

ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ФИТОАДАПТОГЕНОВ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ НА ФОНЕ ИНТЕНСИВНОЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

И. Г. Печенкина, С. В. Козин, Д. В. Буланов

Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, Европейский медицинский центр, Москва

По результатам гистоморфологического исследования печени мышей при подострой интоксикации CCL_4 на фоне интенсивной физической нагрузки женьшень и элеутерококк проявили достоверные гепатопротекторные свойства, сопоставимые с препаратом сравнения — Карсилем.

Ключевые слова: гистоморфология, печень, адаптогены, четыреххлористый углерод, физическая нагрузка, мыши.

HISTOLOGICAL EXAMINATION OF HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF PHYTOADAPTOGENSON CARBON TETRACHLORIDE INDUCED LIVER INJURY IN RATS INVOLVED IN STRENOUS EXERCISE

I. G. Pechenkina, S. V. Kozin, D. V. Bulanov

The findings of histological examination of mice liver in subacute CCL_4 liver injury in mice involved in strenuous exercise revealed reliable hepatoprotective properties of ginseng and eleuterococcus correlating with those of the comparison drug of karsil.

Key words: histological examination, liver, phytoadaptogens, carbon tetrachloride, strenuous exercise, mice.

Последнее время в общей структуре заболева- ний большую долю занимает патология гепатобилиар- ной системы. Одной из наиболее распространенных причин этих заболеваний являются токсические воздей- ствия. К ним относятся лекарственные препараты, ал- коголь, агенты, загрязняющие окружающую среду. Помимо токсических поражений отрицательное влия- ние на печень оказывают также другие неблагоприят- ные факторы, в частности, повышенная физическая нагрузка [1, 5].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

В связи с этим, представляется актуальным про- ведение поиска и разработки гепатопротекторных средств, обладающих высокой безопасностью, низкой токсичностью даже при длительном систематическом применении, возможностью превентивного использова- ния. К таким препаратам относятся препараты раститель- ного происхождения, в частности фитоадаптогены [2, 7].

В рамках исследования защитного действия фи- тоадаптогенов (элеутерококка и женьшеня) при подо- стром поражении печени на фоне интенсивной физи- ческой нагрузки нами была проведена оценка гисто- морфологической картины печени подопытных животных.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проводился на белых беспородных мышах-самцах массой 28—30 г. Было сформировано 5 опытных групп по 12 животных. Для гистоморфологи- ческого исследования методом случайных чисел было

отобрано по 3 животных из каждой группы. Гепатоток- син (в виде 10%-го раствора CCL_4 на оливковом масле) вводили животным внутрижелудочно в дозе 30 мл/кг 2 раза в неделю в течение трех недель (6 введений). Методика подострого поражения печени CCL_4 была разработана нами на основе методики, рекомендо- ванной руководством по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ [4]. Эксперимен- тальные животные опытных групп внутрижелудочно получали деалкоголизированные экстракты элеутеро- кокка и женьшеня в виде водной взвеси в дозах по 2,5 мл/кг и препарат сравнения — карсил в дозе 100 мг/кг ежедневно в течение двух недель перед на- чалом интоксикации, а также в течение последующих трех недель на фоне введения CCL_4 . Интактная группа животных получала внутрижелудочно эквивалентные объемы воды и оливкового масла вместо исследуемых препаратов и токсина соответственно, контрольная груп- па — воду и раствор CCL_4 . На фоне введения препара- тов и токсина экспериментальные животные подверга- лись еженедельному плаванию до полного утомления с грузом 7 % от массы тела животного при температуре воды 28 °C [3].

На 36-е сутки от начала опыта мышей выводили из эксперимента и забирали фрагменты ткани печени для проведения гистоморфологических исследований.

Морфологическое исследование фиксированных забуференным 10%-м формалином фрагментов ткани печени включало в себя микроскопическое исследова- ние серийных срезов толщиной 3 И. Г. 4 мкм, окрашен- ных рутинными методами (гематоксилин-эозин) [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение гистоморфологической картины печени у контрольных животных выявило ряд сильно выраженных изменений общей структуры печени по сравнению с интактом (рис. 1—2). Наблюдаются признаки компенсаторно-приспособительных реакций печени на токсическое воздействие в виде формирования нодулей, участков мелкоузловой перестройки печеночной паренхимы. При этом сохраняются зоны альтерации, которые характеризуются вакуольной дистрофией, изменениями ядер гепатоцитов, увеличением количества купферовских клеток и их гиперплазией. Следует отметить выраженное, но неравномерное полнокровие центральных вен и сосудов триад, полнокровие печеночных синусов с участками заболачивания эритроцитами. Расширение и полнокровие межбалочных капилляров более выражено по сравнению с группой интактных животных. Появляются рассеянные инфильтраты, представленные лимфоцитами и значительным количеством сегментоядерных лейкоцитов. Наблюдается массивный цитолиз, без образования фиброзных изменений стромы.

Таким образом, можно сказать, что у группы мышей, получавших CCL_4 , в печени развивается подострый

субтотальный паренхиматозно-интерстициальный токсический гепатит с частичной узелковой трансформацией.

На гистоморфологической картине печени животных, получавших карсил на фоне введения CCL_4 , отсутствуют многие изменения, наблюдаемые в контрольной группе: общая структура печени сохранена, лишь местами наблюдается некоторая тенденция к микронодулярности ткани печени, значительно менее выражена вакуольная дистрофия, большинство ядер гепатоцитов сохранены, отсутствует изменение количества купферовских клеток, меньше очагов воспалительной инфильтрации (рис. 3).

В результате изучения гистоморфологической картины печени у животных, получавших экстракт элеутерококка в дозе 2,5 мл/кг, были выявлены следующие отличия от контрольной группы: общая структура печени значительно более сохранна, однако, если сравнить с гистоморфологической картиной печени животных, принимавших карсил, вакуольная дистрофия более выраженная. Также сохраняется слабо выраженная тенденция к микронодулярности. Полнокровие центральных вен, сосудов триад и межбалочных капилляров незначительно, расширения межбалочных капилляров не наблюдалось. Ядра имеют минимальные изменения.

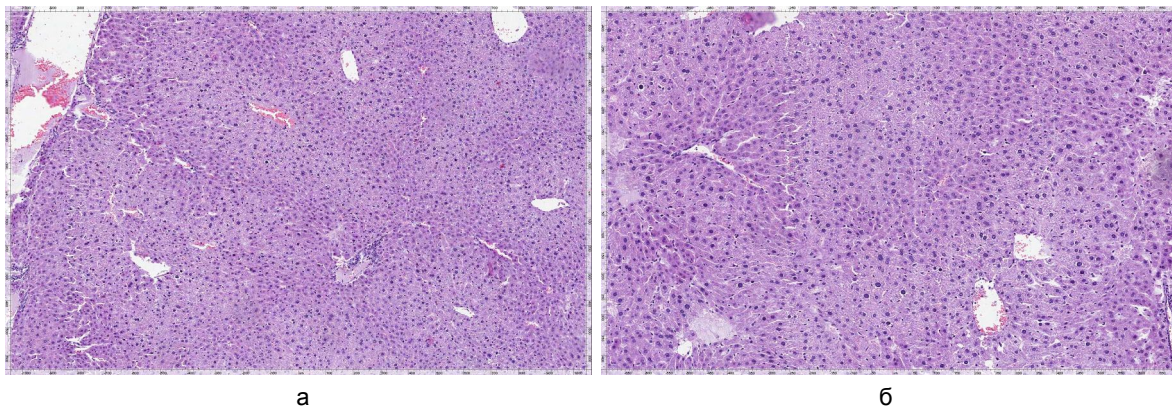


Рис. 1. Гистоморфологическая картина печени интактных животных: а — *увеличение* $\times 200$, б — *увеличение* $\times 400$ (окрашивание гематоксилин-эозином)

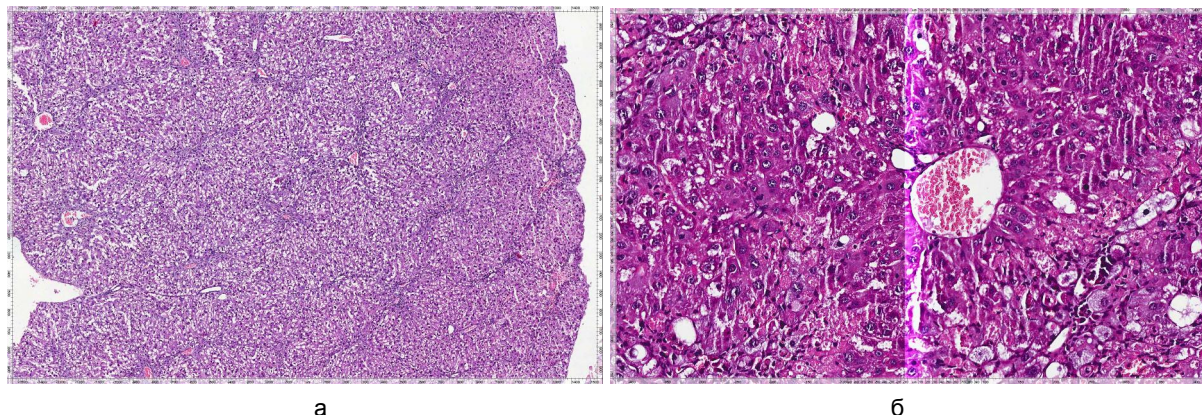


Рис. 2. Гистоморфологическая картина печени животных, получавших CCL_4 на фоне интенсивной физической нагрузки (контрольная группа): а — *увеличение* $\times 200$, б — *увеличение* $\times 400$ (окрашивание гематоксилин-эозином)

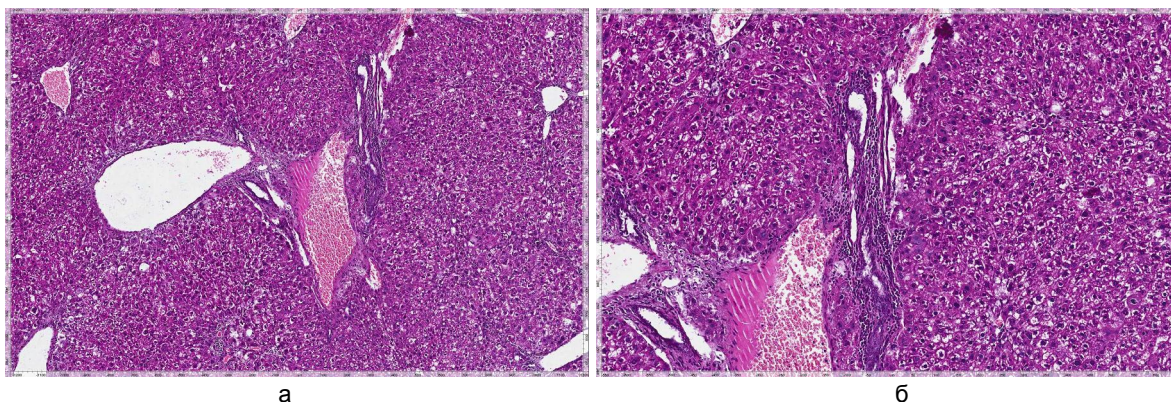


Рис. 3. Гистоморфологическая картина печени животных, получавших карсил (препарат сравнения) на фоне под острой интоксикации CCl_4 в условиях интенсивной физической нагрузки: а — увеличение $\times 200$, б — увеличение $\times 400$ (окрашивание гематоксилин-эозином)

Сохраняется зернистость цитоплазмы гепатоцитов. Вакуолизация микрокапельная, слабо выраженная. Наблюдается умеренная гиперплазия купферовских клеток, и их количество несколько повышено. Воспалительная инфильтрация практически отсутствует (рис. 4).

Сравнение микропрепаратов печени мышей, получавших экстракт женьшеня в дозе 2,5 мл/кг, с микропрепаратами контрольной группы дало следующие результаты: морфологическая структура печени по со-

хранности практически сопоставима с таковой у мышей, получавших препарат сравнения. Однако локально наблюдается более выраженная воспалительная инфильтрация. Отсутствует тенденция к микронодулярности. Центральные вены и сосуды триад умеренно полнокровны. Ядра гепатоцитов практически нормальны. Зернистость цитоплазмы сохранена, наблюдаются небольшие участки с микрокапельной вакуолизацией. Количество купферовских клеток в норме (рис. 5).

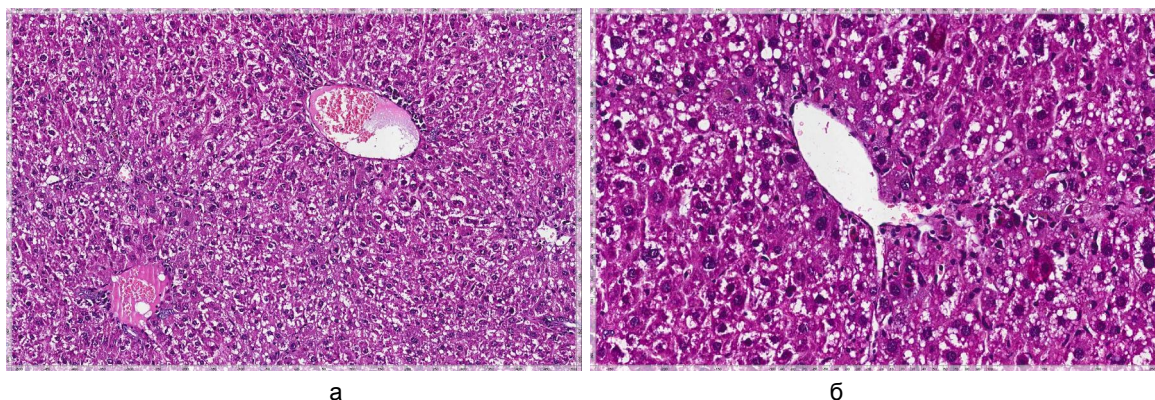


Рис. 4. Гистоморфологическая картина печени животных, получавших препарат элеутерококк на фоне под острой интоксикации CCl_4 в условиях интенсивной физической нагрузки: а — увеличение $\times 200$, б — увеличение $\times 400$ (окрашивание гематоксилин-эозином)

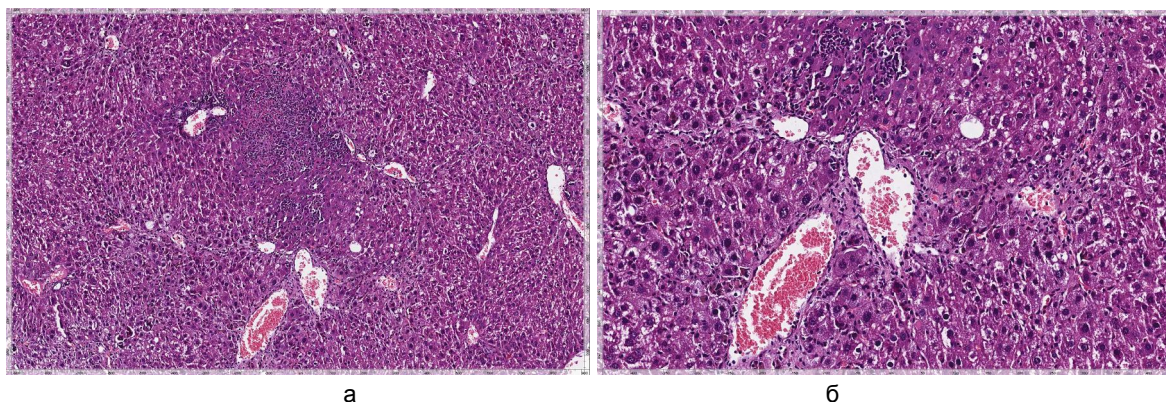


Рис. 5. Гистоморфологическая картина печени животных, получавших препарат женьшень на фоне под острой интоксикации CCl_4 в условиях интенсивной физической нагрузки: а — увеличение $\times 200$, увеличение б — $\times 400$ (окрашивание гематоксилин-эозин)

Для объективной оценки выраженности морфологических признаков печеночной ткани экспериментальных животных была введена балльная шкала (от 0 до 5), по которой оценивались следующие признаки патологии печеночной ткани:

- 1) изменение общей структуры печени;
- 2) полнокровие центральных вен и сосудов триад;
- 3) расширение полнокровия межбалочных капилляров;
- 4) изменение ядер гепатоцитов;
- 5) изменение (вакуолизация) цитоплазмы гепатоцитов;
- 6) изменение количества купферовских клеток;
- 7) воспалительная инфильтрация стромы;

В табл. приведены суммы баллов по семи признакам для каждого исследованного животного всех групп.

Влияние карсила, экстрактов женьшеня, элеутерококка на морфологическую сохранность печени мышей при подостром введении CCL₄ на фоне интенсивной физической нагрузки

Выраженность морфологических изменений печени в балах				
интакт	контроль	карсил	элеутерококк	женьшень
5	18	12	15	7
5	16	9	12	6
5	18	7	8	6
	$p_1 \leq 0,05^*$	$p_1 \leq 0,05^*$	$p_1 \leq 0,05^*$	$p_1 \leq 0,05^*$
			$p_2 \leq 0,05^{**}$	$p_2 \leq 0,05^{**}$

*При сравнении с группой интакт;

**при сравнении с группой контроль;

Достоверность различий результатов балльной оценки морфологических признаков исследуемой печеночной ткани оценивалась с помощью U-критерия Уилкоксона-Манна-Уитни (при $p \leq 0,05$).

Как видно из данных, представленных в табл., лечебно-профилактическое применение элеутерококка и женьшеня в значительной мере снижает выраженность CCL₄-индуцированных изменений в печени мышей, под-

вергавшихся физической нагрузке. Интересно, что по своему гепатопротекторному действию женьшень проявил эффект, сопоставимый с таковым у карсила.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что изучаемые препараты элеутерококка и женьшеня показали достоверные гепатопротекторные свойства в эксперименте на мышах при подостром поражении CCL₄ при интенсивной физической нагрузке. Об этом свидетельствуют результаты гистоморфологического исследования печени подопытных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болдогуев В. М. Адаптогенное действие растительного средства «Адаптофит-28»: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Улан-Удэ, 2011. — 22 с.
2. Корсун В. Ф., Николаев С. М., Даргаева Т. Д. и др. Лекарственные растения в гепатологии / Под ред. В.Ф. Корсуна. — М.: Русский врач, 2005. — 274 с.
3. Крендаль Ф. П., Козин С. В., Левина Л. В. Сравнительная характеристика препаратов из группы фитоадаптогенов — женьшеня, элеутерококка и родиолы розовой / Под ред. С. В. Грачева. — М.: ПРОФИЛЬ, 2007. — 392 с.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. член.-корр. РАМН, проф. Р. У. Хабриева. — 2-изд., перераб. и доп. — М.: ОАО «Изд. «Медицина», 2005. — 832 с.
5. Huang S.-C., Lee F.-T., Kuo T.-Y., et al. // Chinese Journal of Physiology. — 2009. — Vol. 52 (5). — P. 316—324.
6. Maynard R., Downes N., Finney B. Histological Techniques. An Introduction for Beginners in Toxicology. — Royal Society of Chemistry Books, 2014. — 200 p.
7. Shim Ji-Y., Kim Mi-H., Kim H.-D., et al. // Toxicology and Applied Pharmacology. — 2009. — Nov. — Vol. 242. — P. 318—325.

Контактная информация

Печенкина Ирина Геннадьевна — аспирант лаборатории биологически активных соединений НИИ Фармации ГБОУ ВПО Первого МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, e-mail: pechen29@yandex.ru