

УДК 615.322:616.36-002:616-091.8

А. Г. Кононенко, В. А. Уланова, Р. Ф. Єрбоменко

Національний фармацевтичний університет

ГІСТОЛОГІЧНА ОЦІНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ ВОДНОГО ЕКСТРАКТУ ЛИСТКІВ КУКУРУДЗИ ПРИ ГОСТРОМУ ТОКСИЧНОМУ УРАЖЕННІ ПЕЧІНКИ

Проведена гістоморфологічна оцінка впливу ВЕЛК на стан печінки в умовах гострого тетрахлорометанового гепатиту у щурів. Дані гістологічного дослідження показали, що ВЕЛК у дозі 50 мг/кг на моделі гострого токсичного ураження печінки у щурів, викликаного тетрахлорометаном, виявляв виразний гепатопротекторний ефект, що проявлялося в антинекротичній, антидистрофічній дії, прискоренні процесів фізіологічної регенерації гепатоцитів. За потужністю гепатозахисного впливу в умовах токсичного ураження печінки ВЕЛК певною мірою перевершує такий ефект препарату порівняння «Силібор».

Ключові слова: токсичний гепатит; водний екстракт листків кукурудзи; гепатозахисна дія; гістологічне дослідження

ВСТУП

Друге місце за розповсюдженістю та медико-соціальним значенням займають токсичні гепатити [4, 5]. На сьогодні відомо безліч причин, через які виникає токсичний гепатит. Так, причинами даного захворювання може бути прийом і вдихання токсичних речовин (органічних розчинників і промислових отрут), отруєння грибами (частіше блідою поганкою, рідше мухоморами, сморчками і рядовками). До токсичного гепатиту призводить як одноразове вживання алкоголю у великих дозах, так і вживання спиртних напоїв протягом тривалого проміжку часу. Дане захворювання може розвиватися при прийомі деяких ліків у дозуваннях, які значно перевищують лікувальні (парацетамол, індометацин). У той же час тривале застосування цілого ряду препаратів (ізоніазиду, рифампіцину, алопуринолу та азатіоприну) навіть у рекомендованих дозуваннях також може викликати токсичний гепатит.

Перераховані вище фактори, впливаючи на печінку гостро або протягом тривалого часу, викликають пошкодження печінкових клітин, що виявляється запаленням печінки – токсичним гепатитом. У разі масивної загибелі клітин розвивається гостра печінкова недостатність. Якщо запалення печінки виражено помірно, токсичний гепатит з часом може перейти в цироз з характерними клінічними проявами [1, 4, 5].

Останнім часом все більша увага приділяється застосуванню рослинних засобів для профілактики

та лікування захворювань гепатитів. У наших попередніх дослідженнях були доведені гепатопротекторні властивості водного екстракту листків кукурудзи (ВЕЛК), основним компонентом якого є поліфенольні сполуки [2]. Проте аналіз біохімічних показників крові не дає можливості стовідсотково стверджувати про наявність того чи іншого впливу. Гістологічне ж вивчення зразків органів і тканин дозволяє оцінити морфологічні зміни під впливом токсичного агента, їх характер, локалізацію та ступінь ураження органу. Тому подальші дослідження були спрямовані на гістологічне підтвердження гепатозахисної дії ВЕЛК при гострому токсичному гепатиті.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Морфологічний аналіз зразків печінки для складання більш повного уявлення про характер патологічних змін у тканині печінки на тлі гострого отруєння тетрахлорометаном, а також для оцінки ефективності застосування досліджуваного екстракту та референс-препарату проводили за допомогою методів світлової мікроскопії.

Гострий тетрахлорометановий гепатит у безпородних статевозрілих білих щурів обох статей масою 200-240 г викликали за допомогою внутрішньошлункового введення 50 % олійного розчину тетрахлорометану у дозі 8 мл/кг маси тіла тварини протягом двох діб [1]. Досліджуваний екстракт у дозі 50 мг/кг та препарат порівняння силібор у дозі 25 мг/кг вводили тваринам також внутрішньошлунково за одну годину до та через дві години після введення гепатотоксину.

Після декапітації тварин під ефірним наркозом видаляли печінку.

Зразки фіксували у 10 % розчині формаліну. Частину зразків зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, занурювали у целоїдин-парафін. Іншу частину зразків різали на мікротомі, що заморожує. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, суданом 3 [3]. На зрізах печінки, пофарбованих гематоксиліном та еозином, проводили напівкількісну оцінку потужності патологічного процесу та впливу на формування його препаратів, що досліджуються, за такими ознаками: виразність жирової та білкової дистрофії, некротичні прояви, виразність зон порушення рисунка тканини, циркуляторні розлади, клітинна запальна реакція, регенераторні прояви за 5-ти бальною системою. Згідно зі схемою оцінки: 0 балів – ознака відсутня; 1 бал – ознака слабка; 2 бали – ознака помірна; 3 бали – ознака виразна; 4 бали – ознака дуже виразна.

Для отримання статистичних висновків застосовували дисперсійний аналіз (критерій Краскала-Уоллеса), при порівнянні виборок – критерій Манна-Уїтні з поправкою Бонфероні при рівні імовірності $p \leq 0,05$. Для статистичної обробки використовувалась програма Statistica 6.0. Мікроскопічне вивчення мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400. Мікрофотографування зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nicon Col Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 4GH за допомогою програми Nicon View 5.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На світлооптичному рівні печінка щурів з групи інтактного контролю мала типовий характер, притаманний для даного виду тварин. Часточковий рисунок тканини нечіткий. Стан ендотелію вени та артерій, а також епітелію жовчної протоки, що входили до складу триад ендотелію інших кровоносних судин, відповідав нормі. Гепатоцити мали характерну форму та розмір, чіткі клітинні межі. Цитоплазма клітин не містила ніяких видимих на світлооптичному рівні включень. Наявність двоядерних клітин нормальна. Клітин, що знаходилися у якихось фазах розподілу, не знайдено у межах мікропрепарату. Синусоїдальні капіляри помірно розширені, не містили крові. Стан зрі-

частих ретикулоендотеліоцитів відповідав звичайному (рис. 1).

Після введення тетрахлорометану у щурів з групи контрольної патології знайдені грубі порушення у стані печінкової паренхіми, що характеризувалися виразними ознаками деструкції рисунка тканини, циркуляторними розладами, виразною жировою та білковою дистрофією, невиразною запальною реакцією (рис. 2-3). У різних щурів у межах групи були виявлені різні комбінації дистрофічних змін гепатоцитів, некрозу, стеатозу та судинних розладів. На ділянках часточок з відносно збереженою паренхімою виявлено набухання гепатоцитів, нечіткість клітинних мембран, помірне коливання розміру ядер (анізонуклеоз), зменшення кількості двоядерних клітин. Цитоплазма клітин була з дрібною вакуолізацією.

Поряд з дегенеративними змінами у паренхімі печінки були присутні і регенераторні прояви. Однак, часто регенерація набувала деяких ознак патології: з'являлися не цілком характерні фігури мітозу ядер.

Після введення ВЕЛК на тлі тетрахлорометану простежено чітке покращення морфологічного стану печінкової паренхіми – суттєво звузилися зони деструкцій (рис. 4-5). Моноцелюлярний некроз носив тільки дрібновогнещевий характер або зачіпав лише окремі групки клітин. Навіть у зонах деструкцій знаходили гепатоцити, що зберігали життєздатні функції.

Крім того, серед звичайних гепатоцитів на ділянках поблизу від ушкоджень відмічали появу нових утворених клітин. Значно зменшена виразність жирової дистрофії. Везикули мали дрібно-середній характер, у більшості щурів не руйнували цілісності клітин. Майже зникли ознаки білкової дистрофії гепатоцитів.

На відміну від контрольної патології значно виразніше була клітинна реакція у зонах колишньої деструкції. Переважали макрофаги, гістіоцити, клітини лімфоїдного типу. Нейтрофільні лейкоцити не спостерігались. Така зміна клітинного складу свідчила про розвиток якісно нового етапу запальної реакції – проліферації, що можна віднести до початку регенерації.

Аналогічне за схемою введення препарату порівняння силібору також чинило позитивний вплив на стан печінкової паренхіми щурів. У більшості тварин помітно звужені зони деструкції, збільшені ділянки

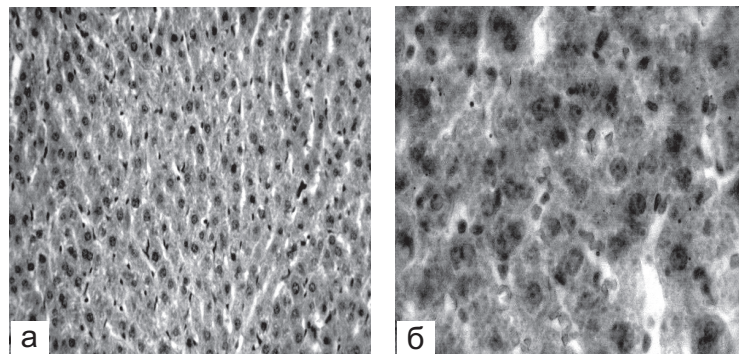


Рис. 1. Печінка інтактного щура: а – гематоксилін-еозин. $\times 200$; б – судан 3, заморожений зріз. $\times 250$.

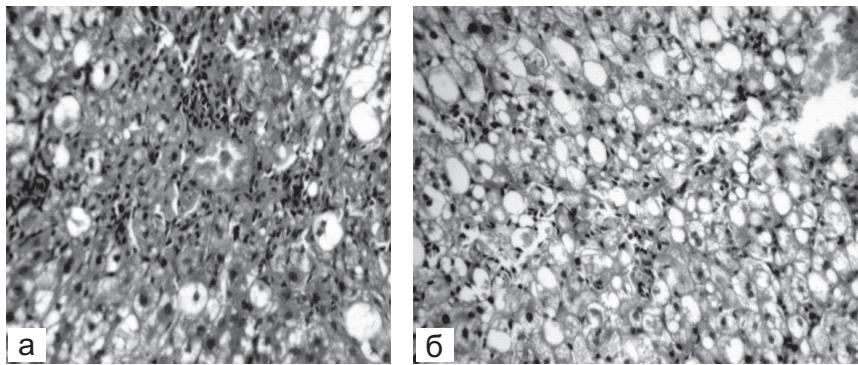


Рис. 2. Печінка щура після введення тетрахлорометану. а – некротичні порушення центролобулярної зони часточки. Гематоксилін-еозин. $\times 200$; б – жирова та білкова дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

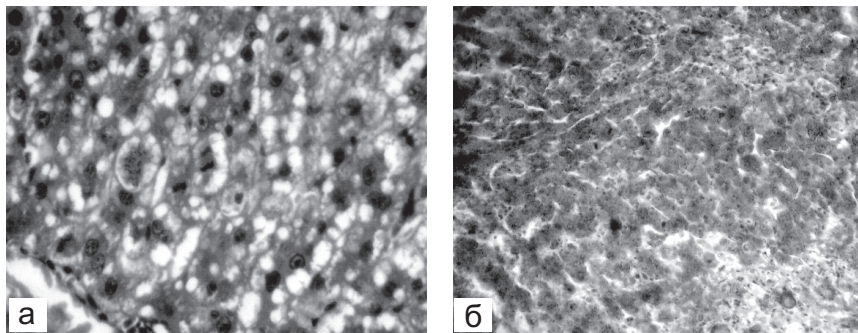


Рис. 3. Печінка щура після введення тетрахлорометану. а – нормальний та абортивний мітози у гепатоцитах. Гематоксилін-еозин. $\times 400$; б – цитоплазма гепатоцитів забита краплями жиру. Судан 3, заморожений зріз. $\times 250$.

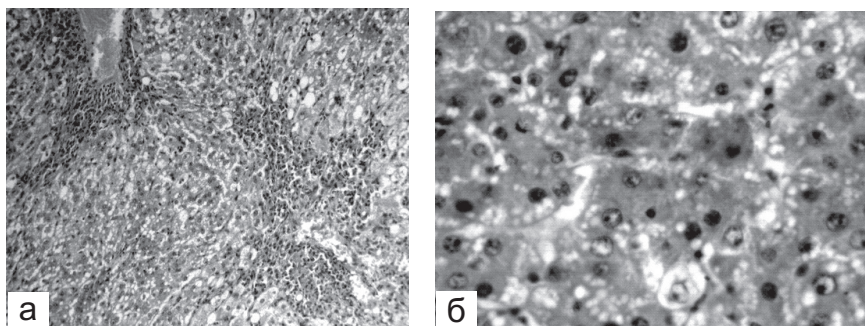


Рис. 4. Печінка щура, якому на тлі тетрахлорометану вводили ВЕЛК у дозі 50 мг/кг. а – відновлення гістоархітекτονіки печінки. Гематоксилін-еозин. $\times 150$; б – виразний поліморфізм ядер гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. $\times 400$.

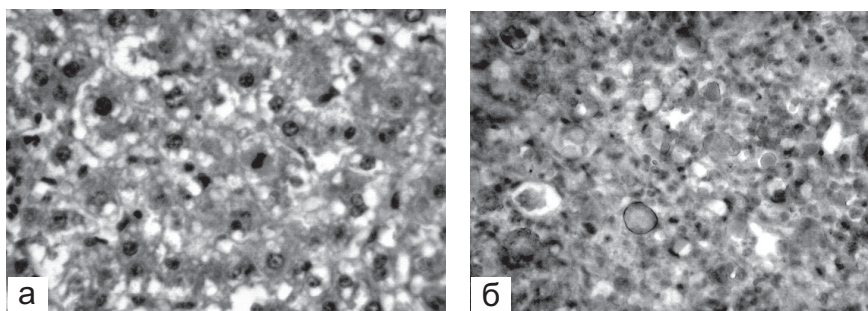


Рис. 5. Печінка щура, якому на тлі тетрахлорометану вводили ВЕЛК у дозі 50 мг/кг. а – нормальний мітоз у гепатоциті. Гематоксилін-еозин. $\times 400$; б – зниження жирової дистрофії гепатоцитів. Судан 3, заморожений зріз. $\times 250$.

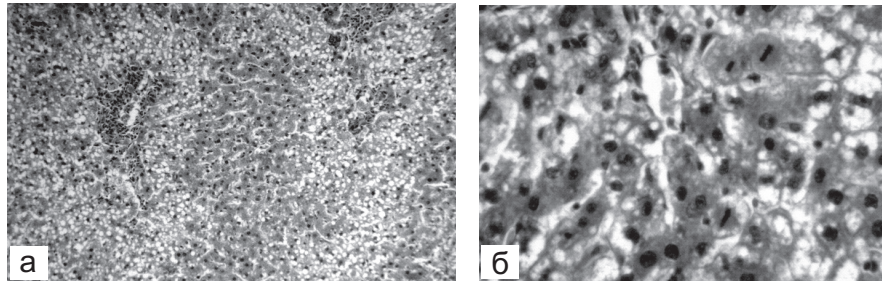


Рис. 6. Печінка щура, якому на тлі тетрахлорометану вводили силібор у дозі 25 мг/кг. а – зони деструкції зменшені. Гематоксилін-еозин. $\times 150$; б – нормальні мітози у гепатоцитах. Гематоксилін-еозин. $\times 400$.

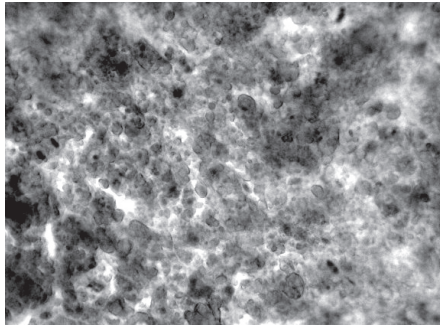


Рис. 7. Печінка щура, якому на тлі тетрахлорометану вводили силібор у дозі 25 мг/кг. Судан 3, заморожений зріз. $\times 250$.

часточок, які зберігали свою типову гістоархітектоніку, гепатоцити були більш морфологічно повноцінними. В той же час жирова дистрофія ще доволі помітно виразна, хоча і мала більш дифузний та більш дрібновезикулярний, ніж у контрольній патології характер. Мали місце і нечисленні жирові мікрокристи (рис. 6-7).

Аналіз кількісних характеристик патологічного процесу, що розвинувся у печінці щурів після введення тетрахлорометану та корекції його ВЕЛК і препаратом порівняння силібором, показав наступне. Після введення тетрахлорометану в печінці щурів розвилось гостре токсичне ураження, яке характеризувалося виразними альтеративними зсувами (некроз – 2,5 бали, жирова дистрофія – 3,12 бали, білкова дистрофія – 2,87 бали, циркуляторні розлади – 2,25 бали). Все це в значній мірі порушувало нормальну гістоархітектоніку печінкової паренхіми (2,25 бали). Альтеративні зміни супроводжувалися слабкими запальними процесами (1,5 бали). Компенсаторні регенераторні процеси в тканині виражені мляво – популяція двоядерних клітин знижена, поліморфізм клітин та ядер доволі помірний. Проте ознаки регенерації часто набували патологічного характеру (поява значної кількості абортивних мітозів) та не вміли компенсувати ураження значних ділянок паренхіми.

Введення ВЕЛК сприяло зворотності процесу. Прискорювалися етапи організації некрозу (у 1,8 рази), що сприяло скороченню, звуженню зон деструкції печінкової паренхіми (у 1,57 рази). Зменшувалися виразність жирової та білкової дистрофії (у 2 та 1,46 рази

відповідно), циркуляторних розладів (у 1,97 рази). Активувалися процеси фізіологічної регенерації (виразний поліморфізм клітин та ядер, збільшення мітотичної активності), пул двоядерних клітин був доволі стабільним. Ці процеси спостерігалися на тлі появи молодих клітин, що заміщали загиблі клітини у проблемних зонах часточок. Все це в цілому свідчило про можливість органу під впливом ВЕЛК компенсувати та відновити ушкоджені ділянки печінкової паренхіми.

Препарат порівняння силібор також сприяв усуненню та поліпшенню патологічних змін, підвищував адаптаційні можливості гепатоцитів, сприяв фізіологічній регенерації клітин. Однак за ефектом позитивного впливу силібор поступався ВЕЛК. Так, виразність некрозу гепатоцитів зменшена у 1,36 рази, жирової та білкової дистрофії – у 1,17 та 2,12 рази, відповідно. Зони деструкції звужувалися у 1,22 рази. Прискорення етапів організації некрозу відбувалося також у 1,22 рази.

ВИСНОВКИ

1. На підставі даних гістологічного дослідження можна зробити висновок, що ВЕЛК у дозі 50 мг/кг на моделі гострого токсичного ураження печінки у щурів, викликаного тетрахлорометаном, чинив виразний гепатопротекторний ефект, що проявлялося в антинекротичній, антидистрофічній дії, прискоренні процесів фізіологічної регенерації гепатоцитів.
2. За потужністю гепатозахисного впливу в умовах гострого тетрахлорометанового ураження печінки ВЕЛК у певній мірі перевершує такий ефект у препараті порівняння силібору.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна. 2001. – 528 с.
2. Кононенко А. Г. Вивчення гепатопротекторної активності водного екстракту листків кукурудзи в умовах гострого тетрахлорометанового гепатиту / А. Г. Кононенко, Л. М. Малоштан, М. Ф. Ткаченко, В. М. Ковальов // Запорізький мед. журн. – 2009. – № 5.

3. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.
4. Teoh N. C., Chittun S., Farrell G. C. Drug-induced hepatitis. In: M. Feldman, L. S. Friedman, L. J. Brandt, eds. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. – 9-th ed. – Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2010. – 86 p.
5. Wedemeyer H., Pawlotsky J-M. Acute viral hepatitis / L. Goldman, A. I. Schafer, eds. – Cecil Medicine. – 24-th ed. – Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier, 2011. – 150 p.

УДК 615.322:616.36-002:616-091.8**А. Г. Кононенко, В. А. Уланова, Р. Ф. Еременко****ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ВОДНОГО ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ КУКУРУЗЫ ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ**

Проведена гистоморфологическая оценка воздействия ВЭЛК на состояние печени в условиях острого тетрахлорметанового гепатита у крыс. Данные гистологического исследования показали, что ВЭЛК в дозе 50 мг/кг на модели острого токсического поражения печени у крыс, вызванного тетрахлорметаном, проявлял выразительный гепатопротекторный эффект, что проявлялось в антинекротическом, антидистрофическом действии, ускорении процессов физиологической регенерации гепатоцитов. По мощности гепатозащитного воздействия в условиях токсического поражения печени ВЭЛК в определенной степени превосходит такой эффект у препарата сравнения «Силибор».

Ключевые слова: токсический гепатит; водный экстракт листьев кукурузы; гепатозащитное действие; гистологическое исследование

UDC 615.322:616.36-002:616-091.8**A. G. Kononenko, V. A. Ulanova, R. F. Ieremenko****HISTOLOGICAL EVALUATION OF HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACT OF LEAVES OF CORN IN ACUTE TOXIC LIVER DAMAGE**

It has been conducted histomorphological assessment of the action AELC on the state of liver under condition acute tetrachlormetan hepatitis in rats. Data of histological studies showed that AELC in a dose 50 mg/kg on the model of acute toxic liver damage in rats induced by carbon tetrachloride demonstrated clear hepatoprotective effect, manifested in antynekrotic, antydystrophic action and acceleration the processes of physiological regeneration of hepatocytes. On power of hepatoprotective influence under condition of toxic liver damage AELC has more effective action as preparation Silibor.

Key words: toxic hepatitis; aqueous extract of leaves of corn; hepatoprotective effect; histologic study

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12.
Тел./факс (057)706-30-73, (050) 183-84-56.
E-mail: alevtina_kononen@mail.ru
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 12.02.2016 р.