

БИОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ КРЫС С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ И ЕГО КОРРЕКЦИЯ ПРЕПАРАТОМ РЕМАКСОЛ

© А.П. Трашков^{2,3}, Т.В. Брус¹, А.Г. Васильев¹, М.Р. Артеменко², В.А. Печатникова², М.А. Гуменная³

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России;

²ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург;

³ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова» РАН, Санкт-Петербург

Для цитирования: Трашков А.П., Брус Т.В., Васильев А.Г., и др. Биохимический профиль крыс с неалкогольной жировой болезнью печени различной степени тяжести и его коррекция препаратом Ремаксол // Педиатр. – 2017. – Т. 8. – № 4. – С. 78–85. doi: 10.17816/PED8478-85

Поступила в редакцию: 23.05.2017

Принята к печати: 24.07.2017

Несмотря на длительный период изучения особенностей патогенеза неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП), ее своевременная диагностика, профилактика и лечение остаются одними из наиболее актуальных проблем медицины. Одной из ключевых причин, вызывающих такую диспропорцию между затрачиваемыми усилиями и итоговым результатом, является отсутствие адекватных моделей этого заболевания. Цель исследования – анализ изменения биохимического профиля крови крыс на модели НАЖБП, наиболее часто встречающейся в научных и доклинических исследованиях, – фруктозоиндуцированной жировой дистрофии печени и изучение возможностей коррекции патологического процесса. Воспроизведены модели НАЖБП различной степени тяжести у крыс: условно – легкая степень тяжести (неалкогольный стеатоз печени) и средняя степень (неалкогольный стеатогепатит). Используемые модели характеризовались развитием билирубинемии, холестеринемии (преимущественно за счет триацилглицеридов), активацией перекисного окисления, цитолитическим и холестатическим синдромами. Степень выраженности нарушений метаболизма крыс зависела от степени тяжести моделируемого заболевания. Был установлен выраженный терапевтический эффект инфузионного препарата Ремаксол на модели стеатоза печени (легкая степень жировой дистрофии печени) и на модели средней степени тяжести (стеатогепатит), направленный на коррекцию наблюдаемых нарушений.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени; стеатоз печени; гепатиты; метаболизм; гомоцистеин; крысы; Ремаксол.

BIOCHEMICAL PROFILE OF RATS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE OF VARIOUS GRAVITY AND ITS CORRECTION WITH REMAXOL

© A.P. Trashkov^{2,3}, T.V. Brus¹, A.G. Vasiliev¹, M.R. Artyomenko², V.A. Pechatnikova², M.A. Gumennaya³

¹St Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Russia;

²Petersburg Nuclear Physics Institute (PNPI) of the National Research Center “Kurchatov Institute”, Saint Petersburg, Russia;

³Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

For citation: Trashkov AP, Brus TV, Vasiliev AG, et al. Biochemical profile of rats with non-alcoholic fatty liver disease of various gravity and its correction with remaxol. *Pediatrician (St Petersburg)*. 2017;8(4):78-85. doi: 10.17816/PED8478-85

Received: 23.05.2017

Accepted: 24.07.2017

Despite the long period of studying non-alcoholic fatty liver disease, its timely diagnosis, prevention and treatment remains one of the most pressing problems of medicine. However, the arsenal of effective and safe medicines used for this task is limited. The goal of this study was to elaborate a model of non-alcoholic fatty liver disease of varying severity in laboratory rats, and to analyze the influence of hepatoprotector medicine Remaxol upon the dynamics of biochemical parameters in experimental groups. The model of non-alcoholic fatty liver disease in laboratory rats permits to reproduce disease of varying severity: semi-light severity of the disease (non-alcoholic hepatic steatosis) and average degree of severity (nonalcoholic steatohepatitis). The introduction of the test drug was carried out daily during 10 days of experiment starting from day 28th. Used model in experimental animals was characterized by the development of bilirubinemia, cholesterolemia (mainly due to

triacylglycerides), activation of peroxidation, cytolytic and cholestatic syndromes. The severity of metabolic disturbances in the rats depended on the severity of the simulated disease. The analysis of the functional activity of the liver changes on the background of the application of Remaxol was performed for 11 parameters, yielding a complete picture of their condition. Distinct therapeutic effect of infusion of Remaxol on the model of liver steatosis (mild fatty liver) and in models of moderate severity (steatohepatitis), aimed at correcting observed violations was demonstrated in the study.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease; steatosis of the liver; hepatitis; biomodeling; metabolism; homocysteine; rats; Remaxol.

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) — широко распространенный в современной популяции клиничко-лабораторный синдром, характеризующийся глубокими нарушениями метаболизма, и прежде всего липидного обмена, что морфологически проявляется накоплением липидов гепатоцитами (более 5 % от общего числа клеток печени), мезенхимально-воспалительным синдромом и циррозом [1].

В последние десятилетия наблюдается увеличение частоты регистрации НАЖБП при даже амбулаторном обследовании пациентов, что связано напрямую с ростом заболеваемости болезнями сердечно-сосудистой и эндокринной систем [2, 5]. Эпидемиологические данные указывают на то, что число случаев выявления НАЖБП при первичном обращении в мире составляет около 20–30 % в структуре взрослого населения, из них 1–2 % подвержены риску развития и прогрессирования цирроза [3, 4]. Патогенез НАЖБП, ее роль в общей структуре гепатозов и вовлеченность в различные патологические процессы в печени, индуцированные различными факторами, позволяет предположить, что тяжелые и запущенные стадии заболевания уже в ближайшее время будут наиболее частым показанием для трансплантации печени [6, 7].

В настоящее время не существует общепринятой теории патогенеза НАЖБП, что существенно затрудняет разработку эффективных мер профилактики и лечения заболевания и алгоритмов его диагностики. Постановка диагноза НАЖБП базируется в основном на результатах анамнеза, клинического и биохимического анализов крови и их комплексной интерпретации и значительно реже на данных морфологических и молекулярно-генетических исследованиях. Это ставит задачу при разработке тест-систем для воспроизведения различных компонентов заболевания в модельных экспериментах *in vivo* обращать особое внимание на углубленное изучение особенностей динамики показателей системы крови.

Учитывая вышеизложенное, нам показалось интересным исследовать особенности биохимического профиля крови крыс на модели НАЖБП, наиболее часто встречающейся в научных и доклини-

ческих исследованиях, — фруктозоиндуцированной жировой дистрофии печени, и изучить возможности коррекции патологического процесса при применении инфузионного цитопротектора Ремаксол.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 228 самцах альбиносах серых крыс Wistar, массой тела на момент включения в исследование — 220–240 г. Животные получены из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская область). Перед началом исследования план испытаний и стандартные операционные процедуры прошли этическую экспертизу и получили одобрение.

Было сформировано 5 экспериментальных групп.

1. «Контроль» ($n = 12$) — интактные крысы, у которых производили исследование параметров системы крови для расчета референсных значений («нормальные показатели»).

2. «*Стеатогепатит*» ($n = 48$) — крысы, которые на протяжении всего эксперимента в качестве корма получали брикеты, содержащие пищевые компоненты в следующих соотношениях (по массе): 21 % белок, 5 % животный жир, 60 % фруктоза, 8 % целлюлоза, 5 % минеральные вещества, 1 % витамины.

3. «*Стеатогепатит + Ремаксол*» ($n = 60$) — крысы, у которых моделировали развитие стеатогепатита и с 28-х суток от начала эксперимента производили терапию препаратом Ремаксол.

4. «*Стеатоз печени*» ($n = 48$) — крысы, у которых в качестве питьевой воды на всем протяжении эксперимента использовали 10 % раствор фруктозы.

5. «*Стеатоз печени + Ремаксол*» ($n = 60$) — крысы, у которых моделировали развитие стеатоза печени и с 28-х суток от начала эксперимента производили терапию препаратом Ремаксол.

Введение Ремаксола производили внутривенно, в хвостовые вены крыс со скоростью 2 мл/мин, ежедневно, в течение 10 дней. Объем вводимого препарата составлял 14 мл/кг массы тела, что соответствует рекомендуемой терапевтической дозе с учетом экстраполяции на крыс.

Взятие крови для исследования системы крови производили в контрольных точках исследования путем транскутанной пункции сердца крысы в ваку-

умные пробирки в объеме 6 мл. Взятие крови в дни введения исследуемого препарата осуществлялась через 3–4 часа после процедуры введения. После взятия крови животные подвергались эвтаназии.

В группе «Контроль» взятие крови у всех животных производили в день начала эксперимента. В группах «Стеатогепатит» и «Стеатоз печени» взятие крови производили на 21-е, 28-е и 37-е сутки от начала эксперимента. В группах «Стеатогепатит + Ремаксол» и «Стеатоз печени + Ремаксол» взятие крови производили 1-е, 3-е, 5-е и 10-е сутки после начала введения препарата (начиная с 28-х суток эксперимента включительно).

Общепринятыми методами *in vitro* определяли: содержание глюкозы (Glu), общее содержание белков в плазме крови (ОБелок), концентрацию общего билирубина (ОБ) и его прямой фракции (ПБ), активность ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и щелочной фосфатазы (ЩФ), уровень гомоцистеина, содержание общего холестерина (ОХ), триацилглицеридов (ТАГ).

Статистическая обработка производилась при помощи пакета программ SPSS for Windows 13.0. Данные приведены в виде $M \pm SE$ (средняя арифметическая \pm ошибка средней арифметической). Проверка характера распределения данных выполнялась путем расчета критерия Колмогорова–Смирнова. Сравнение средних данных независимых выборок осуществляли при помощи *t*-критерия Стьюдента (при нормальном характере распределения вариант в выборочной совокупности) и *U*-критерия Манна–Уитни (при распределении вариант в выборочной совокупности, отличном от нормального). Сравнение средних данных зависимых выборок производили при помощи однофакторного дисперсионного анализа ANOVA (при нормальном характере распределения вариант в выборочной совокупности) и χ^2 -критерия Фридмана (при распределении вариант в выборочной совокупности, отличном от нормального). Достоверным уровнем отличий принимали вероятность не менее 95 % ($p < 0,05$), что является стандартом в медико-биологических исследованиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обоснованность выбора модели фруктозоиндуцированной неалкогольной жировой болезни печени для изучения особенностей патогенеза этого заболевания и возможностей его фармакологической коррекции наиболее ярко подтверждается при анализе основных биохимических параметров крови подопытных животных, прежде всего характеризующих структурно-функциональное состояние

печени крыс. При этом наблюдались значительные различия в динамике изучаемых параметров в группах животных с различной степенью тяжести заболевания. Из представленных в таблице 1 данных следует, что функции печени у животных со стеатогепатитом нарушены в значительно большей степени, чем у животных со стеатозом печени, что проявляется более тяжелыми нарушениями пигментного и липидного обменов, цитолитическим и холестатиическим синдромами и развитием гипергомоцистеинемии.

На всем протяжении эксперимента не наблюдали значительных колебаний общего содержания протеинов плазмы крови ни в группе «Стеатогепатит» ($\chi^2_{(3)} = 7,747, p = 0,052$), ни в группе «Стеатоз печени» ($\chi^2_{(3)} = 1,801, p = 0,744$). Это объясняется высокой пластичностью исследуемого показателя у лабораторных грызунов (Mark A., et al., 2006). Применение Ремаксолола не отразилось на уровне общего белка, содержание которого в крови крыс всех обследованных групп было сопоставимо с контрольными значениями (см. табл. 1).

Уже начиная с 21-х суток исследования у животных группы «Стеатогепатит» отмечалось увеличение концентрации общего билирубина в плазме крови, преимущественно за счет увеличения его непрямой фракции, которая продолжала нарастать в течение всего периода наблюдений ($\chi^2_{(3)} = 24,939, p < 0,001$; контрольная точка выявления статистически значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 21-е сутки: $z = -2,091, p = 0,037$). Такой рост, на наш взгляд, отражает прогрессирующую дисфункцию печени по мере развития стеатогепатита. Подтверждением этого тезиса является отсутствие параллельного увеличения концентрации прямого билирубина в крови подопытных крыс ($\chi^2_{(3)} = 3,194, p = 0,363$), что статистически значимо не отличается от показателей группы «Контроль» на всем протяжении эксперимента (см. табл. 1).

Введение подопытным животным со стеатогепатитом препарата Ремаксолол приводило к значительному уменьшению концентрации общего билирубина по сравнению с показателями группы «Стеатогепатит» (см. табл. 1). К 37-м суткам (т. е., к окончанию 10-дневного курса терапии Ремаксололом) средний уровень общего билирубина в крови крыс группы «Стеатогепатит + Ремаксолол» статистически значимо не отличался от показателя контрольной группы ($z = -0,591, p = 0,460$) и был достоверно в 2,5 раза ниже показателей группы «Стеатогепатит» ($p < 0,001$). Уменьшение концентрации билирубина у крыс со стеатогепатитом при применении Ремаксолола во многом достигалось за счет улучшения

Таблица 1

Влияние препарата Ремаксол на основные биохимические показатели печени различной степени тяжести (M ± SE) у крыс с фруктозоиндуцированной жировой дистрофией печени

Группы	Период наблюдений (сутки)	n	Исследуемые показатели											
			Обепок, г/л	Об, мкмоль/л	Пб, мкмоль/л	АЛТ, ЕД/л	АСТ, ЕД/л	ЛДГ, ЕД/л	ЩФ, ЕД/л	Глу, ммоль/л	Нсу, ммоль/мл	ОХ, ммоль/л	ТАГ, ммоль/л	
Контроль	0	12	66,7 ± 1,02	11,8 ± 0,57	1,4 ± 0,10	71,4 ± 0,93	69,2 ± 0,96	165,4 ± 3,03	324,1 ± 4,67	6,7 ± 0,30	3,4 ± 0,16	2,1 ± 0,14	1,1 ± 0,11	
	21	12	63,5 ± 0,81 ¹	15,8 ± 0,81 ¹	1,3 ± 0,13	78,7 ± 1,45 ¹	74,3 ± 1,33 ¹	166,9 ± 2,03	326,0 ± 9,03	6,6 ± 0,15	3,8 ± 0,16	3,4 ± 0,18 ¹	1,8 ± 0,19 ¹	
	28	10	65,0 ± 0,96	21,4 ± 1,93 ¹	1,6 ± 0,17	87,7 ± 3,14 ¹	79,2 ± 1,81 ¹	183,3 ± 2,52 ¹	371,6 ± 8,06 ¹	7,0 ± 0,30	4,9 ± 0,18 ¹	4,2 ± 0,28 ¹	2,9 ± 0,22 ¹	
	37	12	62,4 ± 1,21	31,1 ± 2,06 ¹	1,9 ± 0,36	95,9 ± 5,39 ¹	88,1 ± 2,05 ¹	188,7 ± 4,06 ¹	382,4 ± 9,79 ¹	8,3 ± 0,42 ¹	4,8 ± 0,27 ¹	5,6 ± 0,52 ¹	4,4 ± 0,16 ¹	
Стеатопатит + Ремаксол	1*	14	64,0 ± 0,92	22,4 ± 1,18 ¹	1,6 ± 0,19	85,2 ± 1,77 ¹	78,4 ± 0,85 ¹	180,3 ± 2,02 ¹	376,2 ± 4,42 ¹	6,9 ± 0,34	4,4 ± 0,25	4,0 ± 0,09 ¹	2,9 ± 0,15 ¹	
	3*	13	66,1 ± 1,20	18,2 ± 0,90 ^{1,3}	1,6 ± 0,21	84,4 ± 1,52 ¹	73,2 ± 1,71	173,5 ± 1,17	360,0 ± 5,02 ¹	6,6 ± 0,40	4,4 ± 0,25	4,1 ± 0,05 ¹	3,3 ± 0,17 ¹	
	5*	13	67,3 ± 0,75	18,0 ± 1,42 ¹	1,9 ± 0,15	80,6 ± 1,02 ¹	72,7 ± 0,93	172,4 ± 1,22	356,7 ± 3,36 ¹	7,2 ± 0,15	4,1 ± 0,07	4,0 ± 0,17 ¹	3,3 ± 0,18 ¹	
	10*	14	67,1 ± 1,18	13,7 ± 1,02 ²	2,1 ± 0,06 ¹	79,1 ± 1,25 ^{1,2}	72,0 ± 0,99 ²	171,1 ± 1,08	338,2 ± 3,03 ²	7,5 ± 0,22	4,0 ± 0,11	4,3 ± 0,11 ^{1,2}	3,3 ± 0,07 ^{1,2}	
Стеатоз печени	21	15	66,3 ± 0,70	14,2 ± 0,98	1,4 ± 0,21	74,9 ± 1,62	72,7 ± 1,08	168,2 ± 2,00	325,9 ± 5,61	6,5 ± 0,21	3,8 ± 0,03	2,8 ± 0,10	1,3 ± 0,07	
	28	15	65,6 ± 0,65	15,6 ± 1,43	1,6 ± 0,05	75,0 ± 0,83	73,0 ± 1,40	173,4 ± 1,35	338,9 ± 3,77	6,9 ± 0,40	3,9 ± 0,10	3,5 ± 0,15 ¹	2,3 ± 0,11 ¹	
	37	16	66,4 ± 1,41	18,1 ± 0,95 ¹	1,4 ± 0,14	82,5 ± 0,94 ^{1,2}	79,6 ± 0,82 ^{1,2}	174,8 ± 1,40 ²	366,6 ± 3,82 ¹	7,1 ± 0,26	4,1 ± 0,23	3,6 ± 0,08 ¹	2,4 ± 0,05 ¹	
	1*	15	64,8 ± 1,22	12,9 ± 1,33	1,5 ± 0,16	72,0 ± 0,73	71,8 ± 0,57	171,7 ± 1,26	333,4 ± 3,16	6,4 ± 0,34	3,8 ± 0,15	3,2 ± 0,20 ¹	2,2 ± 0,11 ¹	
Стеатоз печени + Ремаксол	3*	15	66,2 ± 0,64	11,7 ± 0,87	1,5 ± 0,04	70,5 ± 0,48	70,3 ± 0,62	166,5 ± 1,70	326,0 ± 4,22	6,6 ± 0,31	3,4 ± 0,12	3,3 ± 0,15 ¹	1,9 ± 0,15 ¹	
	5*	15	67,2 ± 1,10	11,6 ± 1,17	1,8 ± 0,10	71,0 ± 0,83	71,2 ± 1,12	166,0 ± 0,48	321,8 ± 4,65	6,4 ± 0,18	3,3 ± 0,07	3,3 ± 0,03 ¹	1,9 ± 0,06 ¹	
	10*	15	66,5 ± 1,07	11,8 ± 0,67 ³	1,8 ± 0,07	71,2 ± 1,03 ³	70,3 ± 0,96 ³	166,2 ± 1,03	326,9 ± 5,06 ³	6,5 ± 0,26	3,5 ± 0,03	3,0 ± 0,21	1,7 ± 0,12	

* сутки от начала терапии (начиная с 28-го дня эксперимента); ¹ отличия от группы «Контроль» достоверны на принятом уровне значимости ($p < 0,05$); ² отличия от группы «Стеатоз печени» достоверны на принятом уровне значимости ($p < 0,05$); ³ отличия от группы «Стеатоз печени» достоверны на принятом уровне значимости ($p < 0,05$)

процесса его утилизации гепатоцитами, что подтверждается нарастанием концентрации прямого билирубина в крови животных группы «Стеатогепатит + Ремаксол» при терапии исследуемым препаратом (см. табл. 1). На 37-е сутки уровень прямого билирубина в этой группе составил $2,1 \pm 0,06$ мкмоль/л, что в среднем на 0,7 мкмоль/л выше по сравнению с контрольными значениями ($p = 0,008$).

В противоположность модели жировой дистрофии печени средней степени тяжести («Стеатогепатит»), на модели стеатоза печени нарушения пигментного обмена были умеренными. Отмечалось медленное достоверное увеличение концентрации общего билирубина в крови животных группы «Стеатоз печени» ($\chi^2_{(3)} = 8,037$, $p = 0,045$; контрольная точка выявления статистически значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 37-е сутки: $z = -2,004$, $p = 0,040$). При этом значительных колебаний содержания прямого билирубина не отмечалось (см. табл. 1), что свидетельствует о развитии умеренной дисфункции гепатоцитов.

Применение у животных со стеатозом печени Ремаксолом полностью нивелировало указанные нарушения пигментного обмена. В группе «Стеатоз печени + Ремаксол» наблюдалось снижение уровня общего билирубина до контрольных значений (см. табл. 1), при этом на момент окончания наблюдений содержание общего билирубина в исследуемой группе было статистически значимо меньше, чем в группе «Стеатоз печени» (в среднем на 6,3 мкмоль/л, $p = 0,014$ (группа «Стеатоз печени + Ремаксол»)). Прослеживалась тенденция к увеличению продукции прямого билирубина на фоне терапии исследуемым препаратом, не достигающая, однако, статистически значимого уровня отличий как по сравнению с показателями группы «Стеатоз печени», так и с контрольными значениями (см. табл. 1).

Анализ активности в крови подопытных животных со стеатогепатитом внутриклеточных ферментов, характеризующих интенсивность цитолитического синдрома поражения печени (АЛТ и АСТ), выявил факт синхронного умеренного увеличения их активности (см. табл. 1), достигающей статистически значимого уровня отличий с контрольными показателями уже на начальных этапах эксперимента (АЛТ: $\chi^2_{(3)} = 24,031$, $p < 0,001$; контрольная точка выявления статистически значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 21-е сутки: $z = -2,805$, $p = 0,005$; АСТ: $\chi^2_{(3)} = 25,423$, $p < 0,001$; контрольная точка выявления статистически значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 21-е сутки: $z = -2,004$, $p = 0,005$) и медленно нарастающей в течение всего периода наблюдений.

В результате сравнительного анализа коррекции цитолитического синдрома в группе животных со стеатогепатитом, получавших Ремаксол, было установлено выраженное гепатопротективное действие Ремаксолом на исследуемой модели поражения печени. Это проявлялось прежде всего быстрым (уже на 3-и сутки с момента начала введения препарата, 30-е сутки эксперимента) уменьшением активности АСТ до уровня, сопоставимого с контрольными значениями ($p = 0,059$). На 37-е сутки уровень АСТ находился в пределах нормы и был статистически значимо ниже, чем в группе «Стеатогепатит» в среднем на 16,1 ЕД/л ($p < 0,001$). Уменьшение активности АЛТ на фоне применения Ремаксолом было менее выраженным. На протяжении исследования уровень АЛТ у животных группы «Стеатогепатит + Ремаксол» достоверно отличался от показателей группы «Контроль», при этом на момент окончания терапии (37-е сутки эксперимента) активность АЛТ в обследованной группе была достоверно в среднем на 16,8 ЕД/л меньше, чем у нелеченых животных со стеатогепатитом ($p = 0,001$) (см. табл. 1).

Показатели активности печеночных трансаминаз на модели жировой дистрофии печени легкой степени тяжести (группа «Стеатоз печени») увеличивались медленно, только на 37-е сутки эксперимента достигая статистически значимого уровня отличий с контрольными показателями (АЛТ: $z = -2,995$, $p = 0,001$; АСТ: $z = -2,203$, $p = 0,002$). При этом интенсивность цитолитического синдрома поражения печени у животных группы «Стеатоз печени» была в значительной степени меньшей, что подтверждается достоверным более низким уровнем активности АЛТ и АСТ в обследуемой группе по сравнению с показателями в группе «Стеатогепатит» (уровень АЛТ ниже в среднем на 13,4 ЕД/л ($p = 0,004$), уровень АСТ — на 8,5 ЕД/л ($p = 0,011$)) (см. табл. 1).

Коррекция цитолитического синдрома у животных со стеатозом печени препаратом Ремаксол приводила к полному разрешению этого состояния. На всем протяжении курса лечения исследуемым препаратом в группах подопытных крыс активность печеночных трансаминаз была сопоставимой с контрольными значениями у здоровых животных ($p > 0,05$). При этом к окончанию терапии (37-е сутки исследования) и в группе «Стеатоз печени + Ремаксол» показатели активности АЛТ и АСТ были статистически значимо ниже, чем у нелеченых крыс в группе «Стеатоз печени» (см. табл. 1).

Анализ содержания ЛДГ в крови животных со стеатогепатитом выявил достоверную умеренную тенденцию к увеличению ($\chi^2_{(3)} = 21,796$, $p < 0,001$; контрольная точка выявления статисти-

чески значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 28-е сутки: $z = -2,499$, $p = 0,012$). Применение Ремаксоло способствовало коррекции наблюдаемых нарушений: начиная с 3-х суток курса лечения в группе «Стеатогепатит + Ремаксол» содержание ЛДГ было сопоставимо с контрольными значениями ($p > 0,05$) и в дальнейшем не увеличивалось (см. табл. 1).

Уровень ЛДГ в группе «Стеатоз печени» на всем протяжении эксперимента статистически значимо не отличался от показателей здоровых животных ($\chi^2_{(3)} = 6,207$, $p = 0,110$). Сравнительный анализ содержания ЛДГ между группами «Стеатоз печени» и «Стеатогепатит» установил достоверно более низкое значение активности изучаемого фермента у животных с более легкой формой поражения печени (см. табл. 1): в среднем в группе «Стеатоз печени» уровень ЛДГ был ниже, чем в группе «Стеатогепатит» на 13,9 ЕД/л ($p = 0,026$), что является еще одним доказательством отличий между используемыми моделями по степени тяжести патологических изменений в печени.

Изучение содержания в крови больных животных ЩФ — основного биохимического маркера холестатического синдрома — выявило достоверное умеренное нарастание активности этого фермента в группе «Стеатогепатит» ($\chi^2_{(3)} = 20,939$, $p < 0,001$; контрольная точка выявления статистически значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 28-е сутки: $z = -2,805$, $p = 0,005$).

10-дневный курс Ремаксоло оказал более выраженный гепатопротективный эффект, и к моменту окончания лечения (37-е сутки эксперимента) наблюдалось разрешение холестатического синдрома. Уровень ЩФ в этот период в группе «Стеатогепатит + Ремаксол» достоверно не отличался от показателей группы «Контроль» и был в среднем на 44,2 ЕД/л ниже, чем уровень ЩФ в группе «Стеатогепатит» ($p = 0,002$).

Как следует из данных таблицы 1, уровень глюкозы в крови крыс группы «Стеатогепатит» медленно повышался ($\chi^2_{(3)} = 10,485$, $p = 0,015$; контрольная точка выявления статистически значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 37-е сутки: $z = -2,197$, $p = 0,028$). Применение препарата Ремаксол существенно замедляло темпы нарастания уровня глюкозы. В группе «Стеатогепатит + Ремаксол» статистически значимых отличий по содержанию глюкозы в крови подопытных животных по сравнению с контрольными значениями не установлено на всем протяжении периода наблюдений ($p > 0,05$). Достоверных отличий между группами нелеченых животных и животных, получавших лечение, не установлено (см. табл. 1).

Статистически значимого увеличения концентрации глюкозы в крови крыс со стеатозом печени выявить не удалось ($\chi^2_{(3)} = 7,168$, $p = 0,067$). Введение исследуемого препарата на фоне развивающегося стеатоза печени также не приводило к значительным колебаниям уровня глюкозы; достоверных отличий между группами «Стеатоз печени», «Стеатоз печени + Ремаксол» и «Контроль» по изучаемому показателю на всем протяжении исследования не выявлено ($p > 0,05$).

Анализ результатов динамики гомоцистеина — важного маркера печеночной и эндотелиальной дисфункции — у крыс со стеатогепатитом выявил достоверное нарастание этого показателя в ходе проведения эксперимента ($\chi^2_{(3)} = 16,273$, $p = 0,001$; контрольная точка выявления статистически значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 28-е сутки: $z = -2,803$, $p = 0,005$). На фоне применения Ремаксоло в крови крыс со стеатогепатитом наблюдалось медленное снижение концентрации гомоцистеина, и на всем протяжении курса лечения его уровень достоверно не превышал нормальные значения ($p > 0,05$).

Нарастание уровня гомоцистеина показано и при биохимическом анализе крови животных группы «Стеатоз печени». Однако оно носило медленный умеренный и недостоверный характер ($\chi^2_{(3)} = 6,100$, $p = 0,109$). Применение Ремаксоло на этой модели поражения печени полностью нивелировало наблюдаемую тенденцию к гипергомоцистеинемии (см. табл. 1). На всем протяжении эксперимента уровень гомоцистеина в крови животных группы «Стеатоз печени + Ремаксол» статистически значимо не отличался от контрольных значений и было ниже по сравнению с группой нелеченых крыс ($p > 0,05$).

Основу патогенеза жировой дистрофии печени в обеих используемых в исследовании моделях поражения печени составляет глубокое нарушение липидного обмена с развитием гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии (см. табл. 1).

В группе «Стеатогепатит» наблюдалось выраженное достоверное увеличение концентрации общего холестерина в крови подопытных животных уже на ранних этапах эксперимента ($\chi^2_{(3)} = 21,337$, $p < 0,001$; контрольная точка выявления статистически значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 21-е сутки: $z = -2,497$, $p = 0,013$). Параллельно значительно более высокими темпами по сравнению с другими фракциями холестерина крови происходило нарастание концентрации триглицеридов ($\chi^2_{(3)} = 26,455$, $p < 0,001$; контрольная точка выявления статистически значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 21-е сутки: $z = -2,193$, $p = 0,028$).

При этом соотношение ТГ/ОХ увеличилось с 0,53 на 21-е сутки эксперимента до 0,79 на 37-е сутки (контрольное значение — 0,52).

Введение животным группы «Стеатогепатит + Ремаксол» препарата Ремаксол умеренно снижало концентрацию холестерина и триглицеридов (см. табл. 1). К окончанию 10-дневного курса терапии Ремаксолом содержание общего холестерина и триглицеридов в крови крыс было статистически значимо ниже содержания ОХ и ТГ в группе нелеченых крыс со стеатогепатитом ($p < 0,05$). Однако значения этих показателей все равно оставались высокими, достоверно отличающимися от уровня показанного в контрольной группе (уровень ОХ был выше в среднем на 2,2 ммоль/л ($p = 0,001$), ТГ — на 2,2 ммоль/л ($p < 0,001$)).

В группе животных «Стеатоз печени» также наблюдалось увеличение концентрации общего холестерина и триглицеридов в крови. Однако оно происходило значительно медленнее и было более умеренным (ОХ: $\chi^2_{(3)} = 13,000, p = 0,003$; контрольная точка выявления статистически значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 28-е сутки: $z = -2,522, p = 0,009$; ТГ: $\chi^2_{(3)} = 14,131, p = 0,002$; контрольная точка выявления статистически значимого уровня отличий средних величин с группой «Контроль» — 28-е сутки: $z = -2,397, p = 0,012$). При этом соотношение ТГ/ОХ увеличилось с 0,46 на 21-е сутки эксперимента до 0,67 на 37-е сутки, т. е. было несколько меньшим по сравнению с группой «Стеатогепатит».

При введении животным со стеатозом печени препарата «Ремаксол» было продемонстрировано значительное уменьшение гиперхолестеринемии и триглицеридемии. На момент окончания исследования и концентрация ОХ, и содержание ТГ полностью соответствовали контрольным значениям ($p = 0,052$ и $p = 0,055$ соответственно). Это свидетельствует об эффективной коррекции нарушений липидного обмена и липосинтетической функции печени препаратом Ремаксол на модели умеренных нарушений функций органа.

ВЫВОДЫ

Развитие жировой дистрофии печени приводило к значительным изменениям всех видов метаболизма подопытных животных, что проявлялось тяжелыми нарушениями пигментного и липидного обменов, цитолитическим и холестатическим синдромами и развитием гипергомоцистеинемии (только в группах со стеатогепатитом). Введение подопытным животным Ремаксолом способствовало нормализации показателей метаболизма у подопытных крыс.

На основании проведенного исследования инфузионный, гепатопротективный препарат «Ремаксол» может быть рекомендован для направленного, патогенетически обоснованного лечения неалкогольной жировой болезни печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Brunt EM. Non-alcoholic fatty liver disease: what's new under the microscope? *Gut*. 2011;60:1152-8.
2. Brunt EM, Wong VW, Nobili V, et al. Nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15080. doi: 10.1038/nrdp.2015.80.
3. Corte C, Nobili V, Alkhoury N, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a challenge for pediatricians. *JAMA pediatrics*. 2015;169(2):170-176.
4. Goh GB, McCullough AJ. Natural history of nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci*. 2016;61:1226-33. doi: 10.1007/s10620-016-4095-4.
5. Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA*. 2015;313:2263-73. doi: 10.1001/jama.2015.5370.
6. Unalp-Arida A, Ruhl CE. Noninvasive fatty liver markers predict liver disease mortality in the U.S. population. *Hepatology*. 2016;63:1170-83. doi: 10.1002/hep.28390.
7. Wong RJ, Aguilar M, Cheung R, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is the second leading etiology of liver disease among adults awaiting liver transplantation in the United States. *Gastroenterology*. 2015;148:547-55. doi: 10.1053/j.gastro.2014.11.039.

◆ Информация об авторах

Александр Петрович Трашков — канд. мед. наук, заведующий отделом экспериментальной фармакологии. Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург. E-mail: alexandr.trashkov@gmail.com.

Татьяна Викторовна Брус — аспирант, кафедра патологической физиологии с курсом иммунопатологии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: bant.90@mail.ru.

◆ Information about the authors

Alexander P. Trashkov — MD, PhD, Head of Experimental Pharmacology Dept. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia. E-mail: alexandr.trashkov@gmail.com.

Tatiana V. Brus — Postgraduate Student, Department of Pathologic Physiology and Course Immunopathology. St Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. E-mail: bant.90@mail.ru.

◆ Информация об авторах

Андрей Глебович Васильев – д-р мед. наук, профессор, заведующий, кафедра патологической физиологии с курсом иммунопатологии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: avas7@mail.ru.

Маргарита Радиевна Артеменко – аспирант испытательного центра радиофармпрепаратов. ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург. E-mail: shadow_ii@list.ru.

Валерия Антоновна Печатникова – научный сотрудник испытательного центра радиофармпрепаратов. ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург. E-mail: floluttrell@gmail.com.

Мария Александровна Гуменная – младший научный сотрудник испытательного центра радиофармпрепаратов. ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург. E-mail: magu65110@gmail.com.

◆ Information about the authors

Andrey G. Vasiliev – MD, PhD, Dr Med Sci, Professor, Head, Department of Pathologic Physiology and Course Immunopathology. St Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. E-mail: avas7@mail.ru.

Margarita R. Artyomenko – Post-graduate Student, Radiopharmaceuticals test center. Petersburg Nuclear Physics Institute (PNPI) of the National Research Center “Kurchatov Institute”, Saint Petersburg, Russia. E-mail: shadow_ii@list.ru.

Valeria A. Pechatnikova – Research fellow, Radiopharmaceuticals test center. Petersburg Nuclear Physics Institute (PNPI) of the National Research Center “Kurchatov Institute”, Saint Petersburg, Russia. E-mail: floluttrell@gmail.com.

Maria A. Gumennaya – Junior research fellow, Radiopharmaceuticals test center. Petersburg Nuclear Physics Institute (PNPI) of the National Research Center “Kurchatov Institute”, Saint Petersburg, Russia. E-mail: magu65110@gmail.com.