

ВПЛИВ КОРЕКТОРА БІЛКОВОГО ОБМІНУ ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ НА ГІСТОСТРУКТУРУ ТА ФУНКЦІЇ ОРГАНІВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ЗДОРОВИХ ЩУРІВ

Р.Ф.Єрмоєнко

Національний фармацевтичний університет (Харків)

Вступ

Відомо, що імунітет - це універсальна здатність живих істот протистояти дії пошкоджувальних агентів, зберігаючи свою цілісність і біологічну індивідуальність. Це захисна реакція, завдяки якій організм стає несприйнятливим до хвороботворних мікроорганізмів (вірусів, бактерій, грибків, найпростіших, гельмінтів) і продуктів їх життєдіяльності, а також тканин і речовин (наприклад, отрут рослинного і тваринного походження), які мають антигенні властивості. В ефективному функціонуванні імунної системи беруть участь такі органи, як тимус, селезінка, лімфоїдні органи та печінка [6]. Тимус належить до центральних залоз імунного захисту, кровотворення, в якому відбувається диференціація Т-лімфоцитів, які проникли сюди з током крові з кісткового мозку. Тут виробляються регуляторні пептиди (тимозин, тимулін, тимопоетин), які забезпечують розмноження і дозрівання Т-лімфоцитів у центральних і периферійних органах кровотворення. В селезінці відбувається розмноження і антигензалежна диференціація лімфоцитів та утворення антитіл [6]. В печінці відбувається синтез специфічних білків глобулінів. Глобуліни - гетерогенна фракція білків крові, яка серед інших містить β-глобуліни, що беруть участь в імунних реакціях як антитоксини та γ-глобуліни: фракція імуноглобулінів IgA, IgG, IgE, IgM, що виконують функцію антитіл, основних ефektorів гуморального імунітету [8].

Об'єкт наших досліджень - коректор білкового обміну екстракт з трави люцерни посівної (ЕТЛП), який за наявності в

своєму складі білків, 17 амінокислот, у тому числі 8 незамінних, 8 ферментів, що розчіплюють білки та сприяють їх засвоєнню, які можуть безпосередньо впливати на білоксинтетичні процеси в організмі та тощо, може використовуватись для профілактики гіпопротеїнемії у відносно здорових людей, тому доцільно було дослідити вплив нового препарату в порівнянні з використанням в Україні імуностимулятором рослинного походження "Ехінацея-ратіофарм" на функціональний стан таких органів імунної системи, як тимус, селезінку та печінку [3,7].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана у рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету "Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці" (№ держреєстрації 0103U000478).

Мета роботи. Гістологічне дослідження морфоструктури та функції імунокомпетентних органів тимусу, селезінки та печінки здорових щурів під впливом коректора білкового обміну ЕТЛП в порівнянні з широко використованим в медицині імуностимулюючим препаратом рослинного походження - таблетками "Ехінацея-ратіофарм" (ФФ TEVA, Ізраїль).

Матеріали та методи дослідження

Для проведення гістоморфологічного дослідження імунокомпетентних органів тимусу, селезінки та печінки здорових тварин використовували 24 білих статевозрілих безпородних щура, яких були рандомізовано таким чином:

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Кількість тварин
Інтактний контроль (ІК)	-	8
ЕТЛП	25 мг/кг	8
«Ехінацея-ратіофарм»	36 мг/кг	8

Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію ЦНДЛ НФаУ, відповідно до встановлених норм [1,2]. Дослідження проведені з дотриманням гуманного поводження з тваринами у відповідності до правил "Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують в експерименті та інших наукових цілях" (м. Стразбург, 1986) [1].

Як референс-препарат обрано таблетки "Ехінацея-ратіофарм" (ФФ TEVA, Ізраїль), який є дозволим в Україні засобом рослинного походження та застосовується у клініці як імуномодулятор та імуностимулятор. Доза препарату "Ехінацея-ратіофарм" - 36 мг/кг - визначена в процесі перерахунку з добової дози для людини на добову дозу для щура за методом Риболовлева Ю.П. [5].

Після рандомізації тваринам внутрішньошлунково вводили ЕТЛП в дозах 25 мг/кг й препарат порівняння "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг протягом двох тижнів. Групі інтактного контролю в цей період внутрішньошлунково вводили еквівалентну кількість розчинника. Через 2 тижні тварин виводили з експерименту за допомогою наркотизації етаміналом натрію. Витягали тимус, селезінку та печінку і брали зразки тканини для виготовлення зрізів для мікроскопії. Гістологічні дослідження проводилися на базі ЦНДЛ НФаУ к.б.н. Лар'яновською Ю.Б. Зразки органів щурів всіх груп готували для подальшого світлооптичного дослідження за прийнятими у морфології методами. Мікротомовані зрізи товщиною 3-4 мкм фарбували гематоксиліном та еозином [4]. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nikon Vw 5.

Отримані результати та їх обговорення

Отримані результати дослідження, надані на рисунках 1-3, дозволили встановити, що при превентивному введенні здоровим щурам ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та референс-препарат "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг проявляють імуностимулюючу дію (рис. 1-3).

В процесі оглядової мікроскопії встановлено, що тимус тварин групи ІК характеризувався чіткою часточковою будовою (рис. 1). Часточки крупні, міжчасточкова сполучна тканина розвинута слабо. У часточках відмічали чіткий розподіл залозистої тканини на кору та мозкову речовину за виразною різницею у щільності клітинних елементів. Щільність розташування лімфоцитів та розмір часточок не змінюється. Об'єм кори значно перевищував об'єм медули. У кірковій речовині деяких щурів помічено помірний малюнок "зоряного неба" - дрібні крапки просвітлення внаслідок налипання лімфоцитів на мак-

рофаги - відповідь на якийсь антигенний вплив. У мозковій речовині спостерігали нечисленні, дрібні тимічні тільця та епітеліоретикулоцити - великі клітини з світлим ядром.

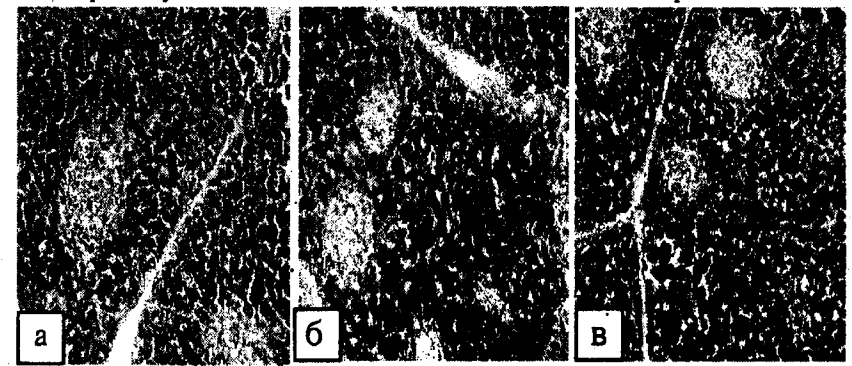


Рис. 1. Тимус щурів: а - групи ІК, під впливом: б - ЕТЛП і в - препарату "Ехінацея-ратіофарм". У часточках видно чіткий розподіл на кору та медулу (а-в). Більш помітний малюнок "зоряного неба" у кірковій речовині (б-в). Гематоксилін-еозин. x100.

Превентивне протягом 2-х тижнів введення щурам ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та препарату "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг викликало активацію імунної відповіді та помірне підвищення імунного статусу, на що вказує більш помітний в порівнянні з групою ІК малюнок "зоряного неба" у кірковій речовині (рис. 1).

В процесі мікроскопічного дослідження зрізів селезінки дослідних щурів встановлено, що в селезінці щурів групи ІК капсула, що вкривала орган, нормальної товщини, трабекулярна система виражена слабо (рис. 2). Біла пульпа представлена численними клітинними структурами округлої, овальної, витягнутої форми (лімфатичні вузлики) та лімфатичними муфтами артерій та артеріол, що йдуть до лімфатичного вузлика. Вузлики переважно середніх розмірів. Центральні артерії у вузликах розміщені ексцентрично, стінки їх не змінені, просвіт вільний, помірний. Навколо центральної артерії розташована Т-зона вузлика. Вона достатньо щільна, містить дрібні клітини з дуже обмеженою потужно базофільною цитоплазмою (Т-лімфоцити). Периартеріальну Т-зону оточує невиразна, вузь-

ка мантийна зона, яка переходить безпосередньо у широку маргінальну зону (В-залежні) зони. Герминативний центр вузликів видно не у всіх тварин. Межа між білою та червоною пульпою чітка. У червоній пульпі видно різні ядерні клітинні форми, численні еритроцити (рис. 2).

В селезінці шурів, яким протягом 2-х тижнів вводили ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та препарат порівняння "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг, окрім сформованих вузликів, в яких подані всі облігатні зони, простежено появу певної кількості дрібних фолікулів, в яких визначається лише периартеріальна Т-зона. У сформованих лімфатичних вузликах зберігалася однорідна будова, частина з них дещо збільшена у розмірі. Під впливом ЕТЛП та препарату порівняння "Ехінацея-ратіофарм" зорозово спостерігали помірне збільшення кількості лімфатичних вузликів (рис. 2).

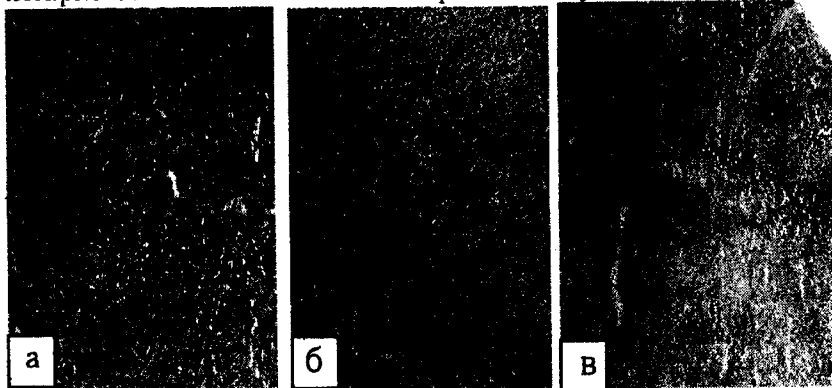


Рис. 2. Селезінка шурів: а - ІК (нормальний стан вузликів та червоної пульпи), під впливом: б - ЕТЛП та в - препарату "Ехінацея-ратіофарм" (незмінна структура та деяке збільшення кількості лімфатичних вузликів). Гематоксилін-еозин. х100.

Означена картина змін в селезінці дослідних тварин свідчить про те, що ЕТЛП та препарат порівняння "Ехінацея-ратіофарм" при введенні в дозі 25 мг/кг здоровим шурам підвищують їх імунологічну реактивність та здатність до стимулювання імунної системи (рис.2).

Аналіз результатів оглядової мікроскопії печінки дослідних шурів дозволив установити відсутність патологічних змін в її

структурі (рис.3). Печінка тварин всіх груп мала типовий для шурів вигляд. Часточковий малюнок тканини невиразний, межі часточок визначалися за тріадою (портальним трактом). Трабекулярна будова печінки не змінена. Гепатоцити за розміром, формою, потужністю фарбування цитоплазми, станом ядра відповідали нормі. Ніякі включення, що видні у цитоплазмі на світлооптичному рівні, не визначалися. Внутрішньочасточкові синусоїдальні капіляри помірно розширені, вільні від еритроцитів. Стан зірчастих ретикулоендотеліоцитів без особливостей (рис. 3).

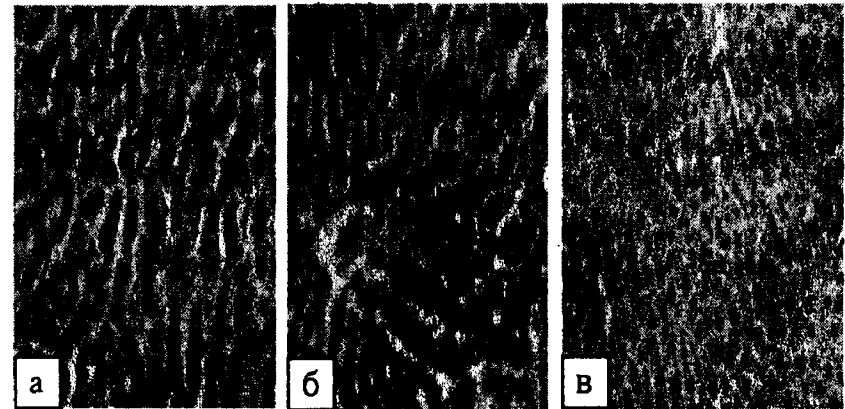


Рис. 3. Печінка шурів: а - ІК, під впливом: б - ЕТЛП, в - препарату "Ехінацея-ратіофарм". Відсутність змін у структурній організації печінкової паренхіми. Гематоксилін-еозин. х150.

Висновки

1. Встановлено, що двотижневе введення ЕТЛП в дозі 25 мг/кг та препарату порівняння "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг приводить до стимулювання діяльності центрального органу імуногенезу - тимусу, що свідчить про їх імуностимулюючу дію.

2. Встановлено стимулюючий вплив двотижневого введення ЕТЛП в дозі 25 мг/кг та препарату порівняння "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг на морфоструктуру периферичного органу імуногенезу - селезінку.

3. Двотижневе введення ЕТЛП в дозі 25 мг/кг та препарату порівняння "Ехінацея-ратіофарм" в дозі 36 мг/кг не змінює

морфоструктуру печінки, отже візуально не чинить значного впливу на гуморальну ланку імунітету.

4. Встановлено, що ЕТЛП в дозі 25 мг/кг на рівні препарату порівняння імуностимулятора "Ехінацея-ратиофарм" в дозі 36 мг/кг підвищує імунологічну резистентність організму здорових тварин та проявляє помірну імуностимулюючу дію, що є підставою для подальших досліджень з метою вивчення терапевтичної ефективності коректора білкового обміну ЕТЛП в умовах імунодефіциту у щурів.

Література

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - Київ: Авіцена, 2001. - 528 с.
2. Западнюк М.П. Лабораторные животные. Использование в эксперименте / М.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. - Київ: Вышш. шк., 1983. - 382 с.
3. Ковальов С.В. Дослідження фенольного комплексу із трави люцерни посівної / С.В. Ковальов, А.М. Ковальова, Р.Ф. Єрьоменко, Л.М. Малоштан, В.М. Ковальов // Фармацевтичний часопис. - 2008. - № 2(6). - С. 27 - 30.
4. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. - М.: Медицина, Ленингр. Отд-ние, 1969. - 424 с.
5. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. - 1979. - Т. 247, № 6. - С. 1513-1516.
6. Хаитов Р.М. Иммунология / Р.М. Хаитов, Г.Л. Игнатьева, И.Г. Сидорович. - М.: Медицина, 2000. - 432 с.
7. Briggs C. Alfalfa / C. Briggs // Canadian Pharm J. - 1994. - V.84, № 5. - P.115-120.
8. Cooper M. A. The biology of human natural killer-cell subsets / M. A. Cooper, T. A. Fehniger, M. A. Caligiuri // Trends Immunol. - 2001. - Vol. 22. - P. 633-640.

Резюме

Єрьоменко Р.Ф. Вплив коректора білкового обміну екстракту з трави люцерни посівної на гістоструктуру та функції органів імунної системи здорових щурів.

За результатами проведених гістологічних досліджень встановлено, що ЕТЛП в дозі 25 мг/кг на рівні препарату порівняння імуностимулятора "Ехінацея-ратиофарм" в дозі 36 мг/кг стимулює функціонування органів імуногенезу тимусу (центрального) та селезінки (периферичного), підвищуючи імунологічну резистентність організму здорових тварин та проявляючи помірну імуностимулюючу дію.

Ключові слова: імунітет, тимус, селезінка, печінка, гістоструктура, екстракт люцерни, "Ехінацея-ратиофарм", здорові щури.

Резюме

Єрьоменко Р.Ф. Влияние корректора белкового обмена экстракта с травы люцерны посевной на гистоструктуру и функции органов иммунной системы здоровых крыс.

В результате проведенных гистологических исследований установлено, что ЭТЛП в дозе 25 мг/кг на уровне препарата сравнения иммуностимулятора "Эхинацея-ратиофарм" в дозе 36 мг/кг стимулирует функционирование органов иммуногенеза тимуса (центрального) и селезенки (периферического), повышая иммунологическую резистентность организма здоровых крыс и проявляя иммуностимулирующее действие.

Ключевые слова: иммунитет, тимус, селезенка, печень, гистоструктура, экстракт люцерны, "Эхинацея-ратиофарм", здоровые крысы.

Summary

Eremenko R.F. Influence of the corrector of protein metabolism of extract *Medicago sativa* sowing grass on histological structure and functions of organs of the immune system of healthy rats.

As a result of the conducted histological researches it was set up, that EMSG in dose of 25 mg per kg at the level of preparation of comparison of immunostimulation of "Echinacea-ratiopfarm" in dose 36 mg per kg are stimulated by functioning of organs of immunogenesis of thymus (central) and spleen (peripheral), promoting immunological resistance of organism of healthy rats and showing of immunostimulation action.

Key words: immunity, thymus, spleen, liver, histological structure, the extract *Medicago sativa* sowing grass, "Echinacea-ratiopfarm", healthy rats.

Рецензент: д.біол.н., проф. С.М. Смірнов