

## НОВЫЙ ПЛЕЙОТРОПНЫЙ ЭФФЕКТ СИМВАСТАТИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТЕАТОГЕПАТИТЕ У КРЫС

С. В. Оковитый<sup>1</sup>, А. В. Аркадьева<sup>2</sup>, Н. Н. Безбородкина<sup>2</sup>, Г. А. Сакута<sup>2</sup>,  
М. Ю. Ярославцев<sup>1</sup>, С. Н. Шуленин<sup>1</sup>, Б. Н. Кудрявцев<sup>2</sup>

Внутрижелудочное введение крысам в течение 4 нед тетрахлорметана (0,2 мл/кг 50 % раствора два раза в неделю) и этилового алкоголя (5 % раствор в качестве питья вместо воды) приводит к развитию у животных воспаления в печени, фиброза и жировой дистрофии органа. Одновременное применение симvastатина (1 мг/кг внутрь ежедневно) при экспериментальном стеатогепатите уменьшает выраженность жировой дистрофии печени без существенного влияния на степень фиброобразования и активность воспалительного процесса в органе. При этом препарат не усиливает повреждение микросомального окисления гепатотоксинами и дает определенный антихолестатический и антицитолитический эффекты.

**Ключевые слова:** симvastатин, печень, стеатогепатит экспериментальный

### ВВЕДЕНИЕ

Жировая дистрофия печени (жировая инфильтрация, стеатоз печени, жировая печень) традиционно рассматривается как относительно доброкачественное текущее заболевание с благоприятным прогнозом. Тем не менее трансформация ее в цирроз встречается в 2 – 3 раза чаще, чем в общей популяции [8].

Данная патология ухудшает прогноз ассоциированных с ней заболеваний, сужает возможности проводимой фармакотерапии и создает потенциальную опасность развития у части пациентов фиброобразования печени и печеночной недостаточности. Это обуславливает важность изыскания новых фармакологических подходов к терапии данного заболевания.

Целью настоящего исследования стала оценка влияния симvastатина на формирование экспериментального стеатогепатита у крыс.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 75 белых крысах-самцах линии Вистар массой 150 – 200 г, разделенных на три группы. В контрольной и опытной группах моделировали гепатопатию, пользуясь методикой [4, 10], позволяющей добиться формирования патологии печени у животных уже через месяц. Для этого крысам на протяжении месяца два раза в неделю внутрижелудочно вводили 50 % раствор тетрахлорметана (ТХМ) в вазелиновом масле в дозе 0,2 мл/кг. Одновременно животным на протяжении всего эксперимента в качестве питья вместо воды давали 5 % раствор этилового спирта. Крысы из опытной группы дополнительно получали

внутрижелудочно симvastатин (MSD) в дозе 1 мг/кг [8] в виде водной суспензии. Для сравнительной оценки эффектов была сформирована группа интактных животных.

На 2-й день после последнего введения тетрахлорметана для оценки степени восстановления функциональной активности печени у крыс проводили стандартную пробу — определяли продолжительность гексеналового сна, отражающую состояние микросомальной системы печени, метаболизирующей ксенобиотики. Гексенал вводили внутрибрюшинно в дозе 80 мг/кг [11].

На следующий день после проведения пробы животных забивали и брали материал для исследования. На автоматическом биохимическом анализаторе Abbot-spectrum (“Abbot laboratories s.a.”, США) определяли в сыворотке крови активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспаратаминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), общего билирубина (ОБил), общего белка (ОБ), альбумина, глобулинов, глюкозы (ГЛ), триглицеридов (ТГ), общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеидов высокой (ХС ЛПВП), низкой (ХС ЛПНП), очень низкой плотности (ХС ЛПОНП) и определяли коэффициент атерогенности (ОХ/ХС ЛПВП).

В ткани печени измеряли содержание общих липидов (ОЛ), холестерина (ХС) и триглицеридов [1, 5].

Гистологические срезы готовили по стандартной методике [3]. Кусочки печени крыс фиксировали в 10 % формалине, заливали в парафиновые блоки, из которых затем на микротоме получали срезы толщиной 5 мкм. Для дальнейшего исследования срезы окрашивали гематоксилин-эозином по Романовскому, микрофуксином по Ван-Гизону, Суданом III [2].

Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с применением пакета прикладных программ Statgraphics, а также с помощью

<sup>1</sup> Кафедра пропедевтики внутренних болезней (начальник — проф. С. Н. Шуленин) Военно-медицинской академии, Санкт-Петербург, 1940044, ул. Лебедева, 6.

<sup>2</sup> Лаборатория клеточной патологии (зав. — проф. Б. Н. Кудрявцев) Института цитологии РАН, Санкт-Петербург, 1940044, пр. Тихорецкий, 4.

непараметрических методов с использованием критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что внутрижелудочное введение в течение месяца ТХМ и этилового алкоголя приводит к формированию патологии печени, основными чертами которой являются воспаление, фиброз и жировая дистрофия органа. Такое быстрое формирование повреждения органа, очевидно, обусловлено усиливающим эффектом алкоголя по отношению к ТХМ.

В ткани печени появились явные признаки воспаления, жировой дистрофии гепатоцитов и фиброза. Дольковая структура органа несколько нарушилась, паренхима оказалась пронизанной беспорядочными тяжами соединительной ткани. Стенки сосудов были утолщены и фиброзированы. В паренхиме печени, особенно вблизи сосудов, наблюдалось большое количество звездчатых ретикулоэндотелиоцитов и лейкоцитарных инфильтратов. Гепатоциты, особенно по ходу соединительнотканых тяжей, были сильно вакуолизированы и содержали большое количество липидных капель. Выявлялась отчетливая тенденция к увеличению содержания в ткани печени ТГ и ХС (таблица).

В то же время выраженного цитологического синдрома не обнаруживали, в отличие, например, от повреждения печени только ТХМ. В сыворотке крови животных контрольной группы произошло умеренное повышение активности АлАТ (в 1,36 раза), отмечалась тенденция к увеличению активности АсАТ (таблица).

Участие печени в пигментном обмене также пострадало незначительно, о чем свидетельствует отно-

сительно небольшое повышение уровня общего билирубина (в 1,13 раза). Однако, при этом нарушалась секреторная функция печени, что сопровождалось развитием холестаза (активность ЩФ возрастала в 1,29 раза) по сравнению с интактной группой.

Не было выявлено значимых изменений со стороны белкового состава крови и практически не изменялся сывороточный уровень глюкозы. Изменения в липидном спектре характеризовались увеличением содержания в сыворотке ТГ (в 2,16 раза) при сопутствующем снижении ХС ЛПОНП, ХС ЛПНП и ХС ЛПВП.

Нарушалась работа системы микросомального окисления печени, метаболизирующей ксенобиотики. Так, продолжительность гексеналового сна в контрольной группе крыс возрастала в 2,01 раза по сравнению с интактными животными.

В паренхиме печени крыс, которые наряду с токсическим воздействием получали симвастилин, жировая дистрофия была выражена значительно слабее, в первую очередь за счет уменьшения содержания в ткани органа ХС и ТГ (таблица). Степень фиброзирования паренхимы и активность воспалительных процессов в ней достоверно не отличались от контрольной группы крыс, не получавших лечения.

Введение животным симвастина позволило достичь тенденции к снижению активности трансаминаз. При этом произошло не очень выраженное, но достоверное падение активности АсАТ (в 1,26 раза) по сравнению с контролем. Одновременно незначительно уменьшилась активность ЩФ (в 1,17 раза) при отсутствии влияния на уровень общего билирубина. Обнаруженное антицитолитическое действие препарата, очевидно, может быть объяснено наличием у него

### Влияние симвастина на некоторые функционально-метаболические показатели печени при стеатогепатите

Показатель	Группа животных (25)		
	Интактные	Контроль	Опыт (симвастилин)
Гексеналовый сон, мин	17,56 ± 1,26	35,26 ± 1,53 <sup>1</sup>	39,75 ± 7,74 <sup>1</sup>
Аланинаминотрансфераза, нмоль/с · л	91,55 ± 5,74	124,18 ± 6,07 <sup>1</sup>	112,97 ± 8,15
Аспаратаминотрансфераза, нмоль/с · л	176,66 ± 8,05	194,15 ± 8,20	153,99 ± 6,07 <sup>2</sup>
Щелочная фосфатаза, нмоль/с · л	274,59 ± 26,72	354,77 ± 24,79 <sup>1</sup>	303,88 ± 12,41 <sup>2</sup>
Общий билирубин, мкмоль/л	2,21 ± 0,23	2,50 ± 0,22	2,43 ± 0,11
Глюкоза, ммоль/л	4,88 ± 0,36	4,75 ± 0,34	4,60 ± 0,37
Общий белок, г/л	65,63 ± 1,45	66,90 ± 1,27	61,02 ± 2,06
Триглицериды, г/л	0,55 ± 0,08	1,19 ± 0,11 <sup>1</sup>	1,10 ± 0,19 <sup>1</sup>
Общий холестерин, ммоль/л	1,53 ± 0,7	1,59 ± 0,07	1,25 ± 0,05 <sup>1, 2</sup>
Холестерин липопротеидов низкой плотности, ммоль/л	0,59 ± 0,05	0,30 ± 0,16	0,31 ± 0,08 <sup>1</sup>
Холестерин липопротеидов очень низкой плотности, ммоль/л	0,64 ± 0,04	0,49 ± 0,04 <sup>1</sup>	0,53 ± 0,06
Холестерин липопротеидов высокой плотности, ммоль/л	1,20 ± 0,07	1,06 ± 0,06	1,00 ± 0,07
Индекс атерогенности	2,24 ± 0,08	2,74 ± 0,32 <sup>1</sup>	2,58 ± 0,24 <sup>1</sup>
Общие липиды в ткани печени, % от массы печени	3,29 ± 0,23	3,23 ± 0,14	3,24 ± 0,21
Холестерин в ткани печени, мг/100 г печени	362,0 ± 53,0	429,0 ± 54,0	281,0 ± 19,0 <sup>2</sup>
Триглицериды в ткани печени, мг/100 мг печени	4,76 ± 0,57	6,45 ± 0,76	4,06 ± 0,21 <sup>2</sup>

**Примечание.** Отличия достоверны ( $p < 0,05$ ) от соответствующего показателя: <sup>1</sup> — интактной группы, <sup>2</sup> — контрольной.

определенного антиоксидантного эффекта, реализуемого путем блокады образования и/или прямой нейтрализации высокоактивных форм и соединений кислорода [9]. Сходный эффект в пилотном клиническом исследовании продемонстрировал аторвастатин, для которого показан антиоксидантный эффект его метаболитов [6].

Как и в контрольной группе, не было выявлено достоверного влияния симвастатина на белковый спектр и концентрацию глюкозы в крови. Значимые изменения были выявлены при определении уровня холестерина в сыворотке: дополнительное введение препарата снизило этот показатель в 1,27 раза по сравнению с контрольной и в 1,22 раза по сравнению с интактной группами животных.

Симвастатин не действовал на продолжительность гексеналового сна. Она оказалась сопоставимой с аналогичным показателем в контрольной группе и в 2,26 раза больше, чем у интактных крыс. Это свидетельствует об отсутствии у препарата усиления повреждающего влияния ТХМ и алкоголя на монооксигеназную систему печени.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что применение симвастатина при экспериментальном стеатогепатите позволяет уменьшить выраженность жировой дистрофии печени без существенного влияния на степень фиброзирование и активность воспалительного процесса в органе. При этом препарат не усиливает повреждения системы микросомального окисления гепатотоксинами и дает определенный антихолестатический и антицитолитический эффекты.

## NEW PROTECTIVE EFFECT OF SIMVASTATIN IN RATS WITH EXPERIMENTAL STEATONHEPATITIS

S. V. Okovityi<sup>1</sup>, A. V. Arkad'eva<sup>2</sup>, N. N. Bezbordkina<sup>2</sup>, G. A. Sakuta<sup>2</sup>, M. Yu. Yaroslavtsev<sup>1</sup>, S. N. Shulenin,<sup>1</sup> and B. N. Kudryavtsev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> St. Petersburg State Military Medical Academy, ul. Lebedeva 6, St. Petersburg, 194044, Russia;

<sup>2</sup> Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, pr. Tikhoretskii 4, St. Petersburg, 194044, Russia

The intragastric introduction of carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) (0.2 ml/kg in 50% oil suspension, twice a week) and ethyl alcohol (5% solution *ad libitum* as the only available drink) in rats over a period of four weeks results in the development of inflammation, fibrosis, and fatty dystrophy in the liver. Such a fast formation of liver damage is obviously caused by potentiating effect of alcohol in combination with CCl<sub>4</sub>. Simultaneous injection of simvastatin (1 mg/kg, intragastrically) in rats with ethanol – CCl<sub>4</sub> hepatitis decreased fatty dystrophy and produced certain anticytolytic and anticholestatic effects without potentiation of microsomal oxidation system damage by hepatotoxins. In addition, simvastatin shows hypolipidemic activity, which is manifested primarily by a decrease in the general cholesterol level in the blood serum.

## ВЫВОДЫ

1. Симвастатин уменьшает выраженность жировой дистрофии печени, не влияя на степень фиброзирование и воспаления, при экспериментальном стеатогепатите у крыс.

2. Препарат обладает определенными антихолестатическим и антицитолитическим эффектами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен)*, М. И. Прохорова (ред.), Изд-во Лен. ун-та, Ленинград (1982).
2. Э. Пирс, *Гистохимия. Теоретическая и прикладная*, Изд-во иностр. лит., Москва (1962).
3. Г. И. Роскин, *Микроскопическая техника*, Советская наука, Москва (1957).
4. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Ремедиум, Москва (2000).
5. *Унификация лабораторных методов исследования. Научные труды*, В. В. Меньшиков (ред.), Москва (1978).
6. E. Gumez-Dominguez, J. P. Gisbert, J. A. Moreno-Monteagudo, et al., *Alim. Pharmacol. Ther.*, **23**(11), 1643 – 1647 (2006).
7. A. J. Sanyal, C. Banas, C. Sargeant, V. A. Luketic, et al., *Hepatology*, **43**(4), 682 – 689 (2006).
8. K. Satoh, T. Nakai, and K. Ichihara, *Eur. J. Pharmacol.*, **270**(4), 365 – 369 (1994).
9. G. Sobal and H. Sinzinger, *Biochem. Pharmacol.*, **70**(8), 1185 – 1191 (2005).
10. O. Strubelt, F. Obermeier, C. P. Siegers, and M. Vopel, *Toxicology*, **10**(3), 261 – 270 (1978).
11. W. C. Verly, *The control of liver growth*, Chalones, New York (1976).

Поступила 22.01.07