

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-3-3-6

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТИМУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ СЕЛЕКТИВНЫХ АГОНИСТОВ ОPIOИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА МАССУ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ОБШИРНОЙ РЕЗЕКЦИИ

А. В. Солин¹, А. Ю. Ляшев¹, Ю. Д. Ляшев¹, Карим Авад²

Полученные результаты свидетельствуют о практически полном восстановлении массы печени после 70 % гепатэктомии у крыс через 7 дней, что подтверждает данные литературы. Применение селективных агонистов опиоидных рецепторов оказывало стимулирующее действие на регенерацию печени после частичной гепатэктомии. Наиболее выраженный эффект при внутрибрюшинном введении в течение 5 дней, начиная со дня выполнения операции, проявляли селективный агонист опиоидных каппа-рецепторов динорфин А (1 – 13) (20,1 мкг/кг) и селективный агонист опиоидных мю-рецепторов DAGO (6,3 мкг/кг), которые ускоряют регенерацию печени на 31,7 и 16,8 % (при $p < 0,001$), соответственно, на 7 сут после частичной гепатэктомии. Полученные данные открывают перспективы поиска новых стимуляторов регенерации печени на основе селективных агонистов опиоидных каппа- и мю-рецепторов.

Ключевые слова: опиоидные пептиды; резекция печени; регенерация.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время резекцию ткани широко применяют при лечении очаговых новообразований печени [1]. Однако выполнение массивных резекций печени часто сопровождается развитием тяжелого осложнения — пострезекционной печеночной недостаточности [2]. Снижение тяжести пострезекционных осложнений достигается стимуляцией восстановления объема функционирующей ткани, поскольку известно, что печеночная ткань обладает высокой регенераторной активностью [8].

Установлено, что опиоиды в широком диапазоне доз обладают уникальной совокупностью свойств: ускоряют регенерацию различных тканей, обладают антигипоксическим и антиоксидантным действием [10, 14]. Показано, что селективные агонисты основных 3 классов опиоидных рецепторов: мю-, дельта-, каппа-, обладают стимулирующим действием на регенерацию различных тканей [5, 9].

Ранее нами показано, что опиоидные пептиды активируют процессы регенерации в печени после стресс-индуцированного повреждения в эксперименте. Как установлено, наиболее выраженный стимулирующий эффект наблюдался при внутрибрюшинном

применении селективного агониста опиоидных каппа-рецепторов динорфина А (1 – 13) в дозе 20,1 мкг/кг в течение 5 дней после стрессорного воздействия [11, 12].

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния селективных агонистов отдельных классов опиоидных рецепторов на динамику массы печени крыс после частичной гепатэктомии (ЧГЭ).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 151 крысе-самце Вистар массой 200–250 г (питомник Столбовая, Московская обл.). Животные были разделены на следующие группы: интактная ($n = 6$), ложнооперированная ($n = 15$), контрольная (резекция печени, $n = 34$, включая 4 крысы, погибшие после ЧГЭ), 3 опытные группы (резекция печени + введение исследуемых опиоидов, в каждой $n = 36$, включая 6 крыс, погибших после ЧГЭ). ЧГЭ выполняли по методу, описанному G. M. Higgins и R. M. Anderson с удалением 70 % ткани печени [7]. Крыс наркотизировали внутрибрюшинным введением хлоралгидрата (фирма “Sigma-Aldrich”, США, 0,015 мл/кг) и выполняли резекцию левой и медиальной долей печени после предварительного лигирования сосудов. Смертность животных после частичной гепатэктомии в контрольной группе составила 13,3 %, а в группах, получавших опиоиды, 6,7 % (указанные различия не являются статистически достоверными). Ложнооперированным крысам выполняли срединную

¹ ФГБОУ ВО “Курский государственный медицинский университет” МЗ РФ, Россия, 305041, Курск, ул. Карла Маркса, д. 3.

² Национальный исследовательский центр. Департамент терапевтической химии, Египет ПС, 12622, Гиза, Докки, ул. Эль-Бахаут.

лапаротомию, печень частично выводили из брюшной полости и затем возвращали назад. Лапаротомное отверстие ушивали послойно. Ложнооперированных животных и крыс, которым выполняли ЧГЭ, выводили из эксперимента через 1, 3, 7 сут эксперимента (по $n = 10$). Определяли суммарную массу правой и хвостатой долей и рассчитывали следующие показатели: 1) относительное увеличение массы правой и хвостатой долей к массе этих долей после резекции в процентах; 2) относительная масса печени (отношение массы печени в день исследования к исходной массе печени) в процентах. Проводили гистологическое исследование препаратов регенерировавшей печени, окрашенных гематоксилином и эозином, для определения механизмов регенерации.

Исследования проводили с соблюдением положений, изложенных в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном отношении к лабораторным животным (2000 г.), директивы Европейского сообщества (86/609ЕС) и Правил надлежащей лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г.).

В работе использованы селективные агонисты опиоидных рецепторов в эквимоларных дозах: DAGO (агонист мю-рецепторов, фирма "Sigma-Aldrich", США) в дозе 6,3 мкг/кг, DSLET (агонист дельта-рецепторов, лаборатория синтеза пептидов НМИЦ кардиологии, Москва) в дозе 10 мкг/кг, динорфин А (1 – 13) (агонист каппа-рецепторов, лаборатория синтеза пептидов НМИЦ кардиологии, Москва) в дозе 20,1 мкг/кг. В наших предшествующих экспериментах и литературных данных показана высокая эффективность применения опиоидов для коррекции стресс-индуцированных поражений при их использовании в указанных дозах [4, 11, 12]. Пептиды вводили внутривентриально ежедневно 1 раз в сутки, начиная с первого дня эксперимента, в течение 5 дней в виде водного раствора в объеме 0,2 мл. Контрольным животным аналогично вводили 0,9 % раствор хлорида натрия.

Статистическую значимость различий средних величин вычисляли по t -критерию Стьюдента после проверки нормальности распределения изучаемых параметров.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У интактных и ложнооперированных крыс не установлено изменений массы печени на протяжении всего эксперимента. Полученные данные показывают, что у крыс контрольной группы, которым выполняли частичную гепатэктомию и вводили 0,9 % раствор хлорида натрия, на 7 сут относительная масса органа составляет 86,2 % от исходной за счет активной регенерации правой и хвостатой долей (на 187,3 %) (таблица).

Применение всех исследованных опиоидных пептидов оказывало стимулирующее влияние на регенерацию ткани печени после частичной гепатэктоми. Наиболее выраженный эффект проявляли селективный агонист каппа-рецепторов динорфин А (1 – 13) и селективный агонист мю-рецепторов DAGO. Так, при введении DAGO уже на 1 сут после резекции относительное увеличение массы правой и хвостатой долей составило 53,3 %, что в 2,56 раз больше, чем аналогичный показатель в контрольной группе. Такая же динамика наблюдалась и в остальные сроки наблюдения (3 и 7 сут). Масса печени у крыс, получавших DAGO, на 7 сут составляла 100,7 % и это на 16,8 % больше по сравнению с животными контрольной группы ($p < 0,001$).

Особенности фармакологического эффекта динорфина А (1 – 13) на регенерацию печени после частичной гепатэктомии заключаются в выраженном влиянии пептида на заключительном этапе регенерации. Увеличение относительной массы органа у крыс, которым вводили динорфин А (1 – 13), было статистически достоверно большим, чем у животных, получавших DSLET, именно на 7 сут после оперативного вмешательства и составило 113,5 %.

Влияние опиоидных пептидов (внутрибрюшинно в течение 5 дней, начиная со дня операции) на массу печени у крыс Вистар, перенесших 70 % резекцию печени ($M \pm m$)

Препарат, доза	Относительное увеличение массы правой и хвостатой долей к массе этих долей после резекции, %			Относительная масса печени (отношение массы печени в день исследования к исходной массе печени), %		
	1 сут	3 сут	7 сут	1 сут	3 сут	7 сут
Физиологический раствор	20,8 ± 1,3	128,7 ± 4,2	187,3 ± 5,5	36,3 ± 0,4	68,7 ± 1,2	86,2 ± 1,7
DAGO, 6,3 мкг/кг	53,3 ± 3,2***	161,6 ± 6,1*** ¹	235,8 ± 3,6***	46,0 ± 1,0***	78,5 ± 1,8***	100,7 ± 1,1***
Динорфин А (1 – 13) 20,1 мкг/кг	48,0 ± 3,8***	102,0 ± 4,6	278,2 ± 10,4*** ¹¹	44,4 ± 1,1***	72,9 ± 1,6	113,5 ± 3,1*** ^{11,22}
DSLET, 10 мкг/кг	38,3 ± 6,1***	129,6 ± 11,3	222,7 ± 5,0***	41,5 ± 1,8*	68,7 ± 3,6	96,8 ± 1,5**

Примечание: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ в сравнении с контрольной группой; ¹ $p < 0,05$, ¹¹ $p < 0,01$ в сравнении с группой, получавшей DSLET; ²² $p < 0,01$ в сравнении с группой, получавшей DAGO.

При гистологическом исследовании препаратов регенерирующей печени, взятых на 1, 3 и 7 сут после частичной гепатэктомии, установлено, что восстановление объема органа объясняется ускорением пролиферации гепатоцитов, а также их гипертрофией. Встречаются также и полиплоидные клетки.

Полученные результаты подтверждают данные литературы о практически полном восстановлении массы печени после 70 % гепатэктомии у крыс через 7 дней [7]. Ранее показано, что способностью к регенерации обладают не только гепатоциты, но клетки билиарных протоков, купферовские, звездчатые, эндотелиальные клетки [8]. Полученные нами результаты подтверждают, что восстановление объема органа идет за счет ускорения митотического деления, гипертрофии и полиплоидизации гепатоцитов, что соответствует литературным данным [13]. Известно, что процесс регенерации печени после частичной гепатэктомии контролируется целым каскадом ростовых факторов, цитокинов, транскрипционных факторов, однако наиболее важными из них являются фактор роста гепатоцитов, эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста-альфа, ангиогенные факторы [3, 6]. Фактор роста гепатоцитов играет ключевую роль, поскольку индуцирует переход гепатоцитов в фазу митотического цикла [6]. В неактивном состоянии он присутствует в матриксе ткани печени в значительных количествах, и после гепатэктомии под влиянием урокиназы и ферментов семейства металлопротеаз фактор роста гепатоцитов активируется и запускает деление клеток печени. Интересным представляется факт, что эпидермальный фактор роста действует, в основном, на начальной стадии регенерации печени, а трансформирующий фактор роста — альфа — на поздних этапах [3]. Ранее показано, что регенерация ткани печени сопровождается сокращением длительности фаз митотического цикла [3]. Когда масса регенерирующей печени достигает нормальных значений, регенерация органа останавливается [8, 13].

Ранее установлено, что опиоиды оказывают влияние на внутриклеточные факторы, контролирующие регенерацию тканей, в частности, матриксные металлопротеазы [14]. По нашему мнению, стимулирующее влияние опиоидов на регенерацию ткани печени после частичной гепатэктомии может объясняться активацией образования необходимых факторов роста, в частности, ключевого компонента каскада — фактора роста гепатоцитов. Действие опиоидов сопровождается или повышением синтеза фактора роста гепатоцитов в ткани печени, или более быстрой его активацией, что приводит к ускорению митотического деления сохранившихся клеток. Можно предположить, что наибольшим подобным действием обладает DAGO, именно поэтому его стимулирующее влияние отмечается на 3 сут наблюдения. Динорфин А (1–13) способен,

по-видимому, активировать выделение трансформирующего фактора роста — альфа — сильнее, чем другие опиоидные пептиды, поэтому его стимулирующее влияние на регенерацию печени наиболее выражено на заключительном этапе (7 сут). Снижение стимулирующего действия динорфина А (1–13) и DSLET на регенерацию печени на 3 сут после частичной гепатэктомии, объясняется, по нашему мнению, влиянием этих пептидов на продукцию трансформирующего фактора роста — альфа, который действует на поздних этапах регенерации (7 сут).

ВЫВОДЫ

1. Опиоидные пептиды динорфин А (1–13), DAGO и DSLET при внутрибрюшинном введении в течение 5 дней после операции в дозах 20,1, 6,3 и 10 мкг/кг, соответственно, оказывают стимулирующий эффект на восстановление массы печени после частичной гепатэктомии на 7 сут после операции на 31,7, 16,8 и 12,3 %, соответственно, больше, чем у крыс, которым вводили 0,9 % раствор хлорида натрия ($p < 0,01 - 0,001$).

2. Наиболее выраженное стимулирующее действие наблюдается при применении селективного агониста мю-рецепторов DAGO (его эффект на 3 сут после частичной гепатэктомии на 24,7 % выше ($p < 0,05$), чем у крыс, получавших DSLET) и селективного агониста каппа-рецепторов динорфина А (1–13) (его эффект на 7 сут после частичной гепатэктомии на 17,3 % ($p < 0,01$) выше, чем у крыс, получавших DSLET).

ЛИТЕРАТУРА

1. В. А. Вишневский, *Операции на печени: руководство для хирургов*, Миклош, Москва (2003).
2. В. А. Вишневский, Ю. А. Коваленко, О. И. Андрейцева и др., *Украинский ж. хирургии*, № 3, 172 – 183 (2003).
3. А. В. Ельчанинов, Т. Х. Фахрутдинов, А. В. Макаров и др., *Клин. и эксперим. морфол.*, № 4, 57 – 61 (2012).
4. Ю. Б. Лишманов, Л. Н. Маслов, *Опиоидные нейропептиды, стресс и адаптационная защита сердца*, Изд-во Томского университета, Томск (1994).
5. P. L. Bigliardi, S. Buchner, T. Ruffi, M. Bigliardi-Qi., *J. Recept. Signal. Transduct. Res.*, **22**(2), 191 – 199 (2002).
6. N. Fausto, *J. Hepatol.*, **32**(1), 19 – 31 (2000).
7. G. M. Higgins, R. M. Anderson, *Arch. Pathol.*, **12**(2), 186 – 202 (1931).
8. D. Mangnall, N. C. Bird, A. W. Majeed, *Liver International*, **23**(2), 124 – 138 (2003).
9. C. Newmann, M. Bigliardi-Qi, C. Widmann, P. L. Bigliardi, *J. Investigat. Dermatol.*, **135**(3), 471 – 480 (2002).
10. P. T. Ronadson, T. P. Davis, *Pharmacol. Rev.*, **65**(1), 291 – 314 (2013).
11. A. V. Solin, A. Yu. Lyashev, Yu. D. Lyashev, *Bul. Experim. Biol. Med.*, **162**(3), 313 – 315 (2017).
12. A. V. Solin, Yu. D. Lyashev, *Neurosci. Behav. Physiol.*, **45**(7), 776 – 779 (2015).
13. B. Z. Stanger, *Cell Cycle*, **7**(3), 318 – 324 (2008).
14. D. J. Yang, K. S. Lee, C. M. Ko, et al., *Peptides*, **76**(1), 57 – 64 (2016).

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE STIMULATORY ACTION OF SELECTIVE AGONISTS OF OPIOID RECEPTORS ON THE RAT LIVER MASS AFTER EXTENSIVE HEPATECTOMY

A. V. Solin¹, A. Yu. Lyashev¹, Yu. D. Lyashev¹, and Kareem Awad²

¹ Kursk State Medical University, ul. Karla Marksa 3, Kursk, 305041 Russia

² Therapeutic Chemistry Department, National Research Center, El-Buhouth st., Dokki, 12622 Giza, Egypt

The obtained results give evidence of almost complete restoration of the liver mass within 7 days after 70% hepatectomy in rats, which confirms the literature data. The administration of selective agonists of opioid receptors had a stimulatory effect on the liver regeneration after partial hepatectomy. The most pronounced drug effect upon intraperitoneal injections for 5 days beginning with the operation day was observed for the selective agonist of kappa-opioid receptor dynorphin A (1 P-13) at a dose of 20.1 µg/kg and the selective agonist of mu-opioid receptors DAGO at a dose of 6.3 µg/kg, as manifested by the liver regeneration process accelerated by 31.7 and 16.8% ($p < 0.001$), respectively, on the 7th day after the partial hepatectomy. The obtained results open prospects in the search for new stimulators of the liver regeneration on the basis of selective agonists of kappa- and mu-opioid receptors.

Keywords: opioid peptides; hepatectomy; regeneration.