

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ БЕРЕСТЫ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНА

[О. Р. Грек](#), [М. А. Карпов](#), [В. В. Иванова](#), [Ю. В. Лигостаева](#), [Е. В. Тихонова](#), [В. И. Шаранов](#),
[К. И. Ершов](#)

*ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Новосибирск)*

Изучено гепатопротекторное действие водно-спиртовых экстрактов полученных из сырья бересты предварительно диспергированного с размером частиц 0,1-0,3 мм (ЭБД) и бересты нативной (ЭБН). Животные были разделены на 5 групп по 10 особей в каждой. Группа 1 — интактные; 2 — ССL₄ (негативный контроль); животным 3-й, 4-й групп перед введением ССL₄ предварительно в течение 5-ти дней однократно внутривентрикулярно вводили ЭБД, ЭБН в дозе 100 мг/кг, животным 5-й группы вводили препарат сравнения карсил (АО «Софарма», Болгария) в дозе 100 мг/кг. На 6-е сутки внутрибрюшинно вводили 50 % масляный раствор ССL₄ в дозе 0,2 мл/100 г; на 1, 4 и 7-е сутки после введения ССL₄ животных выводили из эксперимента. Полученные данные свидетельствуют о способности ЭБД стимулировать репаративные процессы в паренхиме печени крыс в большей степени по сравнению с карсилом и ЭБН.

Ключевые слова: экстракт бересты, токсический гепатит, тетрахлорметан, бетулин.

Грек Олег Рувимович — доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 236-09-02, e-mail: grekor-40@yandex.ru

Карпов Михаил Александрович — кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: karpov-ma@mail.ru

Иванова Виктория Валерьевна — аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», врач ультразвуковой диагностики ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 2», e-mail: vik02051982@ya.ru

Лигостаева Юлия Валерьевна — аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail:

benna89@mail.ru

Тихонова Евгения Владимировна — кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: ennyuuyandex@.ru

Шарапов Виктор Иванович — доктор медицинских наук, профессор кафедры медицинской химии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 226-65-41, e-mail: profsharapov@yandex.ru

Ершов Константин Игоревич — кандидат биологических наук, ассистент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: ershov_k@bk.ru

Введение. В сухом экстракте бересты содержится более 70 % бетулина — пентациклического тритерпенового спирта ряда лупана. Как было установлено, бетулин и его производные обладают широким спектром фармакологической активности — противовоспалительной, гепатозащитной, антиоксидантной, противоопухолевой и др. [1, 2].

Цель исследования: провести сравнительное изучение сухого экстракта, полученного из нативной бересты (ЭБН), и экстракта, полученного после предварительного диспергирования нативной бересты (ЭБД), на модели острого токсического повреждения печени, вызванного интраперитонеальным введением тетрахлорметана.

Материалы и методы. Исследовали гепатопротекторное действие водно-спиртового экстракта, полученного из предварительно измельченной механическим способом бересты (ЭБД). В измельченных образцах преобладала фракция (82 %) с размером частиц 0,1–0,3 мм и ЭБН. Действие ЭБН и ЭБД изучали на модели острого токсического гепатита. Гепатит моделировали интраперитонеальным введением 50 % масляного раствора тетрахлорметана (CCl₄) в дозе 0,2 мл / 100 г массы животного однократно.

Для изучения гепатозащитного действия экстрактов бересты крысы-самцы массой 200–250 г были разделены на группы: 1–3-я — позитивный контроль (интактные животные); 4–6-я — негативный контроль (тетрахлорметан). Крысам 7–9-й групп перед введением CCl₄ вводили экстракт из ЭБН; животным 10–12-й групп — ЭБД в дозах 100 мг/кг; крысам 13–15-й групп перед введением CCl₄ вводили карсил (АО «Софарма», Болгария) в дозе 100 мг/кг. Экстракты и препарат сравнения карсил профилактически вводили внутривентрикулярно однократно в течение 5-ти суток. Животных выводили из эксперимента на 1, 4 и 7-е сутки после введения CCl₄. Перед декапитацией животных лишали корма на 12 ч, забор материала проводили в утренние часы. Все манипуляции с лабораторными животными проводили, соблюдая «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (1986). Крыс содержали в пластмассовых клетках (по 10 особей) в стандартных условиях вивария при естественном освещении на гранулированном комбикорме «ПК 120-3» («Лабораторснаб») и воде ad libitum.

Для светооптического исследования печени ткань фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина. Для дальнейшей гистологической обработки вырезали из большей доли печени образцы толщиной 5–7 мм путем поперечного рассечения,

подвергали стандартной обработке на гистологическом комплексе MICROM («Карл Цейс», Германия): обезжировали в спиртах возрастающей концентрации с последующей заливкой в парафиновые блоки. Срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином Лилли-Майера и 1 % эозином на автомате HMS 70 (время окраски — 1 ч 15 мин). При помощи морфометрической сетки из 25-ти точек (16 квадратов), вставленной в окуляр, подсчитывали численную плотность двуядерных гепатоцитов (N_{ai}) в паренхиме печени на единицу тестовой площади 1600 мкм², объемные плотности (V_{vi}) очагов некрозов и дистрофически измененных гепатоцитов [3]. Статистическую обработку данных проводили методами параметрической статистики с использованием пакета программ Microsoft Excel с определением среднего значения (M), ошибки среднего (m). Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента t . Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Макроскопически печень у животных при введении CCl_4 была тусклой, дряблой по консистенции. В паренхиме обнаруживаются массивные сливающиеся очаги некрозов гепатоцитов с лейкоцитарной инфильтрацией. Объемная плотность очагов некрозов с 1-х по 7-е сутки снижалась с 42,0 до 35,3 %. Вакуольная дистрофия гепатоцитов с 1-х по 7-е сутки снижалась с 54,0 до 43,9 %. Сосуды триад и синусоиды расширены, полнокровны, инфильтрованы макрофагами и нейтрофилами. Полнокровие сосудов печени было неравномерным в сосудах триад, синусоидах и центральных венах. Объемная плотность нормальной ткани увеличивалась с 3,9 до 20,8 % к 7-м суткам. Численная плотность двуядерных гепатоцитов не отличалась от показателей интактного контроля (см. табл.).

Влияние профилактического введения ЭБН и ЭБД в дозе 100 мг/кг на морфометрические показатели печени при интоксикации CCl_4 ($M \pm m$)

Группы крыс	№ групп	Сутки	Дистрофия гепатоцитов, V_{vi} , %	Некроз гепатоцитов, V_{vi} , %	Нормальная ткань, %	Двуядерные гепатоциты, N_{ai}
Интактный контроль	1	1	2,1 ± 0,6	0,09 ± 0,09	97,8 ± 0,63	1,68 ± 0,16
	2	4	3,07 ± 0,8	1,34 ± 0,73	95,59 ± 2,1	1,68 ± 0,11
	3	7	2,83 ± 0,63	0,89 ± 0,12	96,28 ± 1,83	2,25 ± 0,14
CCl_4	4	1	54,04 ± 1,2	42,05 ± 1,3	3,9 ± 0,7	1,89 ± 0,12
	5	4	44,06 ± 0,17	38,73 ± 1,5	17,21 ± 1,14	1,95 ± 0,17
	6	7	43,9 ± 0,1	35,3 ± 0,93	20,8 ± 1,18	2,25 ± 0,14
ЭБД 100 мг/кг + CCl_4	7	1	65,66 ± 1,86	9,76 ± 0,74	24,59 ± 1,97	3,1 ± 0,25 $p_{7-10,13} < 0,001$
	8	4	60,48 ± 1,71	11,9 ± 0,8	27,61 ± 1,93	3,35 ± 0,21 $p_{8-10,13} < 0,001$
	9	7	52,24 ± 2,34	10,24 ± 1,08	37,51 ± 2,72	2,68 ± 0,17 $p_{9-15} < 0,01$
ЭБН 100 мг/кг + CCl_4	10	1	64,63 ± 1,72	19,17 ± 1,61	16,2 ± 2,08	2,23 ± 0,17
	11	4	84,88 ± 1,18 $p_{11-8,5} < 0,05$	8,07 ± 0,79 $p_{11-8,5} < 0,05$	6,88 ± 0,72 $p_{11-8,5} < 0,05$	2,3 ± 0,17
	12	7	89,38 ± 0,91 $p_{12-9,6} < 0,05$	6,44 ± 0,27 $p_{12-4,6,10} < 0,05$	4,18 ± 0,5 $p_{12-8,5} < 0,05$	2,38 ± 0,14

Карсил 100 мг/кг	13	1	56,07 ± 1,95	9,0 ± 1,0	34,92 ± 2,47	2,25 ± 0,17
	14	4	79,6 ± 1,24	11,09 ± 0,85	9,31 ± 1,21	1,82 ± 0,17
	15	7	66,18 ± 1,89	4,77 ± 0,56	29,04 ± 2,06	2,13 ± 0,19

В группах (7-9) с профилактическим введением ЭБД в дозе 100 мг/кг объемная плотность неповрежденной ткани с 1-х по 7-е сутки возрастала в 6,3 ($p < 0,001$) и 1,8 раза ($p < 0,001$), а объемная плотность очагов некроза снижалась в 4,3 ($p < 0,001$) и 3,5 раза ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичными показателями в группе контроля CCl_4 .

Профилактическое введение ЭБД по сравнению с карсилом сопровождалось увеличением объемной плотности неповрежденных гепатоцитов к 4-м суткам в 2,9 раза ($p < 0,001$), к 7-м — в 1,3 раза ($p < 0,01$), по сравнению с ЭБН к 7-м суткам объемная плотность неповрежденных гепатоцитов увеличивалась в 8,9 раза ($p < 0,001$). Численная плотность двуядерных гепатоцитов на 4-е и 7-е сутки превышала данный показатель при введении карсила в 1,8 ($p < 0,001$) и 1,2 ($p < 0,05$) раза. Профилактическое введение ЭБН в дозе 100 мг/кг сопровождалось снижением объемной плотности некрозов с 1-х по 7-е сутки в 2,2 ($p < 0,001$) и 5,5 ($p < 0,001$) раза, увеличением дистрофий к 7-м суткам в 2 раза ($p < 0,001$); объемная плотность нормальной ткани через сутки после введения ЭБН + CCl_4 в 4,2 раза ($p < 0,001$) превышала, а к 7-м суткам, напротив, 4,9 раза ($p < 0,001$) была ниже показателей контроля CCl_4 .

Обсуждение результатов. Данные морфометрического исследования указывают на способность водно-спиртовых экстрактов из ЭБН и ЭБД в условиях их профилактического введения уменьшать повреждение печени при последующем введении тетрахлорметана [4]. При сравнении гепатозащитной эффективности исследуемых экстрактов показано, что гепатопротекторное действие ЭБД обладает большей эффективностью по сравнению с ЭБН. В условиях профилактического введения ЭБД в дозе 100 мг/кг после введения CCl_4 объемная плотность некрозов в печени достоверно снижалась на 1, 4 и 7-е сутки, предварительное введение ЭБН сопровождалось уменьшением очагов некрозов только на 4-е, 7-е сутки после введения CCl_4 . Предварительное введение ЭБД, снижая объемную плотность очагов некрозов, способствует значительному увеличению объемной плотности нормальной ткани на 1, 4 и 7-е сутки по сравнению с профилактическим введением карсила и ЭБН [5, 6]. Увеличение объемной плотности нормальной ткани в условиях предварительного введения ЭБД сопровождается значительным увеличением численной плотности двуядерных гепатоцитов по сравнению с группой крыс, которым предварительно вводили карсил и ЭБН.

Полученные данные свидетельствуют о способности ЭБД стимулировать репаративный процесс в паренхиме печени крыс в большей степени при сравнении с эффектом препарата сравнения карсилом, что связано не только с усилением процесса деления гепатоцитов, но и, вероятно, активированием внутриклеточных процессов репаративной регенерации.

Список литературы

1. Влияние бетулоновой кислоты и её производного (3-оксо-20-лупен-28-оил)-3-аминопропионовый кислоты на структуру печени мышей с лимфомой RLS / Н. А. Жукова [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2005. — Т. 140, № 9. — С. 348-351.
2. Изучение гепатопротекторного действия растительного экстракта коры березы при экспериментальном гепатите, вызванном четыреххлористым углеродом / В. В. Иванова

- [и др.] // Фундаментальные исследования. — 2013. — № 3.
3. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия : руководство / Г. Г. Автандилов. — М. : Медицина, 1990. — 384 с.
 4. Гепатопротекторное действие водно-спиртового экстракта диспергированной бересты при остром отравлении парацетамолом [Электронный ресурс] / О. Р. Грек [и др.] // Медицина и образование в Сибири : сетевое научное издание. — 2014. — № 5. — Режим доступа : http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1548. — Дата обращения : 14.04.2015.
 5. Радченко В. Г. Новые аспекты фармакологического действия урсодеооксиголевой кислоты / В. Г. Радченко, П. В. Селиверстов, С. И. Ситкин // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. — 2014. — № 8 (108). — С. 4-10.
 6. Гепатопротекторные свойства силимарина / А. В. Матвеев [и др.] // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. — 2011. — № 2. — С. 130-135.

INFLUENCE OF EXTRACTS OF BIRCH BARK ON MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE LIVER AT RATS AT INTRODUCTION OF TETRACHLORMETHANE

[O. R. Grek, M. A. Karpov, V. V. Ivanova, Y. V. Ligostayeva, E. V. Tikhonova, V. I. Sharapov, K. I. Yershov](#)

SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University» of Ministry of Health (Novosibirsk)

Hepatoprotective effect of aqueous-alcoholic extracts received from the raw materials of birch bark which are previously dispersed with a size of particles of 0,1-0,3 mm (DBBE) and native birch barks of (NBBE) is studied. Animals were divided into 5 groups on 10 individuals in everyone. Group 1 — intact; 2 — CCL₄ (negative control); animal of the 3rd, 4th groups before introduction of CCL₄ previously within 5 days once abdominally entered DBBE, NBBE in a dose of 100 mg/kg, animal the 5th group comparisons injected a medicine karsit (JSC Sofarm, Bulgaria) in a dose of 100 mg/kg. 50% CCL₄ Solutio oleosa was entered on the 6th day abdominally in a dose of 0,2 ml / 100; on the 1st, 4th and 7th day after introduction of CCL₄ the animals were brought out of experiment. The obtained data testify to ability of DBBE to stimulate reparative processes in parenchyma of rats' liver more in comparison with karsil and NBBE.

Keywords: birch bark extract, toxic hepatitis, tetrachlormethane, betulin.

About authors:

Grek Oleg Ruvimovich — doctor of medical science, professor head of pharmacology, clinical pharmacology and evidential medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 236-09-02, e-mail: grekor-40@yandex.ru

Karpov Mikhail Aleksandrovich — candidate of medical science, senior teacher of pathological anatomy chair of at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University» of Ministry of Health, e-mail: karpov-ma@mail.ru

Ivanova Victoria Valerievna — post-graduate student of pharmacology, clinical pharmacology and evidential medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University» of Ministry of Health, ultrasonographer at SBHE NR «City clinical hospital of emergency medical service N 2», e-mail: vik02051982@yandex.ru

Ligostayeva Julia Valerievna — post-graduate student of pharmacognosy and botany chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University» of Ministry of Health, e-mail: benna89@mail.ru

Tikhonova Evgenia Vladimirovna — candidate of medical science, senior teacher of pharmacology, clinical pharmacology and evidential medicine chair at SBEI HPE

«Novosibirsk State Medical University» of Ministry of Health, e-mail: ennyyyandex@.ru

Sharapov Victor Ivanovich — doctor of medical science, professor of medical chemistry chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University» of Ministry of Health, office phone: 8 (383) 222-66-541, e-mail: profsharapov@yandex.ru

Ershov Konstantin Igorevich — candidate of biological science, assistant of pharmacology, clinical pharmacology and evidential medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University» of Ministry of Health, e-mail: ershov_k@bk.ru

List of the Literature:

1. Influence of betulinic acid and its derivative (3-okso-20-lupen-28-oil)-acid 3-aminopropion on structure of liver of mice with RLS lymphoma / N. A. Zhukova [et al.] // Bulletin of exper. biology and medicine. — 2005. — Vol. 140, N 9. — P. 348-351.
2. Studying of hepatoprotective effect of plant extract of cortex of birch at the experimental hepatitis caused by four-chloride Carboneum / V. V. Ivanova [et al.] // Basic researches. — 2013. — N 3.
3. Avtandilov G. G. Medical morphometry : guidance / Avtandilov. — M. : Medicine, 1990. — 384 p.
4. Hepatoprotective effect of aqueous-alcoholic extract of the dispersed birch bark at acute poisoning with Paracetamolium [electron resource] / O. R. Grek [et al.] // Medicine and education in Siberia: online scientific journal. — 2014. — N 5. — Access mode : (http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1548). — Access date : 14.04.2015.
5. Radchenko V. G. New aspects of pharmacological effect of ursodeoxycholic acid / V. G. Radchenko, P. V. Seliverstov, S. I. Sitkin // Eksperim. and wedge. gastroenterology. — 2014. — N 8 (108). — P. 4-10.
6. Hepatoprotective properties of Silymarinum / A. V. Matveev [et al.] // Exper. and clin. gastroenterology. — 2011. — N 2. — P. 130-135.