерия Стьюдента, эффективность лечения – с помощью пробит-анализа по Финни (программа Statistica+2005 для Windows). Среднюю ошибку альтернативных показателей определяли по таблице Генеса, расчет доверительного интервала – с использованием поправки Йетса для малых выборок и вспомогательной переменной Фишера, для оценки значимости межгрупповых различий применяли критерии χ^2 Пирсона и Фишера.

Результаты исследования

В опытах *по 1-й схеме* через 2–3 недели интоксикации отмечали появление признаков портальной гипертензии: выраженное венозное полнокровие органов желудочно-кишечного тракта, раскрытие анастомозов и формирование путей окольного кровотока по задней брюшной стенке, между органами малого таза, в околопочечной клетчатке. Размеры селезенки увеличивались, ткань была дряблой и полнокровной. В карманах брюшины отмечали скопление небольшого количества жидкости, т.е. появление асцита. Печень увеличена, темно-красная, дряблая, полнокровная.

Через 4–5 недель после начала введения ДМНА признаки портальной гипертензии нарастали. Животные заметно прибавили в массе за счет асцита (естественная прибавка массы у интактных животных 7–10 г за 1 неделю), при этом в брюшной полости животных накапливалось до 10 мл трансудата. Визуально отмечали централизацию коллатерального кровообращения с выделением крупных путей окольного кровотока по поверхности диафрагмы, в околопочечной клетчатке, между петлями кишки и в малом тазу. Размеры селезенки и печени резко увеличены, поверхность неровная, с зернистой структурой. Отмечено накопление жидкости в грудной полости, отек головного мозга и его оболочек.

При введении ДМНА *по 2-й схеме* отмечали изменения, сходные с таковыми в серии опытов по 1-й схеме. Однако различия стали более отчетливыми к окончанию 4–5-й недели эксперимента. Печень зернистой структуры, красно-коричневого цвета, полнокровная. Выраженность асцита при *пероральном введении* увеличилась, брюшная полость содержала до 20 мл прозрачного трансудата светло-желтого цвета, развивалась анасарка, увеличились признаки портальной гипертензии и коллатерального кровообращения, селезенка еще более увеличилась в размерах. Имели место дистрофические изменения почек, надпочечников, легких, головного мозга.

Наблюдение за животными в опытах *по 3-й схеме* позволило констатировать аналогичные, но устойчивые и воспроизводимые в 100% случаев результаты с формированием через 3–4 недели интоксикации картины цирроза печени, соответствующей по макроскопическим, лабораторным и морфологическим критериям циррозу печени у человека.

При гистологическом анализе уже через *одну неделю* после начала интоксикации (рис. 1 – интактная печень; рис. 2 – интоксикация) в междольковой соединительной ткани наблюдали активацию коллагеногенеза с появлением большого количества фуксифильных коллагеновых волокон в виде радиальных септ в зоне центральных вен и расширенных синусоидов. Появлялись признаки баллонной и гидропической дистрофии гепатоцитов. Ядра эндотелиоцитов увеличивались в размерах, а повреждение эндотелия и активация гемолиза проявлялись микротромбированием центральных вен с явлениями васкулита, Наблюдали

лимфоцитарный и макрофагальный инфильтраты по ходу синусоидов, формирование путей окольного кровотока в печеночных дольках. Очевидные явления васкулита, реакция макрофагов и лимфоцитов, вероятно, способствуют повышению продукции цитокинов и активации фиброгенеза с образованием центрально-центральных септ, наблюдаемых и в дальнейшие сроки хронической интоксикации животных. В структуру септ также входили венозные капилляры, выполняющие роль центрально-центральных анастомозов.

Гистологический анализ через *2 недели* интоксикации свидетельствовал об усилении фиброгенеза печени, формировании центрально-центральных септ, расширении синусоидов, «слабже» в крупных сосудах (рис. 3). Возникали центрально-портальные септы, «масса» коллагеновых волокон в портальных трактах увеличилась. Септы часто были направлены к капсуле печени, которая утолщалась, формировались псевдодольки. Степень белково-гидропической дистрофии гепатоцитов нарастала, ядра гепатоцитов были пикнотичны с нарушением ядерно-цитоплазматических отношений. В соединительно-тканых септах замечено присутствие сидерофагов с продуктами фагоцитоза эритроцитов.

Через *3 недели* интоксикации степень повреждения структуры печени еще более возросла, что совпало с развитием стойкого асцита и портальной гипертензии. При гистологическом анализе (рис. 4) отмечали более развитую соединительную ткань в септах, вследствие чего они приобретали более регулярное строение, прослеживался процесс формирования псевдодоек. Так, наблюдали очевидный эффект «коллагенизации» центральных вен, формирование коллатерального кровообращения по расширенным синусоидам, заключенным в волоконный состав септ. Гепатоциты в участках узелковой трансформации подвергались еще более выраженной дистрофии с появлением признаков внутриклеточного и внутридолькового холестаза.

Через *4 недели* интоксикации и далее у животных констатированы достоверные морфологические признаки цирроза печени – узелковых псевдодоек и фиброза портальных трактов (рис. 5). Соединительнотканые септы утолщались, имелись выраженная дистрофия гепатоцитов и скопление макрофагов, нарастала портальная гипертензия. Таким образом, полученные именно в такие сроки опыта результаты позволили рассматривать данную экспериментальную модель цирроза печени в качестве базовой для дальнейшей оценки эффективности испытываемых лекарственных средств.

Серия животных со сформированным циррозом печени была разделена на 2 группы, которым начинали введение Na₂GCGI или адеметионина. Через 3 (1-я подгруппа) и 6 (2-я подгруппа) недель экспериментальной терапии у животных оценивали морфологические и биохимические показатели. Кроме того, сформировано 2 группы контроля (без какого-либо лечения и крысы, которым вводили 0,9% раствор хлорида натрия в течение 3-х недель).

| Показатель | Группы животных | | | | |
|---------------------------|------------------|----------------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| | Интактные (n=10) | ДМНА (n=8) | Лечение Na2GCGI 10 мг/кг (n=10) | Лечение Na2GCGI 30 мг/кг (n=10) | Лечение адеметионин 70 мг/кг (n=8) |
| Общий белок, г/л | 62,0 ± 1,0 | 61,0 ± 1,3 | 60,0 ± 1,5 | 62,4 ± 1,4 | 61,3 ± 1,2 |
| Креатинин, мкмоль/л | 43,2 ± 0,6 | 52,1 ± 1,2** | 44,8 ± 0,5 [▲] | 46,2 ± 0,7 | 48,4 ± 1,0 |
| Щелочная фосфатаза, ед/л | 325,1 ± 15,5 | 541,0 ± 47,9** | 314,9 ± 36,7 [▲] | 300,7 ± 25,5 [▲] | 310,6 ± 36,2 [▲] |
| Глобулин, г/л | 29,1 ± 0,8 | 30,5 ± 0,6 | 30,2 ± 0,3 | 29,4 ± 1,8 | 30,7 ± 1,0 |
| Альбумин, г/л | 32,9 ± 0,9 | 30,5 ± 1,0 | 29,8 ± 1,2 | 33,0 ± 0,7 | 30,6 ± 0,8 |
| Мочевина, ммоль/л | 4,8 ± 0,3 | 13,2 ± 0,3* | 8,5 ± 0,8 [▲] | 8,8 ± 0,9 [▲] | 10,2 ± 0,1 [▲] |
| АСТ, ед/л | 220,8 ± 4,7 | 260,0 ± 15,7** | 239,0 ± 19,4 | 219,0 ± 8,6 [▲] | 238,0 ± 19,5 |
| АЛТ, ед/л | 143,0 ± 5,0 | 151,4 ± 10,5 | 150,2 ± 9,3 | 145,2 ± 10,9 | 146,2 ± 11,2 |
| ГГТП, ед/л | 4,6 ± 0,3 | 5,5 ± 0,2 | 4,7 ± 0,2 | 4,9 ± 0,2 | 5,3 ± 0,3 |
| Общий билирубин, мкмоль/л | 1,9 ± 0,1 | 4,7 ± 0,9** | 3,0 ± 0,9** | 2,5 ± 0,4 [▲] | 2,8 ± 0,3 [▲] |
| Са, ммоль/л | 2,4 ± 0,02 | 2,35 ± 0,03 | 2,39 ± 0,06 | 2,3 ± 0,04 | 2,4 ± 0,03 |
| Сl, ммоль/л | 105,2 ± 0,7 | 102,3 ± 0,7 | 102,0 ± 0,7 | 102,6 ± 0,4 | 102,1 ± 0,3 |
| К, ммоль/л | 6,4 ± 0,1 | 5,8 ± 0,2 | 6,4 ± 0,5 | 6,0 ± 0,4 | 6,5 ± 0,3 |
| Na, ммоль/л | 138,3 ± 0,8 | 137,7 ± 0,5 | 137,9 ± 0,3 | 138,0 ± 0,8 | 139,7 ± 0,5 |

Таблица.
Биохимические показатели крови (M±m)

Примечания
1 * – различия с группой интактных животных достоверны при p<0,05;
2 ** – различия с группой интактных животных достоверны при p< 0,01
▲ – различия с показателем в контрольной группе достоверны при p<0,05

Введение адеметионина в течение 6 недель приводило к некоторому снижению объемного содержания соединительной ткани в паренхиме печени, что подтверждает его антифибротическое действие. Однако сохранялись морфологические проявления нарушений кровообращения в паренхиме печени. Сравнительно большое количество волокон соединительной ткани сохранялось перипортально, а также в составе крупных септ, наблюдались также мелкие соединительнотканые септы. Гепатоциты имели признаки умеренной дистрофии, сохранялась умеренная лимфоцитарная инфильтрация (рис. 6).

Na2GCGI в дозе 10 мг/кг в течение 3 недель (на фоне предшествующей хронической интоксикации) оказывал более значимый гепатопротективный (терапевтический) эффект по сравнению с адеметионином. В гистологических препаратах печени отмечено снижение новообразования соединительнотканых септ, коллагеновые волокна распределялись преимущественно перисинусоидально в виде тонких нитей и в перипортальной зоне долек (рис. 7). Отмечено значимое снижение количества гепатоцитов с белково-гидропической дистрофией. Введение Na2GCGI в течение 6 недель сопровождалось дальнейшим существенным снижением новообразования соединительной ткани и отсутствием признаков нарушений внутриорганной гемодинамики. Также отмечено существенное снижение числа дистрофически измененных гепатоцитов. Таким образом, Na2GCGI в дозе 10 мг/кг показал *значимое гепатопротективное и антифибротическое воздействие с регрессией патоморфологических признаков токсически индуцированного цирроза печени.*

Применение Na2GCGI в дозе 30 мг/кг оказалось еще более эффективным (рис. 8). Уже в процессе

3-недельного введения еще более наглядно снижалась выраженность фиброза паренхимы печени и числа гепатоцитов с признаками дистрофии. Структура подавляющего большинства гепатоцитов была не изменена, при этом наблюдали признаки активации процессов регенерации с увеличением числа двухядерных клеток.

Таким образом, становится очевидным выраженный гепатопротективный и антифибротический эффект Na2GCGI, способствующий регрессу фиброза, дистрофии и воспаления в паренхиме печени при экспериментальном циррозе печени. Морфометрия объемного содержания соединительной ткани в паренхиме печени у опытных и контрольных животных также подтвердила, что Na2GCGI в использованной дозе существенно превысил по антифибротическому действию адеметионин. Нельзя также обойти вниманием дозозависимый эффект Na2GCGI.

В таблице 1 представлены основные биохимические показатели животных через 6 недель лечения экспериментального цирроза печени (хотя предварительные оценки были сделаны также на этапе 3-недельного введения препаратов). Очевидно то, что в процессе хронической интоксикации у животных (без лечения) появляются биохимические признаки холестатического и цитолитического синдромов и начальные признаки почечной недостаточности.

На фоне введения Na2GCGI и адеметионина уровни билирубина, ЩФ, АсТ имели тенденцию к нормализации, причем наиболее выраженную при использовании Na2GCGI в дозе 30 мг/кг. Таким образом, динамика биохимических показателей крови совпадает с данными морфометрии объемного содержания соединительной ткани в печени животных и свидетельствует также о гепатопротективном эффекте Na2GCGI.

Обсуждение полученных результатов

Таким образом, можно констатировать, что, *во-первых*, продолжительное введение животным ДМНА неизменно приводит к формированию токсического гепатита с исходом в цирроз печени. Характерно то, что развиваются типичные для цирроза синдромы (портальная гипертензия, асцит, ренальный синдром, трофологические и поведенческие нарушения), гистологические изменения (дистрофия гепатоцитов, макрофагальная и мононуклеарная реакция, фиброз портальных трактов, микронодулярная перестройка структуры печени) и биохимические проявления (нарушение обмена билирубина, цитолиз, холестаза, гепатоцеллюлярная недостаточность). При этом важным звеном инициации фиброгенеза и дисрегенераторного процесса можно считать нарушение целостности сосудистого русла, прежде всего, центральных вен, с последующей патологической реорганизацией сосудов портальных трактов. В таких условиях, несомненно, развивается ишемия печени с диффузными патологическими изменениями ее паренхимы и стромы.

Во-вторых, примерно одна треть животных на фоне хронической интоксикации ДМНА, несмотря на последнее введение адеметионина, погибла. В то же время наиболее высокий терапевтический эффект обеспечил Na₂GCGI, введение которого уже в течение первых 3 недель и последующих 6 недель хронической интоксикации ДМНА способствовало снижению признаков активации коллагеногенеза по сравнению с группами контроля. Следовательно, становится очевидной и возможной регрессия фибротического процесса, восстановление нарушенных функций гепатоцитов, хотя некоторые гистологические признаки дистрофии гепатоцитов в течение этих сроков терапии еще могли сохраняться, однако выживаемость животных составила 100%.

Известно, что с МНН Инозина глицил-цистеинил-глутамата динатрия (Na₂GCGI) в РФ зарегистрированы препараты как лекарственное средство, разрешенное к применению в качестве иммуномодулирующего, противовирусного и гепатопротекторного средства. Основными показаниями к применению Na₂GCGI являются хронические вирусные гепатиты в составе комплексной терапии, однако клинико-фармакологические эффекты и режимы дозирования до конца не установлены. Результаты ранее проводимых исследований показали, что Na₂GCGI обладает отчетливой противовирусной активностью против РНК-содержащих вирусов простого герпеса со 100%-й выживаемостью экспериментальных животных [10]. В клинических условиях глицил-цистеинил-глутамата динатрия продемонстрировал выраженную гепатопротективную эффективность при лечении тяжелых отравлений этанолом [11, 12]. Поэтому для понимания возможных молекулярных процессов, обеспечивающих лечебные эффекты Na₂GCGI, представляется необходимой его краткая фармакологическая и фармакокинетическая характеристика.

Можно полагать, что гепатопротективная (фармакологическая) активность препарата глицил-цистеинил-глутамата динатрия обусловлена, прежде всего, антиоксидантной функцией метаболитов окисленного глутатиона (GSSG) и инозина. Окисленный глутатион является одним из ключевых эффекторов в системе редокс-регуляции клеточных функций, функционируя в сочетании с молекулой восстановленного глутатиона (GSH), образуя редокс-пару GSH/GSSG, присутствующую во всех клеточных популяциях и микроорганизмах [13, 14].

Глутатионовый цикл регулирует активность рецепторов, ферментов, ионных каналов, обмен белков внутриклеточных мембран и транспортных молекул, белков внеклеточного матрикса и цитоскелета [15]. Транспорт GSH и GSSG и их внеклеточные и внутриклеточные концентрации являются АТФ-зависимым процессом, но обратно в клетку может поступать только восстановленный глутатион и/или его аминокислоты. Внеклеточный распад GSH осуществляется мембраносвязанной γ -глутамилтрансферазой (GGT – КФ 2.3.2.2).

GSSG, как комплементарный компонент глицил-цистеинил-глутамата динатрия, реализует биологическую активность инозина (пуринового компонента), который является, в свою очередь, основным метаболитом при распаде аденозина. Подобно аденозину, инозин через пуриновые рецепторы воздействует на клеточные функции и АТФ. Помимо пуриновых рецепторов, инозин является парциальным агонистом бензодиазепиновых рецепторов, способен изменять чувствительность адренорецепторов, восстанавливая их аффинность к действию катехоламинов [16].

Инозин влияет на пластичность мембран эритроцитов и их способность к агрегации, снижает тонус резистивных сосудов, улучшает реологические свойства крови, удаляет из зон повреждения и ишемии недоокисленные продукты – лактат и пируват, улучшает оксигенацию и энергообеспечение, стимулирует продукцию противовоспалительных цитокинов макрофагами [17, 18]. Вероятно поэтому инозин обладает нейро-, кардио- и гепатопротекторными свойствами, противовоспалительной и противосудорожной активностью [18–21].

В конечном итоге, в фармакологической формуле Na₂GCGI, инозин и глицил-цистеинил-глутамат динатрия являются комплементарными в фармакодинамическом и фармакокинетическом отношении, а на уровне клетки комплементарность GSSG и инозина выражается в том, что GSSG увеличивает аффинность рецепторов A1, A2A и A3 к действию инозина [22].

Гепатопротективные, антифибротические и антиоксидантные свойства Na₂GCGI логично могут быть объяснены стимуляцией фагоцитарной и детоксицирующей функций макрофагов, влиянием на рецепторные тирозинкиназы и тирозинфосфатазы, кальциевые каналы и уровни внутриклеточного кальция [23, 24].

Заключение

Разработанная модель экспериментального цирроза печени может быть рекомендована в качестве стандартной для дальнейшего и более глубокого понимания общеклинических, функциональных, метаболических и морфологических закономерностей развития этой патологии. Предлагаемая модель наиболее полно соответствует клинико-морфологическим признакам и критериям цирроза печени у человека, что позволяет использовать её для объективной сравнительной

оценки антифибротической эффективности известных и перспективных лекарственных средств. В качестве перспективного препарата для предупреждения и регрессии цирротического процесса может быть использован препарат глицил-цистеинил-глутамата динатрия, который, с учетом ранее проводимых исследований, продемонстрировал поливалентную фармакологическую активность и превзошел эффективность адемeтионина.

Литература

1. Гальперин Э. И. Получение цирроза печени и асцита в эксперименте. Экспериментальная хирургия, 1960, № 1, сс. 46–49.
2. Костырев О. А. Роль регенераторных процессов в формировании экспериментального цирроза печени. Архив патологии, 1972, том 34, № 10, сс. 59–64.
3. Венгерковский А. И. Фармакологические подходы к регуляции функций печени. Бюллетень сибирской медицины. 2002, № 1, сс. 25–28.
4. Шалимов С. А., Радзиховский А. П., Кейсевич Л. В. Руководство по экспериментальной хирургии. – М.: Медицина, 1989, 272 с.
5. Popper H. Histogenesis of alcoholic fibrosis and cirrhosis in the baboon. Am J Pathol., 1980, vol. 98, no. 3, pp. 695–716.
6. Tsukamoto H., Matsuoka M., French S. Experimental models of hepatic fibrosis: a review. Semin. Liver Dis., 1990, vol. 10, no. 1, pp. 56–65.
7. Lieber C. S. Interaction of ethanol with drugs, hepatotoxic agents, carcinogens and vitamins. Alcohol Alcohol., 1990, vol. 25, no. 2/3, pp. 157–176.
8. Алперович Б. И., Орлов А. В., Киселева Ю. В. Возможности криодеструкции в лечении цирроза печени. Бюллетень сибирской медицины, 2004, № 2, сс. 79–85.
9. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Медицина, 2005, 832 с.
10. Степанов А. В., Ярцева А. А., Гребенюк А. Н., Антонов В. Г., Антушевич А. Е. Экспериментальное обоснование применения иммуномодулятора моликсан в качестве средства терапии герпесвирусной инфекции. Военно-медицинский журнал, 2014, № 2, сс. 64–65.
11. Гребенюк А. Н., Рейнюк В. Л., Антушевич А. Е., Халютин Д. А., Маркосян А. М. Эффективность гепатопротекторов пептидной и непептидной природы в терапии острых крайне тяжелых отравлений этиловым спиртом. Вестник Российской Военно-медицинской академии, 2014, № 1, сс. 136–141.
12. Гребенюк А. Н., Рейнюк В. Л., Антушевич А. Е., Халютин Д. А. Эффективность гепатопротектора с пептидным компонентом моликсана при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом. Токсикологический вестник, 2014, № 4, сс. 12–19.
13. Filomeni G., Rotilio G., Ciriolo M. R. Cell signalling and the glutathione redox system. Biochem. Pharmacol., 2002, 64: pp. 1057–1064.
14. Быстрова Ф. М., Буданова Е. Н. Перекись водорода и пероксиредоксины в редокс-регуляции внутриклеточной сигнализации. Биологические мембраны, 2007, том 24, № 2, сс. 115–125.
15. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках. – Минск: издательство «БГУ», 2008, 159 с.
16. Ganzella M. et al. Intracerebroventricular administration of inosine is anticonvulsant against quinolinic acid-induced seizures in mice: an effect independent of benzodiazepine and adenosine receptors. Pharmacol Biochem Behav., 2011, vol. 100, № 2, pp. 271–274.
17. Szabo G., Stumpf N., Radovits T. et al. Effects of inosine on reperfusion injury after heart transplantation. European Journal of Cardio-thoracic Surgery. 2006, vol. 30, no. 2, pp. 96–102.
18. da Rocha Lapa F, da Silva MD, de Almeida Cabrini D, Santos AR. Anti-inflammatory effects of purine nucleosides, adenosine and inosine, in a mouse model of pleurisy: evidence for the role of adenosine A₂ receptors. Purinergic Signal., 2012, Dec., vol. 8, no. 4, pp. 693–704.
19. Módos K., Gerő D., Stangl R. et al. Adenosine and inosine exert cytoprotective effects in an in vitro model of liver ischemia-reperfusion injury. Int J Mol Med., 2013, Feb., vol. 31, no. 2, pp. 437–446.
20. Nascimento F. P., Macedo-Júnior S. J., Pamplona F. A. Adenosine A₁ receptor-dependent antinociception induced by inosine in mice: pharmacological, genetic and biochemical aspects. Mol Neurobiol., 2015, Jun., vol. 51, no. 3, pp. 1368–1778.
21. Robin E., Saborium J., Maralac F., Raddatz E. Involvement of CD 73, equilibrative nucleoside transporters and inosine in rhythm and conduction disturbances mediated by adenosine A₁ and A_{2A} receptors in the developing heart. J Mol Cell Cardiol., 2013, Oct., vol. 63, no. 1, pp. 14–25.
22. Welihinda A. A., Kaur M., Greene K., Zhai Y., Amento E. P. The adenosine metabolite inosine is a functional agonist of the adenosine A_{2A} receptor with a unique signaling bias. Cell Signal., 2016, Feb., vol. 28, no. 6, pp. 552–560.
23. Крутецкая З. И. Участие комплекса ARP2/3 и белков WASP в действии глутоксима и моликсана на внутриклеточную концентрацию Ca²⁺ в макрофагах. Доклады Академии Наук, 2015, том 464, № 2, сс. 227–230.
24. Крутецкая З. И. Ингибиторы фосфолипазы A2 модулируют влияние глутоксима и моликсана на внутриклеточный уровень Ca²⁺ в макрофагах. Доклады Академии Наук, 2015, том 465, № 2, сс. 1–3.