

ФАРМАКОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО МЕТАБОЛИЧЕСКОГО КОРРЕКТОРА «РУНИХОЛ®» НА МОДЕЛЯХ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

В. В. Стельмах¹, А. П. Трашков², А. Л. Коваленко³, В. А. Заплутанов⁴

Приведены результаты доклинического исследования специфической эффективности нового метаболического корректора с гепатопротективными свойствами «Рунихол®» на моделях неалкогольной жировой болезни печени у лабораторных крыс (228 самцах-альбиносах серых крыс Вистар массой 220 – 240 г). Выявлено положительное влияние на ключевые виды обмена, нарушенные при развитии метаболического синдрома, а также гепатопротекторный эффект. Результаты исследования свидетельствуют о высокой терапевтической эффективности и перспективности нового лекарственного средства на основе янтарной кислоты при метаболическом синдроме с органными поражениями.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени; стеатогепатит; метаболический синдром; метаболический корректор; дислипидемия.

ВВЕДЕНИЕ

В конце прошлого столетия была предложена концепция метаболического синдрома (МС) [14]. Больные с МС имеют повышенный риск развития органных поражений: сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и сахарного диабета (СД) 2 типа [1]. Использование понятия МС дает возможность прогнозировать уровень распространенности НАЖБП, ССЗ, СД 2 типа, летальности вследствие осложнений портальной гипертензии при развитии цирротической стадии НАЖБП, развитие сердечно-сосудистых рисков на фоне МС, инвалидизацию при прогрессировании СД 2 типа [9].

Популяционные и клинические исследования убедительно доказали, что НАЖБП является проявлением метаболического синдрома (МС) [10, 12]. В ряде случаев НАЖБП является первым органным поражением при МС, являясь серьезным предиктором развития и прогрессирования СД, кардиоваскулярной патологии, смертность от которых занимает лидирующее место в мире [13].

Проблема нарушений нескольких видов обмена при МС, превалирование проявлений окислительного стресса

как типового патологического процесса, поражение ключевого обменного органа — печени — диктует необходимость осмысленного назначения патогенетически значимых лекарственных средств [3].

Важнейшей задачей фармакотерапии МС является снижение как краткосрочного, так и долгосрочного индивидуального сердечно-сосудистого риска [11]. В настоящее время статины являются одними из основных средств, снижающих уровень общего холестерина, холестерина ЛПНП [15]. Исходя из определяющей роли инсулинорезистентности и сопутствующей ей гиперинсулинемии в развитии МС, обосновано назначение препаратов, восстанавливающих нормальную чувствительность к инсулину печени, жировой и мышечной ткани — бигуанидов. В то же время пациентам с МС и поражением органов-мишеней (печень, почки) с нарушением их функций применение препаратов указанных групп имеет ограничения.

Результаты клинических исследований эффективности и безопасности применения лекарственных препаратов из группы метаболических корректоров на основе янтарной кислоты, обладающих гепатопротекторной и антиоксидантной направленностью, демонстрируют преимущества, по сравнению с традиционно применяемыми гепатопротекторами, у пациентов с НАЖБП на фоне МС [4]. В настоящее время продолжает изучаться потенциал сукцинатсодержащих препаратов в отношении атерогенеза, включая их воздействие на дислипидемию, системное воспаление, гепатоцеллюлярное повреждение [2, 5, 6].

В этой связи привлекателен поиск единого препарата, воздействующего на комплекс нарушений, имеющийся у пациента с МС, позволяющий воздействовать на факторы риска, а также улучшать состояние органов-мишеней.

¹ ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», Россия, 195067, Санкт-Петербург, Кирочная ул., 41.

² ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук», Россия, 194223, Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44.

³ ФБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», Россия, 192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д. 1.

⁴ ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова д. 4/6.

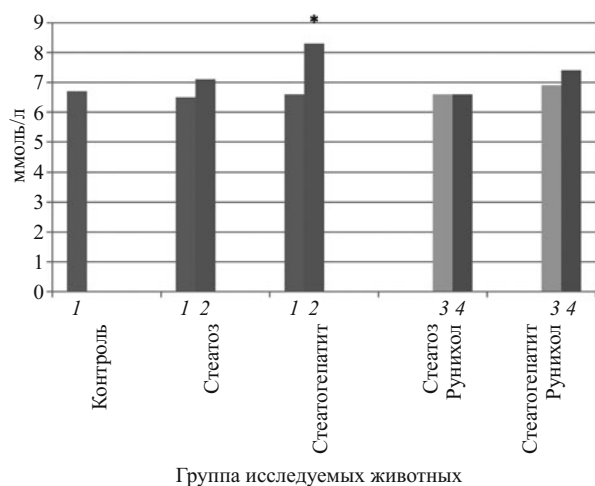


Рис. 1. Состояние углеводного обмена у лабораторных крыс (уровень глюкозы в крови, ммоль/л).

Здесь и на рис. 2 – 8:

* отличия от группы “Контроль” достоверны на принятом уровне значимости ($p < 0,05$);

** отличия от группы “Стеатогепатит” достоверны на принятом уровне значимости ($p < 0,05$);

*** отличия от группы “Стеатоз” достоверны на принятом уровне значимости ($p < 0,05$);

1 – исходно, 2 – без лечения, 3 – до лечения, 4 – после лечения.

Целью настоящего исследования явилось изучение специфической эффективности нового метаболического корректора на основе янтарной кислоты с гепатопротекторными свойствами “Рунихол®” на моделях неалкогольной жировой болезни печени у лабораторных крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Представлены результаты доклинического исследования эффективности и безопасности препарата “Рунихол®”. **Состав препарата в 1 таблетке. Активное вещество:** янтарная кислота — 0,250 г, рибоксин (инозин) — 0,100 г, таурин — 0,050 г, метионин — 0,050 г. **Вспомогательные вещества** — 0,184 г: крахмал картофельный, повидон, целлюлоза микрокристаллическая, кальция стеарат, гипромеллоза, полисорбат-80. **Кишечнорастворимая оболочка** — 0,061 г: метакриловой кислоты и этилакрилата сополимер, тальк, титана диоксид, триэтилцитрат, кремния диоксид коллоидный, натрия гидрокарбонат, натрия лаурилсульфат производства ООО “НТФФ “ПОЛИСАН” (Россия) на моделях НАЖБП различной степени тяжести у лабораторных крыс. Экспериментальная модель развития фруктозоиндуцированной жировой дистрофии печени различной степени тяжести у самцов-альбиносов серых крыс предусматривает развитие патологии печени (стеатоза с последующим переходом к более тяжелой форме — стеатогепатиту) на фоне появляющихся в ходе эксперимента нарушений в ключевых видах обмена — липидном и углеводном (модуляция метаболического синдрома).

Исследование проведено на 228 самцах-альбиносах серых крыс Вистар с массой тела на момент включения в исследование 220–240 г. (“Раполово”, Ленинградская область). Моделирование НАЖБП воспроизводили по

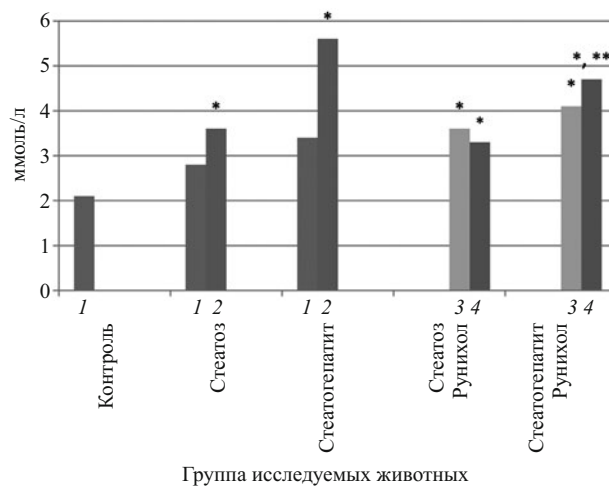


Рис. 2. Состояние липидного обмена (общий холестерин крови, ммоль/л) у лабораторных крыс.

методике [8] в нашей модификации [7]. Было сформировано 5 экспериментальных групп: 1 группа — “Контроль” ($n = 12$) — интактные крысы, у которых исследовали параметры системы крови и метаболизма для расчета фоновых, референсных значений; 2 группа — “Стеатоз печени” ($n = 48$) — крысы, у которых в качестве питьевой воды на всем протяжении эксперимента использовали 10 % раствор фруктозы; 3 группа — “Стеатогепатит” ($n = 48$) — крысы, которые на всем протяжении эксперимента в качестве корма получали брикеты, содержащие компоненты в следующих соотношениях (по массе): 22 % белка, 5 % животного жира, 60 % фруктозы, 8 % целлюлозы, 5 % минеральных веществ; 4 группа — “Стеатоз печени + рунихол” ($n = 60$) — крысы, у которых моделировали развитие стеатоза печени и с 28 сут от начала эксперимента ежедневно однократно в течение 10 дней внутрижелудочно вводили рунихол в дозе 200 мг/кг; 5 группа — “Стеатогепатит + рунихол” ($n = 60$) — крысы, у которых моделировали развитие стеатогепатита и с 28 сут от начала эксперимента ежедневно однократно в течение 10 дней внутрижелудочно вводили рунихол в дозе 200 мг/кг.

В группе 1 взятие крови производили в день начала эксперимента. В группах 2 и 3 взятие крови осуществляли на 21, 28 и 37 сут от начала эксперимента. У животных групп 4 и 5 взятие крови осуществляли на 1, 3, 5 и 10 сут после начала введения исследуемых препаратов. Взятие крови для исследований согласно протоколу осуществляли путем транскутанной пункции сердца крысы в вакуумные системы Monovette в объеме 6 мл. После процедуры взятия крови животных подвергали эвтаназии.

Проведено исследование основных биохимических показателей в крови: аланинаминотрансферазы (АСТ), аспаргатаминотрансферазы (АСТ), общего билирубина, глюкозы, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), общего холестерина, триацилглицеридов (ТАГ). Состояние антиоксидантной системы крови и интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по уровню каталазы (КАТ), суперок-

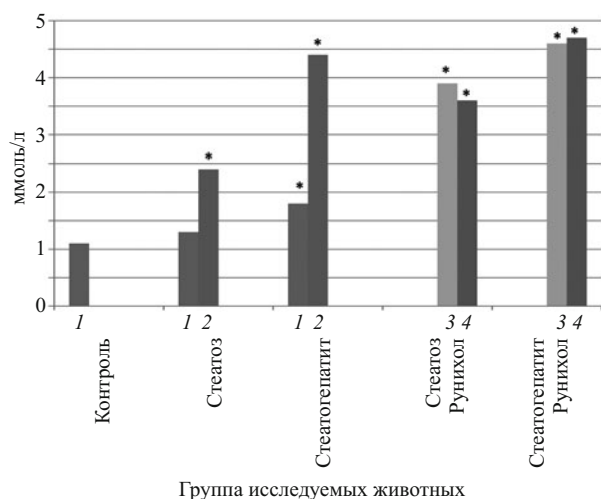


Рис. 3. Состояние липидного обмена (триацилглицериды, ммоль/л) у лабораторных крыс.

сиддисмутазы (СОД), концентрации малонового диальдегида (МДА) по методу В. В. Туркина (1994).

Статистическую обработку проводили при помощи пакета программ SPSS. Проверку характера распределения данных проводили 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

При оценке эффективности препарата рунихол на моделях НАЖБП различной степени тяжести у лабораторных крыс установлено влияние препарата на ключевые виды обмена при развитии метаболического синдрома, а также на функциональное состояние печени.

Применение исследуемого препарата у лабораторных крыс на фоне прогрессирующего метаболического синдрома и развивающегося на этом фоне НАЖБП предупреждало развитие нарушений углеводного обмена. В группе “Стеатогепатит + рунихол” статистически значимых отличий по содержанию глюкозы в крови подопытных животных, по сравнению с контрольными значениями, не установлено на всем протяжении периода наблюдений ($p > 0,05$) (рис. 1). В то же время в группе нелеченных животных регистрировали гипергликемию.

Установлено положительное влияние препарата на липидный обмен (по уровню общего холестерина, триа-

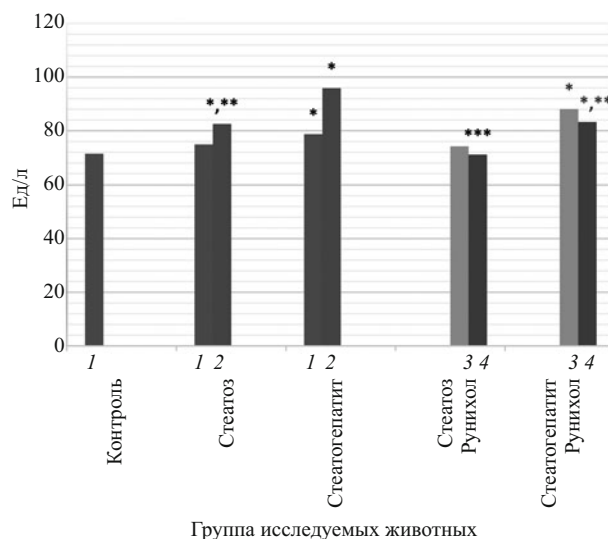


Рис. 4. Синдром цитолиза (АЛТ, ЕД/л) у лабораторных крыс.

цилглицеридов). Так, в ходе эксперимента у подопытных животных по мере прогрессирования НАЖБП от стеатоза к стеатогепатиту наблюдалось ухудшение показателей липидного обмена, развитие атерогенной дислипидемии. Препарат рунихол предупреждал развитие дислипидемии у крыс в экспериментальной модели НАЖБП, способствовал улучшению показателей липидного обмена на стадии стеатоза печени (по уровню общего холестерина: снижение с $(3,6 \pm 0,28)$ до $(3,3 \pm 0,09)$ ммоль/л, триглицеридов: снижение с $(2,4 \pm 0,21)$ до $(2,0 \pm 0,10)$ ммоль/л, $p > 0,05$) (рис. 2, 3).

Назначением рунихола достигалась профилактика гепатоцеллюлярного повреждения при развитии НАЖБП на стадии стеатоза печени при метаболическом синдроме у лабораторных крыс: к окончанию терапии (37 сут исследования) в группах животных, получавших препарат, показатели активности АЛТ и АСТ были статистически значимо ниже, чем у нелеченных крыс (рис. 4). На фоне применения рунихола активность трансаминаз достоверно снижалась по отношению к таковым значениям группы “Стеатогепатит”: на момент окончания периода наблюдений (37 сут): уровень АЛТ в группе “Стеатогепатит + рунихол” был ниже в среднем на 12,6 ЕД/л ($p = 0,005$) по сравнению с аналогичным показателем в группе “Стеатогепатит”; уровень АСТ был ниже в среднем на 10,8 ЕД/л ($p = 0,005$) (рис. 4).

Применение рунихола на стадии стеатоза у лабораторных крыс при развитии МС предупреждает развитие внутрипеченочного холестаза (по уровню ЩФ), способствует нормализации показателей пигментного обмена (по уровню общего билирубина) (рис. 5, 6). Использование рунихола на стадии стеатогепатита у лабораторных крыс приводило к уменьшению проявлений внутрипеченочного холестаза: уровень ЩФ у лабораторных крыс снизился с $(380,2 \pm 6,03)$ до $(349,0 \pm 4,17)$ ЕД/л, $p < 0,05$ (рис. 6); достоверно снизился уровень общего билирубина: на момент окончания исследования (37 сут) содержание общего билирубина в крови крыс группы “Стеатогепатит + рунихол” было в среднем на 12,6 мкмоль/л ниже,

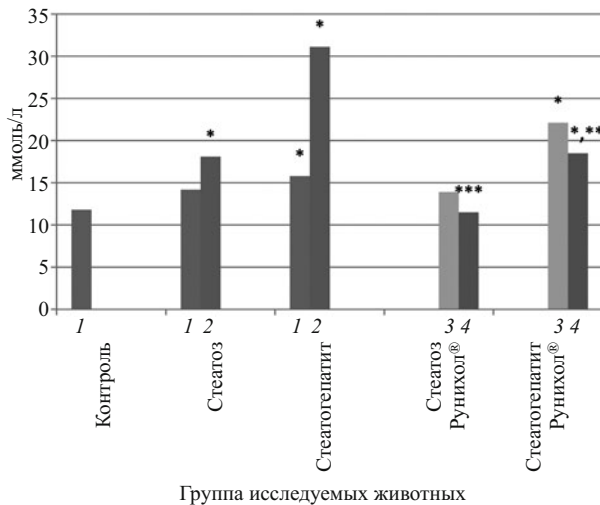


Рис. 5. Уровень общего билирубина (мкмоль/л) у лабораторных крыс.

чем в группе “Стеатогепатит”: $(18,5 \pm 1,00)$ и $(31,1 \pm 2,06)$ мкмоль/л, соответственно, $p = 0,003$ (рис. 5).

Изучение выраженности процессов перекисного окисления липидов (по уровню МДА) и сопряженной с ними антиоксидантной недостаточности (оцениваемой по ферментативному звену — КАТ) при развитии метаболического синдрома и НАЖБП у лабораторных крыс выявило определенные закономерности (рис. 7). Уровень МДА существенно возрастал при прогрессировании НАЖБП на фоне метаболического синдрома. Применение рунихола способствовало снижению активности перекисного окисления липидов (по уровню МДА) при развитии метаболического синдрома и НАЖБП у лабораторных крыс (на стадии стеатоза уровень МДА снизился с $(15,7 \pm 0,72)$ до $(13,0 \pm 0,22)$ ммоль/л, $p < 0,05$), предупреждало развитие антиоксидантной недостаточности у лабораторных животных (рис. 7).

Введение животным со стеатозом печени рунихола оказало мягкий корригирующий эффект на состояние ферментативного звена антиоксидантной системы, способствующий восстановлению активности СОД до значений контрольной группы на 37 сут исследования (окончание курса терапии). Содержание каталазы в крови животных группы “Стеатоз печени + рунихол” на всем протяжении исследования находилось на уровне группы “Контроль” и не подвергалась выраженным колебаниям ($\chi^2_{(3)} = 1,606$, $p = 0,633$).

Развитие и прогрессирование НАЖБП на фоне МС у лабораторных животных сопровождалось снижением белково-синтетической функции печени. Применение рунихола приводило к восстановлению синтеза белка печенью у лабораторных крыс с НАЖБП на стадии стеатогепатита, уровень общего белка повысился с $(63,9 \pm 0,69)$ до $(66,6 \pm 0,78)$ г/л, $p > 0,05$ (рис. 8).

На основании исследования специфической эффективности нового метаболического корректора с гепатопротекторными свойствами рунихол выявлен ряд эффектов препарата, заключающихся в:

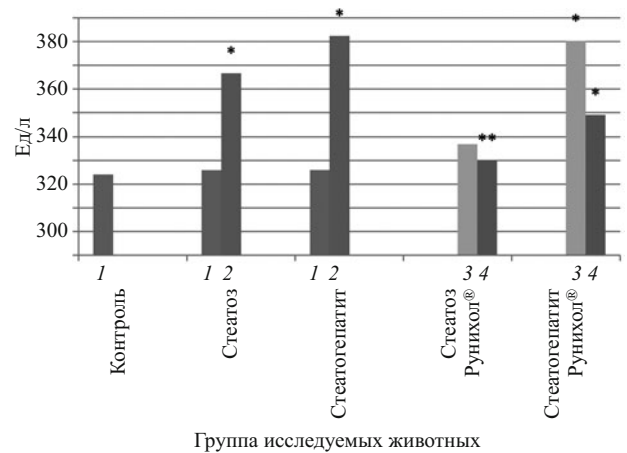


Рис. 6. Синдром холестаза (ЩФ, ЕД/л) у лабораторных крыс.

стабилизации углеводного обмена на стадии стеатоза печени, сдерживании прогрессирования нарушений в углеводном обмене на стадии стеатогепатита при развитии МС;

профилактике развития атерогенной дислипидемии, улучшении показателей липидного обмена (по уровню общего холестерина, триацилглицеридов) при НАЖБП на фоне МС;

профилактике гепатоцеллюлярного повреждения при развитии МС и НАЖБП на стадии стеатоза печени, а также снижении выраженности синдрома цитолиза (по уровню АЛТ, АСТ) при НАЖБП на стадии стеатогепатита;

уменьшении проявлений внутрипеченочного холестаза (по уровню ЩФ) при развитии МС и НАЖБП;

повышении белково-синтетической функции печени (по уровню общего белка) при развитии МС и НАЖБП на стадии стеатогепатита;

профилактики прогрессирования процессов перекисного окисления липидов (по уровню МДА) при развитии МС и НАЖБП на стадии стеатогепатита;

профилактики развития и прогрессирования антиоксидантной недостаточности (ферментативное звено — СОД, КАТ) при развитии МС.

Это диктует необходимость проведения клинических исследований по изучению безопасности и эффективности рунихола при НАЖБП на фоне МС.

ВЫВОДЫ

1. Рунихол (200 мг/кг внутривенно 10 дней), наряду с гепатопротекторным эффектом, оказывает положительное влияние на ключевые виды обмена, нарушенные в условиях инсулинорезистентности и развития МС.

2. Метаболический корректор с гепатопротекторными свойствами рунихол является перспективным препаратом для лечения и профилактики МС с органическими поражениями.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Жировое перерождение печени и ишемическая болезнь сердца. Гериатрические аспекты*, Хорошнина Л. П. (ред.), Москва (2014).

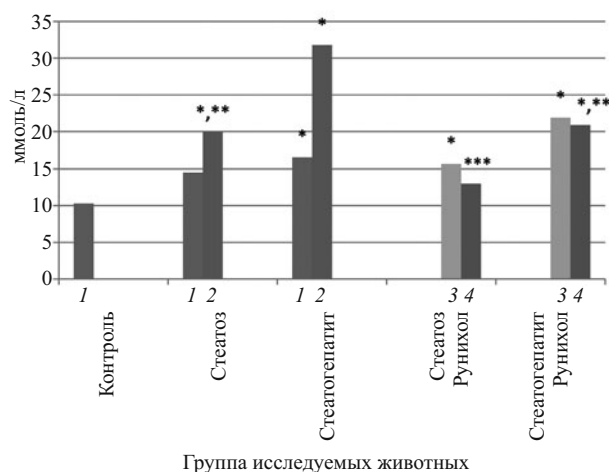


Рис. 7. Уровень МДА (моль/л) у лабораторных крыс.

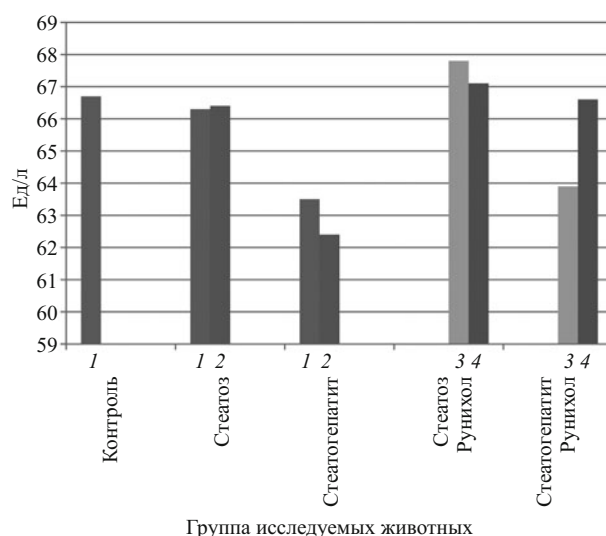


Рис. 8. Уровень общего белка (г/л) у лабораторных крыс.

- М. Г. Романцов, Д. С. Суханов, А. Ю. Петров и др., *Фундам. исслед.*, **3**, 131 – 142 (2011).
- В. В. Стельмах, В. К. Козлов, В. Г. Радченко, А. С. Некрасова, *Клин. мед.*, № 6, 61 – 65 (2012).
- В. В. Стельмах, В. К. Козлов, В. Л. Баранов и др., *Мед. алфавит. Гастроэнтерология*, № 1(2), 38 – 44 (2013).
- В. В. Стельмах, В. К. Козлов, *Тер. архив*, **85**(4), 71 – 76 (2013).
- Д. С. Суханов, А. Ю. Петров, М. Г. Романцов и др., *Фундам. исслед.*, № 5, 159 – 169 (2011).
- А. П. Трашков, А. Г. Васильев, А. Л. Коваленко и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **78**(3), 17 – 21 (2015).
- Z. Ackerman, M. Oron-Herman, M. Grozovski, et al., *Hypertension*, № 45, 1012 – 1018 (2005).
- American Association for the study of liver disease, available at: <http://hepar-sfgh-ucsf.edu>. (2005).
- S. Belentani, M. Marino, *Ann Hepatol.*, **8** (suppl. 1), 4 – 8 (2009).

- Cholesterol Treatment Trialists (CTT) Colaboration, Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170000 participants in 26 randomized trials, *Lancet*, **2010** (376), 1670 – 1681 (2010).
- G. Marchesini, E. Bugianesi, G. Forlani, et al., *Hepatol.*, **37**(4), 917 – 923 (2003).
- J. P. Ong, A. Pitts, Z. M. Younossi, *J. Hepatol.*, **49**(4), 608 – 612 (2008).
- G. Reaven, *Role of insulin resistance in human disease*, Banting lecture (1988).
- Z. Reiner, A. L. Catapano, G. De Backer, et al., *Eur Heart J.*, **32**(14), 1769 – 1818 (2011).

Поступила 22.09.16

EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF THE SPECIFIC EFFICIENCY OF NEW METABOLIC DRUG RUNIKHOL ON MODELS OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

V. V. Stel'makh¹, A. P. Trashkov², A. L. Kovalenko³, and V. A. Zaplutanov⁴

¹ I. I. Mechnikov North-Western State Medical University, ul. Kirochnaya 41, St. Petersburg, 191067 Russia.

² I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Moris Thorez prospekt 44, St. Petersburg, 194223 Russia.

³ Institute of Toxicology, Federal Medico-Biological Agency, ul. Bekhtereva 1, St. Petersburg, 192019 Russia.

⁴ St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy, ul. Prof. Popova 4/6, St. Petersburg, 197022 Russia.

We present results of preclinical evaluation of the specific efficiency of new metabolic corrector runikhol on models of non-alcoholic fatty liver disease in laboratory rats (228 albino males of gray Wistar rats weighing 220 – 240 g). The drug based on succinic acid positively influences the key types of metabolism impaired under conditions of development of the metabolic syndrome. Results of research testify to high efficiency and good prospects of using runikhol in the treatment of metabolic syndrome accompanied by organ disorders.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease; steatohepatitis; metabolic syndrome; metabolic corrector; dyslipidemia.