

УДК: 615.451.16:615.32:615.076.9:612.015.3:612.35

Р.Ф. ЄРЬОМЕНКО

*Національний фармацевтичний університет*

## ГІСТОМОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СТРУКТУРИ ТА ФУНКЦІЇ ПЕЧІНКИ ЗДОРОВИХ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ КОРЕКТОРА БІЛКОВОГО ОБМІНУ ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ

*Наведені результати гістоморфологічного дослідження печінки здорових щурів під впливом екстракту з трави люцерни посівної (ЕТЛП) в порівнянні з флавоноїдним препаратом Силібором. Встановлено, що превентивне, протягом двох тижнів, введення ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та Силібору у дозі 50 мг/кг здоровим щурам не змінює морфологічну організацію паренхіми печінки та її функціональну активність. ЕТЛП у дозі 25 мг/кг за здатністю стимулювати білоксинтетичні процеси гепатоцитами за рахунок підвищення кількості двоядерних клітин має достовірну перевагу над препаратом порівняння Силібором у дозі 50 мг/кг в 1,3 рази. Встановлено високу здатність коректора білкового обміну ЕТЛП у дозі 25 мг/кг стимулювати білоксинтетичні процеси в гепатоцитах, запобігаючи їх виснаженню, що обумовлено наявністю в складі його БАР великої кількості білку та амінокислот, які корегують білковий обмін, та флавоноїдів, органічних кислот і дубильних речовин, які обумовлюють цитопротекторну дію.*

*Ключові слова:* печінка, білковий обмін, екстракт люцерни, Силібор, здорові щури

### ВСТУП

Відомо, що печінка є центральним органом хімічного гомеостазу організму, в якому створюється єдиний обмінний енергетичний пул для метаболізму білків, ліпідів та вуглеводів. Печінка відіграє важливу роль у білковому обміні, адже в ній відбуваються основні анаболічні (синтез) та катаболічні (руйнування) процеси обміну білків. Синтез білків у печінці здійснюється з вільних амінокислот: екзогенних та ендогенних. Екзогенні амінокислоти поступають до органу з кров'ю воротної вени з кишковника та їх приток залежить від якісного та кількісного складу їжі, активності травних ферментів, фази травлення, тощо. Ендогенні амінокислоти утворюються внаслідок фізіологічного клітинного розпаду в інших органах і в самій печінці з вуглеводів та жирних кислот. Синтез білків (альбумін, глобуліни, протромбін, гепарин, тощо) та численних ферментів здійснюється рибосомами в гепатоцитах. В печінці здійснюються всі етапи розчеплення білків до утворення аміаку та сечовини. Тканинні та сироваткові білки розчіплюються протеолітичними ферментами до низькомолекулярних сполук. Подальше багатоетапне

розчеплення пептидних сполук та амінокислот відбувається в процесі циклу Кребса ферментами дезамінування та окиснення. Отже, кінцеві етапи катаболічних змін білкових тіл в печінці одночасно представляють її детоксикаційну функцію. Підсумовуючи, можна сказати, що інтенсивність білкового обміну на пряму залежить від функціональної діяльності печінки.

Зважаючи на те, що досліджуваний нами як коректор білкового обміну екстракт з трави люцерни посівної (ЕТЛП) може використовуватись для профілактики гіпопротеїнемії у відносно здорових людей, доцільно було дослідити вплив ЕТЛП в порівнянні з Силібором на функціональний стан здорової печінки. Доцільність експерименту обґрунтовується тим, що ЕТЛП (*Medicago sativa*) з роду бобових (*Fabaceae*) містить білки, 17 амінокислот, у тому числі 8 незамінних, 8 ферментів, що розчіплюють білки та сприяють їх засвоєнню, які можуть безпосередньо впливати на білоксинтетичні процеси в печінці; та біологічно активні речовини з антиоксидантними, мембраностабілізуючими, органопротекторними, протизапальними та іншими властивостями, які забезпечують потенційну гепатопротекторну дію, такі як: дубильні речовини, салоніни, кумарини, фітоестрогени, вітаміни А, Д, В<sub>1</sub>, В<sub>12</sub>, С, Е, К; мікро- та макроелементи; хлорофіл; ізо-

флавоноїди; флавоноїди; органічні кислоти; антоціани; карбогідрати; полісахариди; пігменти; крохмаль [4].

Метою даної роботи стало гістоморфологічне дослідження структури та функції печінки здорових щурів під впливом коректора білкового обміну ЕТЛП в порівнянні з широко використовуваним в медицині препаратом рослинного походження – Силібором.

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для проведення гістоморфологічного дослідження печінки здорових тварин використовували 24 білих статевозрілих безпорідних щура, які були рандомізовані таким чином:

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Кількість тварин
Інтактний контроль (ІК)	–	8
ЕТЛП	25 мг/кг	8
Силібор	50 мг/кг	8

Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію ЦНДЛ НФаУ відповідно до встановлених норм [2, 3]. Дослідження проведені з дотриманням гуманного поводження з тваринами згідно правил «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують в експерименті та інших наукових цілях» (м. Стразбург, 1986) [2].

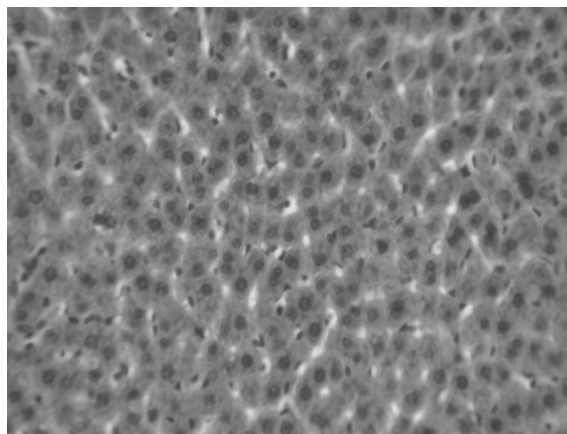
Як референс-препарат обрано Силібор виробництва ФК «Здоров'я» (м. Харків), який є дозволеним в Україні засобом рослинного походження, що містить поліфеноли, та застосовується у клініці для лікування захворювань печінки. Доза Силібору – 50 мг/кг – визначена в процесі перерахунку з добової дози для людини на добову дозу для щура за методом Риболвлева Ю.П. [6].

Після рандомізації тваринам внутрішньошлунково вводили ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та препарат порівняння Силібор у дозі 50 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. Для мікроскопічних досліджень брали зразки тканини печінки. Гістологічні дослідження проводилися к.біол.н. Лар'яновською Ю.Б. на базі ЦНДЛ НФаУ. Зразки печінки щурів всіх груп готували для подальшого світлооптичного дослідження за прийнятими у морфології методами. Мікротомовані зрізи товщиною 3-4 мкм фарбували гематоксиліном та еозином [5]. Окрім оглядової мікроскопії на мікропрепаратах визначали деякі кількісні морфологічні показники, які характеризували функціональний стан клітин: кількість двоядерних гепатоцитів, гепатоцитів

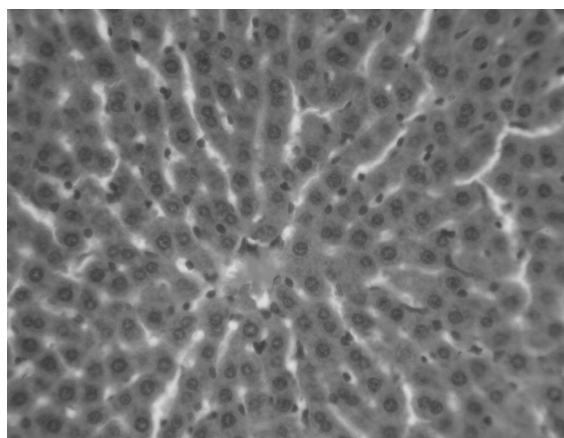
з візуально великим ядром, клітин з 1, 2 і більше ядерцями у ядрі, гепатоцитів з мікроядерцями у ядрі. Морфометрію проведено у полі зору мікроскопу в різних зонах часточок (ок. 10, об'єктив 40) у 5 повторюваннях з подальшим перерахуванням результатів на 1000 клітин. Для отримання статистичних висновків застосовували дисперсійний аналіз та критерій Ньюмена-Кельса на рівні значущості  $p < 0,05$  (стандартний пакет статистичних програм «Statistika 6.0») [1]. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nicon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nicon View 5. Результати наведені на рисунках та таблицях.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

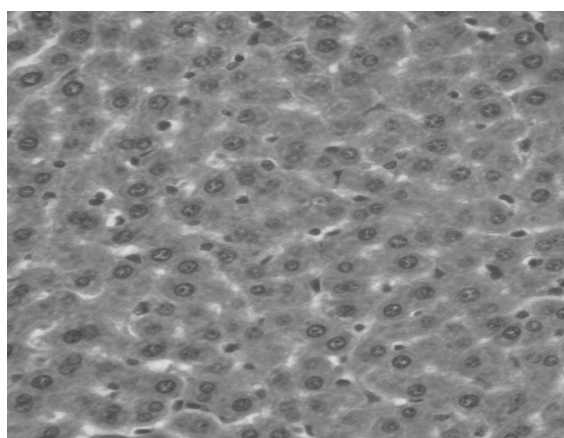
Отримані результати дослідження, які наведені на рисунках 1-3, дозволили встановити, що превентивне введення ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та Силібору у дозі 50 мг/кг здоровим щурам не змінювало морфологічну картину тканини печінки та відповідно її функціональний стан. В процесі оглядової мікроскопії встановлено (рис. 1-3), що у щурів під впливом ЕТЛП та препарату порівняння Силібору структурна організація тканини печінки типова для даного виду тварин і повністю співпадає з такою у інтактних щурів. Внаслідок відсутності міжчасточкових сполучнотканинних прошарків часточковий малюнок тканини не виразний. Межа часточок визначалася вузькими зонами триад, які містять гілки воротної вени, печінкової артерії та жовчної протоки різного калібру. У центрі часточки розташована центральна (збиральна) вена. Паренхіма часточок створена системою печінкових балочок, які анастомозують між собою. Самі балочки склалися з одного ряду гепатоцитів, які розташовані достатньо регулярними радіальними тяжами. Найбільш виражений радіальний напрям тяжів клітин – центрлобулярно. Переважна більшість гепатоцитів відповідає нормі. Клітини мали характерну полігональну форму, межа їх достатньо чітка, ядра правильної округлої форми розташовані у центрі клітин. Більша частина гепатоцитів містила одно ядро звичайного розміру з одним ядерцем, втім певна частина клітин мала 2 ядра, збільшений розмір ядер, містила у ядрі більш ніж 2 ядерця. У щурів груп інтактного контролю (рис. 1), ЕТЛП (рис. 2) та Силібору (рис. 3) цитоплазма клітин мала однорідний еозинофільний вигляд, без якихось включень, що можна побачити на світлооптичному рівні. Між печінковими балочками розта-



**Рис. 1.** Печінка інтактного щура.  
Нормальний стан печінкової паренхіми.  
Гематоксилін-еозин.  $\times 250$ .



**Рис. 2.** Печінка щура, якому вводили екстракт  
люцерни. Структура печінкових балочок та  
стан гепатоцитів не змінено.  
Гематоксилін-еозин.  $\times 250$ .



**Рис. 3.** Печінка щура, якому вводили Силібор.  
Стан тканини відповідає нормі.  
Гематоксилін-еозин.  $\times 250$ .

шовані синусоїдальні гемокапіляри, які не містили крові, просвіт їх помірно коливався. Стан ендотеліальних клітин гемокапілярів та зірчастих ретикулоендотеліоцитів (клітини Купфера) звичайний. Рівень лімфоїдних елементів у зонах триад та вміст лімфоцитів у гемокапілярах не змінювався під впливом введених препаратів.

Результати морфометричного дослідження, наведені в табл. 1, свідчать про те, що двотижневе введення ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та Силібору у дозі 50 мг/кг здоровим щурам сприяє достовірному в порівнянні з ІК зростанню функціональної активності гепатоцитів за рахунок підвищення кількості двоядерних клітин у 1,6 та 1,3 рази відповідно, а ЕТЛП має достовірну перевагу над Силібором у 1,3 рази (табл. 1). Зважаючи на те, що двоядерні клітини синтезують більше білка, ніж одноядерні [7], цей факт свідчить про здатність ЕТЛП, та в меншому ступені препарату порівняння Силібору, стимулювати білоксинтезуючі процеси за рахунок збільшення працездатності гепатоцитів, але не виснажує їх. Про це дозволяє зробити висновок той факт, що ЕТЛП не змінює кількість клітин з реактивними змінами у ядрі (мікроядерці), та запобігає загибелі клітин, адже відомо, що зростання кількості мікроядерця в клітині свідчить про наближення її загибелі внаслідок виснаження при підвищеному функціонуванні. Оскільки пул гепатоцитів залишається стабільним, то не виникає необхідності в посиленні регенераторних процесів – кількість клітин із збільшеним розміром ядра, збільшеним вмістом ядерець у ядрі (морфологічні ознаки внутрішньоклітинної регенерації) не змінюється (табл. 1).

Отже, отримані результати вказують на високу здатність коректора білкового обміну ЕТЛП у дозі 25 мг/кг стимулювати білоксинтетичні процеси в гепатоцитах, запобігаючи їх виснаженню, що обумовлено наявністю в складі БАР в ЕТЛП великої кількості білку та амінокислот, у тому числі і незамінних, які корегують білковий обмін і покращують пластичну функцію мембранних білків, та флавоноїдів, органічних кислот та дубильних речовин, які, як відомо, виявляють виражену антиоксидантну, мембраностабілізуючу та цитопротекторну дію.

Таким чином, вищенаведене свідчить про те, що ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та препарат порівняння Силібор у дозі 50 мг/кг не змінюють морфологічну організацію паренхіми печінки здорових щурів та її функціональну активність. Коректор білкового обміну ЕТЛП у дозі 25 мг/кг за рахунок наявності в складі БАР великої кількості білка та амінокислот, в тому числі незамінних, за здатністю стимулювати білоксинтетичні про-

**ВПЛИВ ЕТЛП ТА СИЛІБОРУ НА МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ГЕПАТОЦИТІВ (КІЛЬКІСТЬ НА 1000 ГЕПАТОЦИТІВ, ОД.)**

Показники	Умови досліджу		
	Інтактний контроль	ЕТЛП, 25 мг/кг	Силібор, 50 мг/кг
Двоядерні клітини	29,8±1,2	47,6±2,9 <sup>**</sup>	37,6±1,0 <sup>*</sup>
Клітини з великим ядром	17,6±0,7	19,0±0,7	20,0±0,7
Клітини з 1-м ядрцем у ядрі	809,8±32,9	800,2±24,0	786,6±31,0
Клітини з 2 і більше ядрцями у ядрі	127,2±6,6	131,2±3,2	138,8±9,1
Клітини з мікроядрцями у ядрі	42,6±3,2	36,8±2,0	34,6±4,8

Примітки:

\* – відхилення показника достовірно відносно групи інтактного контролю, p<0,05;

\*\* – відхилення показника достовірно відносно групи Силібору, p<0,05.

цеси гепатоцитами за рахунок підвищення кількості двоядерних клітин має достовірну перевагу над препаратом порівняння Силібором у дозі 50 мг/кг в 1,3 рази.

**ВИСНОВКИ**

1. Встановлено, що ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та препарат порівняння Силібор у дозі 50 мг/кг при превентивному протягом двох тижнів введенні не змінюють морфологічну організацію паренхіми печінки здорових щурів та її функціональну активність.
2. Встановлено, що двотижневе введення ЕТЛП у дозі 25 мг/кг та Силібору у дозі 50 мг/кг здоровим щурам сприяє достовірному, у порівнянні з ІК, зростанню функціональної активності гепатоцитів за рахунок підвищення кількості двоядерних клітин у 1,6 та 1,3 рази відповідно. Зважаючи на те, що двоядерні клітини синтезують більше білка, ніж одноядерні, цей факт свідчить про здатність ЕТЛП, та в меншому ступені препарату порівняння Силібору, стимулювати білоксинтезуючі процеси за рахунок збільшення працездатності гепатоцитів, але не виснажує їх.
3. Встановлено, що коректор білкового обміну ЕТЛП у дозі 25 мг/кг за рахунок наявності в складі БАР великої кількості білку та амінокислот, в тому числі незамінних, за здатністю стимулювати білоксинтетичні процеси гепатоцитами за рахунок підвищення кількості двоядерних клітин має достовірну перевагу над препаратом порівняння Силібором у дозі 50 мг/кг в 1,3 рази.
4. Встановлено високу здатність коректора білкового обміну ЕТЛП у дозі 25 мг/кг сти-

мулювати білоксинтетичні процеси в гепатоцитах, запобігаючи їх виснаженню, що обумовлено наявністю в складі БАР в ЕТЛП великої кількості білка та амінокислот, у тому числі незамінних, які корегують білковий обмін, та флавоноїдів, органічних кислот і дубильних речовин, які, як відомо, чинять виражену антиоксидантну, мембраностабілізуючу та цитопротекторну дію.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. // – М.: Практика, 1999. – 459 с.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів [метод. рек.]. / за ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. // – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
3. Западнюк М.П. Лабораторные животные. Использование в эксперименте / М.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария // – К.: Высш. шк., 1983. – 382 с.
4. Дослідження фенольного комплексу із трави люцерни посівної/ С.В. Ковальов, А.М. Ковальова, Р.Ф. Єрьоменко та ін. // Фармацевтичний часопис. – 2008. – № 2 (6). – С. 27-30.
5. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники // Г.А. Меркулов // – М.: Медицина, Ленингр. Отд-ние. – 1969. – 424 с.
6. 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.
7. Токин И.Б. Проблемы радиационной цитологии / И.Б. Токин // – М.: Медицина, Ленингр. отд. – 1974. – 320 с.

**УДК: 615.451.16:615.32:615.076.9:612.015.3:612.35**

**Р.Ф. Еременко**

**ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ ЗДОРОВЫХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ КОРРЕКТОРА БЕЛКОВОГО ОБМЕНА ЭКСТРАКТА ТРАВЫ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ**

В статье приведены результаты гистоморфологического исследования печени здоровых крыс под влиянием экстракта травы люцерны посевной (ЭТЛП) в сравнении с флавоноидным препаратом Силибором. Установлено, что превентивное, на протяжении двух недель, введение ЭТЛП в дозе 25 мг/кг и Силибора в дозе 50 мг/кг здоровым крысам не изменяет морфологическую организацию паренхимы печени и ее функциональную активность. ЭТЛП в дозе 25 мг/кг по способности стимулировать белоксинтетические процессы гепатоцитами за счет повышения количества двуядерных клеток имеет достоверное преимущество перед препаратом сравнения Силибор в дозе 50 мг/кг в 1,3 раза. Установлена высокая способность корректора белкового обмена ЭТЛП в дозе 25 мг/кг стимулировать белоксинтетические процессы в гепатоцитах, что обусловлено наличием в составе его БАВ большого количества белка и аминокислот, корректирующих белковый обмен, а также флавоноидов, органических кислот и дубильных веществ, обуславливающих цитопротекторное действие.

**Ключевые слова:** печень, белковый обмен, экстракт люцерны, Силибор, здоровые крысы

**UDC: 615.451.16:615.32:615.076.9:612.015.3:612.35**

**R.F. Yeromenko**

**THE HISTOMORPHOLOGICAL STUDY OF THE STRUCTURE AND FUNCTIONS OF HEALTHY RATS' LIVER UNDER THE INFLUENCE OF THE CORRECTOR OF PROTEIN METABOLISM OF EXTRACT MEDICAGO SATIVA SOWING GRASS**

The results of the histomorphological study of the structure and functions of healthy rat's liver under the influence of the corrector of protein metabolism of extract *Medicago sativa* sowing grass (EMSG) in comparison with the flavonoid drug Silibor are illuminated in the article. It was found out, that during two weeks the preventive injection of EMSG in dose of 25 mg/kg and Silibor in dose of 50 mg/kg to healthy rats doesn't change morphological organisation and functional activity of the liver parenchyma. EMSG in dose of 25 mg/kg has an ability of stimulating the protein synthetic processes on account of increasing the number of the dual-core cells. This ability has a significant advantage over the comparator Silibor in dose of 50 mg/kg in 1,3 times. A high ability of the corrector of protein metabolism EMSG to stimulate the protein synthetic processes in hepatocytes, avoiding it's depletion, was found out. It is caused due to the existence of a big amount of protein and amino acids, which are adjusting the protein metabolism, and flavonoids, organic acids and tannins, which cause the cytoprotective effect, in it's biologically active substances.

**Key words:** the liver, the protein metabolism, the extract *Medicago sativa* sowing grass, Silibor, healthy rats

*Адреса для листування:*  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12,  
Кафедра біології, фізіології  
та анатомії людини НФаУ.  
Тел.: (057) 706-30-73, (067) 788-53-19.  
E-mail: fuatovna@rambler.ru

Надійшла до редакції:  
31.05.2012