

УДК: 615.244:615.322:616.36-002:663.252.1  
 © Файзуллін О.В., 2013

## ГІСТОМОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЛІКУВАЛЬНОЇ ДІЇ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ВИНОГРАДУ КУЛЬТУРНОГО В УМОВАХ ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ, ВІКЛИКАНОГО ТЕТРАХЛОРЕТАНОМ

Файзуллін О.В.

Національний фармацевтичний університет

**Вступ.** Захворювання печінки, як інфекційного, так й неінфекційного походження складають одну з найгостріших та досі не вирішених медико-соціальних проблем [4-7], тому пошук і розробка нових методів та засобів їх лікування, в тому числі медикаментозних, є одним з пріоритетних завдань сучасної медицини.

Враховуючи, обмежені можливості застосування етіотропної терапії в лікуванні уражень печінки (особливо токсичних), очевидною стає роль засобів неспецифічної патогенетичної терапії, головним інструментом якої є гепатопротектори – препарати, що чинять спрямований вплив на гепатоцити.

**Метою** нашої роботи стало вивчення впливу густого екстракту з листя Винограду культурного на динаміку гістоморфологічних показників печінки щурів в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту.

**Матеріали та методи дослідження.** Гострий тетрахлорметановий гепатит у нелінійних статевозрілих щурів-самців масою 220 – 260 г викликали одноразовим внутрішньошлунковим введенням 50% олійного розчину тетрахлорметану у дозі 10 мл/кг маси тіла тварин. Досліджувану субстанцію вводили внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг. В якості референс-препарату використовували силібор в дозі 25 мг/кг, який вводили за такою ж схемою. Через 24 години після введення тетрахлорметану тварин виводили з експерименту шляхом декапітації та проводили екстирацію печінки [1].

Зразки печінки фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, укладали в целоїдин. Мікромомовані зрізи товщиною 3-4 мкм фарбували кислим гемалауном Майєра та еозином [2]. На зрізах печінки (окуляр 10, об'єктив 50) у 5-ти поверхнях з осягненням перивазальних, перипортальних, та проміжних відділів часточки на стандартній площі окулярмікрометричної сітки підраховували (на 1000 гепатоцитів) кількість двоядерних клітин, клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК, клітин, що знаходяться у стадії мітозу, кількість дегенерованих клітин. Проводили напівкількісну оцінку інтенсивності патологічного процесу (стеатозу, деструктивних проявів, збереження гістоархітектоніки перенхіми) за 5-ти бальною системою, відповідно до якої: 1 бал – слабкі зміни; 2 бали – середні зміни; 3 бали – виразні зміни та 4 бали – зміни дуже виражені. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою методів непараметричної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента, критерію Вілкоксона-Манн-Уїтній Розрахунки проводили за допомогою стандартного пакету програм «Statistica 6.0» [3]. Мікроскопічне вивчення мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400. Мікрофотографування зображень здійснювали за допомогою цифрового фотоапарату Nikon Col Pix 4500. Фотознімки обробляли на

комп'ютері Pentium 4GH за допомогою програми Nikon View 5.

**Обговорення результатів.** Оглядова мікроскопія печінки щурів з групи інтактного контролю показала, що гістоморфологічна будова печінки щурів з групи інтактного контролю відповідала нормі (рис. 1А, табл. 1).

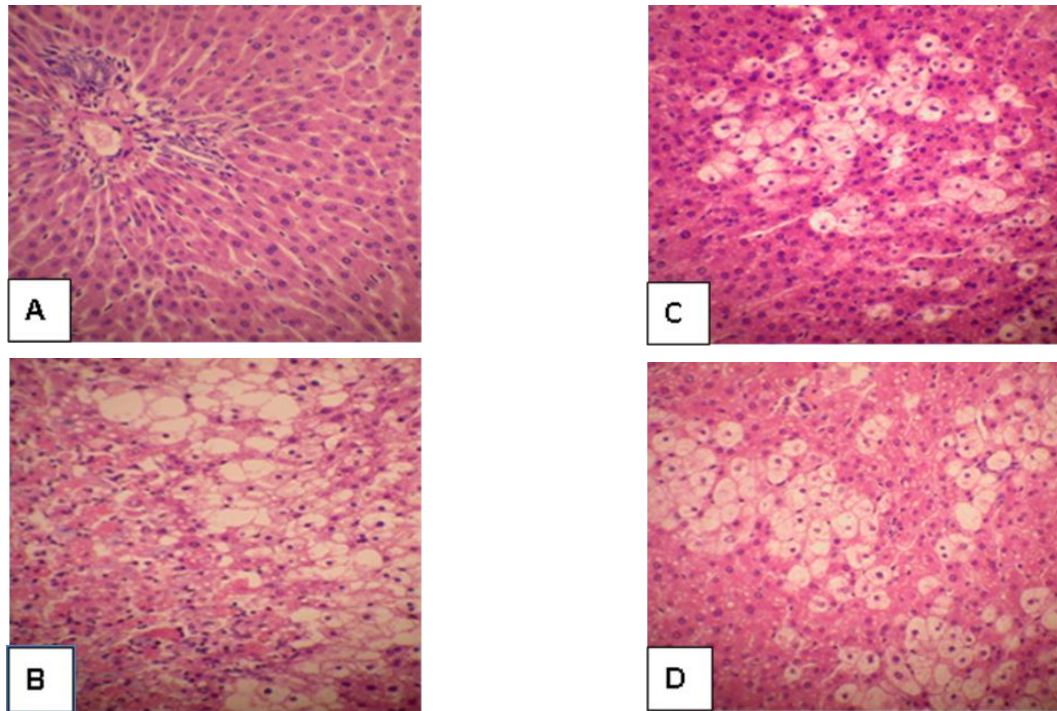
Одноразове внутрішньошлункове введення тетрахлорметану призвело до розвитку грубих порушень структури печінкової паренхіми у тварин, що не отримували лікування. Переважно були уражені перипортальні та централобулярні зони часточок, де сформувалися різні за розмірами ділянки некрозу з наявністю ядерно-цитоплазматичного детриту. Було виявлено великокрапельний стеатоз, що переходив у жирову дегенерацію клітин. Деструктивні ділянки паренхіми були помірно інфільтровані полінуклеарними лейкоцитами та круглоклітинними елементами (рис. 1Б).

В зонах деструкції спостерігали діapedезні крововиливи, плазмодіapedез. На відносно збережених ділянках печінкових часточок печінкова тканина також зазнавала деяких змін: гепатоцити були набухлі, межі клітин розмиті, радіальна спрямованість тяжів гепатоцитів не завжди чітка. У цитоплазмі виявлялися дрібні та середні вакуолі, зникла ізоморфність клітин. Частина клітин мстила лізовані або пікноморфні ядра.

Сумарна кількість балів, що характеризують рівень деструктивних процесів у печінці щурів групи контрольної патології, становила 6,2. Зони часточок, що зберегли оригінальну гістоархітектоніку паренхіми, зменшувалися на 60% (табл. 2). Дифузно по часточках зростала кількість клітин з регресивними змінами ядра та цитоплазми – у 6,83 рази відносно інтактного контролю.

Компенсаторні регенераційні процеси у тканині були виражені слабо. На тлі виразного (достовірною) зниження кількості двоядерних клітин спостерігалася тенденція до збільшення кількості клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК, з'являлися гепатоцити, що знаходяться у стадії мітозу (табл. 1).

Лікувально-профілактичне введення густого екстракту з листя Винограду культурного поліпшувало стан печінкової паренхіми тварин. В першу чергу це стосувалося деструктивних проявів, збереження гістоархітектоніки тканини. На відміну від тварин з групи контрольної патології, практично у всіх тварин даної групи некроз охоплював лише окремі групи гепатоцитів. Значні ділянки паренхіми зберігали характерний рисунок. Сумарна кількість балів, що характеризують рівень деструкції печінкової паренхіми, у тварин, які на тлі гострого тетрахлорметанового гепатиту отримували густий екстракт з листя Винограду культурного, складала 4 бали, що у 1,55 рази нижче у порівнянні з тваринами групи контрольної патології.



**Рис 1.** А. Печінка інтактного щура. Б. Печінка щура, через добу після введення тетрахлорметану. В. Печінка щура, якому на тлі гострого тетрахлорметанового гепатиту вводили густий екстракт з листя Винограду культурного в дозі 100мг/кг. Г. Печінка щура, якому на тлі гострого тетрахлорметанового гепатиту вводили силібор в дозі 25 мг/кг. (Гематоксилін та еозин. x 250).

**Таблиця 1.** Вплив густого екстракту з листя Винограду культурного на гістоморфологічні показники печінки щурів в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту у порівнянні з силібором (n=6).

Показники (на 1000 клітин)	Експериментальна група			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Екстракт з листя винограду, 100мг/кг	Силібор, 25мг/кг
Кількість двоядерних клітин	33,74±1,09	12,96±1,07*	31,46±4,78**	25,86±1,33 **
Кількість клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК	9,37±1,86	12,98 ±0,92	18,93 ±2,88**	16,42± 0,68**
Кількість деструктивних клітин	8,67 ±1,44	59,23 ±4,55*	34,00 ±4,69* /**	32,85 ±2,94* /**
Кількість клітини у стадії мітозу	Не виявлено	1,24 ±0,46*	1,41± 0,68*	0,83± 0,45*

**Примітка:** \* - достовірно відносно інтактного контролю; \*\* - достовірно відносно контрольної патології; n- кількість тварин у кожній групі.

**Таблиця 2.** Напівкількісна оцінка структурних порушень у печінці щурів різних експериментальних груп (n=6).

Група тварин	Показники, бали		
	Виразність жирової дистрофії	Інтенсивність деструкції в перипортальних та центролобулярних зонах часточок	Збереження гістоархітектури паренхіми
Інтактний контроль	0	0	4
Контрольна патологія	3,4* (2-4)	2,8* (1-4)	1,6* (1-2)
Екстракт з листя винограду, 100мг/кг	2,5* (2-3)	1,5**/ (1-2)	2,75**/ (2-3)
Силібор, 25мг/кг	2,6**/ (2-3)	1,2**/ (1-2)	2,4**/ (2-3)

**Примітка:** \* - достовірно відносно інтактного контролю; \*\* - достовірно відносно контрольної патології; n- кількість тварин у кожній групі.

Ділянки часточок зі збереженою паренхімою збільшилися на 71,87% порівняно із контрольною патологією (табл. 2). Кількісний рівень клітин з регресивними змінами достовірно зменшувався у порівнянні з тваринами групи контрольної патології у 1,74 рази, хоча й перевищував цей показник у інтактних тварин у 3,9 рази (табл. 1).

В меншому ступні густий екстракт з листя Винограду культурного впливав на виразність жирової дистрофії, зменшуючи її рівень на 26,47%. В

той же час, характерні зони її локалізації були зменшені порівняно з контрольною патологією, або жирова дистрофія мала дифузний характер. Самі клітини, хоча й були дещо набухлими, але мали чіткі межі, та були достатньо ізоморфні, а вакуолі у більшості були дрібними та середніми за розмірами й не порушували цілісності клітин (рис. 1В).

Під впливом густого екстракту з листя Винограду культурного також значно інтенсифікувалися процеси внутрішньоклітинної регенерації: достові-

рно збільшувалася кількість двоядерних клітин (у 2,42 рази), клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК порівняно з контрольною патологією – на 45,83% (табл. 1).

Аналогічне за схемою введення силібору також позначилося позитивною динамікою морфологічних показників стану печінки щурів. У більшості тварин помітно зменшені зони деструкції перипортально та централобулярно, збільшені ділянки часточок, що зберегли оригінальну гістоархітектоніку тканини, багато гепатоцитів були морфологічно повноцінними. Сумарна кількість балів, що відображають інтенсивність дистрофічно-дистрофічних порушень в печінці, у щурів цієї групи зменшилося в 1,63 рази, зони часточок зі збереженою гістоархітектонікою збільшилися на 50,0% порівняно з контрольною патологією (табл. 2). Однак, жирова дистрофія була ще достатньо виразною. Мали місце мікрокісти (рис. 1В).

Кількість клітин з регресивними змінами ядра та цитоплазми була зменшена практично до рівня тва-

рин, що їм вводили густий екстракт з листя Винограду культурного – у 1,8 рази. Однак силібор поступався досліджуваному екстракту за впливом на процеси регенерації печінкової тканини. Виявлено певне збільшення кількості двоядерних клітин як дистанційно, так і в безпосередній близькості від уражених ділянок (1,99 рази); а також клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК (на 26,5%) (табл. 1, 2).

**Висновок:** Таким чином, на підставі даних гістоморфологічного дослідження зразків печінки можна зробити висновок, що густий екстракт з листя Винограду культурного в дозі 100 мг/кг на моделі гострого токсичного ураження печінки у щурів, спричиненого тетрахлорметаном, чинив гепатопротекторну дію, виявляючи антинекротичний, антидистрофічний та репаративний ефекти.

Було також встановлено, що застосування густого екстракту з листя Винограду культурного виявилось виразнішою стимуляцією регенераторних процесів у печінковій паренхімі у порівнянні з силібором.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України **О.В. Стефанова** – К.: Авіцена. – 2001. – 528с.
2. **Меркулов Г.А.** Курс патологистологической техники. – М.: Медицина, Ленингр. отд.-ние, 1969. – 424с.
3. **Реброва О.Ю.** Статистический анализ медицинских данных: Применение прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: Сфера, 2006. – 305 с.
4. Изменение этиологических факторов циррозов печени у стационарных больных (1992–2005 гг.): алкогольный цирроз выходит на первое место по числу больных и высокой летальности / **Хазанов А.И., Васильев А.П.,**

**Пехташев С.Г. и др.** // Клини. гепатология. – 2006. – № 2. – С. 11–16.

5. **Esteban J.I.** The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe / Esteban J.I., Saulea S., Quer J. // J. Hepatol.— 2008.— Vol. 48.— P. 148—162.

6. **Shepard C.W.** Global epidemiology of hepatitis C virus infection / Shepard C.W., Finelli L., Alter M.J. // Lancet. Infect. Dis.— 2005.— Vol. 5.— P. 558—567.

7. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes / **Simmonds P., Bukh J., Combet C. et al.** // Hepatology.— 2005.— Vol. 42.— P. 962—973.

**Файзуллин О.В.** Гістоморфологічна оцінка лікувальної дії густого екстракту з листя винограду культурного в умовах гострого токсичного ураження печінки у щурів, викликаного тетрахлоретаном // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 2. – С. 148-150.

На моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту було показано, що застосування густого екстракту з листя Винограду культурного в лікувально-профілактичному режимі зменшувало виразність некротичних і дистрофічних процесів у печінці: зменшувалася кількість клітин з регресивними змінами, знижувався ступінь жирової дистрофії і деструкції печінкової паренхіми, збільшувалися ділянки часточок із збереженою паренхімою. Силібор тією ж мірою сприяв обмеженню некротичних і дистрофічних змін у печінковій паренхімі, зменшуючи кількість клітин з регресивними змінами та збільшуючи зони часточок зі збереженою архітектонікою, однак поступався досліджуваному екстракту за впливом на процеси регенерації печінкової тканини. Було показано, що густий екстракт з листя Винограду культурного більшою мірою ніж силібор сприяв збільшенню кількості двоядерних клітин та клітин, які перебувають у фазі синтезу ДНК.

**Ключові слова:** гепатит, Силібор, печінка.

**Файзуллин А.В.** Гистоморфологическая оценка лечебного действия густого экстракта из листьев винограда культурного в условиях острого токсического поражения печени у крыс, вызванного тетрахлорметаном // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 2. – С. 148-150.

На моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту було показано, що застосування густого екстракту з листя Винограду культурного в лікувально-профілактичному режимі зменшувало виразність некротичних і дистрофічних процесів у печінці: зменшувалася кількість клітин з регресивними змінами, знижувався ступінь жирової дистрофії і деструкції печінкової паренхіми, збільшувалися ділянки часточок із збереженою паренхімою. Силібор тією ж мірою сприяв обмеженню некротичних і дистрофічних змін у печінковій паренхімі, зменшуючи кількість клітин з регресивними змінами та збільшуючи зони часточок зі збереженою архітектонікою, однак поступався досліджуваному екстракту за впливом на процеси регенерації печінкової тканини. Було показано, що густий екстракт з листя Винограду культурного більшою мірою ніж силібор сприяв збільшенню кількості двоядерних клітин та клітин, які перебувають у фазі синтезу ДНК.

**Ключевые слова:** гепатит, Силібор, печеня.

**Faizullin A.V.** Histomorphological evaluation of the therapeutic action of spissum extract of vitis vinifera leaves, under acute hepatitis, caused by carbon tetrachloride // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 2. – С. 148-150.

Under acute hepatitis, caused by carbon tetrachloride, it was found that the use of the thick extract of Grape leaf reduced the severity of necrotic and dystrophic processes in the liver that was manifested by decrease in the number of cells with regressive changes, by decrease the degree of fatty degeneration and destruction of the hepatic parenchyma, by increase areas of lobules with saved parenchyma. Silibor in the same extent contributed to the restriction of necrotic and dystrophic changes in the hepatic parenchyma, reducing the number of cells with regressive changes and increasing zone of lobules with native architectonics. However, silibor yielded to the influence on the processes of regeneration of the liver tissue. It has been shown that a thick extract of Grape leaf more than silibor increased the number of binucleate cells and cells in the DNA synthesis phase.

**Key words:** hepatitis, Siliborum, liver.

Надійшла 15.11.2013 р.  
Рецензент: проф. Л.В.Савченкова