

УДК 615.246.9

# МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИГИПОКСАНТОВ ПРИ ОСТРОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Э.Ф. Репина<sup>1</sup>, Н.Ю. Хуснутдинова<sup>1</sup>,  
Г.В. Тимашева<sup>1</sup>, С.С. Байгильдин<sup>1</sup>,  
Д.О. Каримов<sup>1</sup>, Л.А. Мусина<sup>2</sup>,  
В.А. Мышкин<sup>1</sup>, А.Б. Бакиров<sup>1</sup>,  
А.Р. Гимадиева<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, г.Уфа, Российская Федерация

<sup>2</sup>ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России, 450075, г. Уфа, Российская Федерация

<sup>3</sup>ФГБУН «Уфимский Институт химии РАН», 450054, г. Уфа, Российская Федерация

Представлены результаты морфологических изменений печени при остром поражении тетрахлорметаном и профилактической коррекции повреждений антигипоксантами: комплексными препаратами оксиметилурацила (с сукцинатом натрия и аскорбиновой кислотой). Установлено, что тетрахлорметан вызывает выраженные морфологические изменения в печени. Показано, что профилактическое применение изученных антигипоксантов снижает интенсивность и распространенность дистрофических процессов в тканях печени. Проведен анализ сравнительной эффективности исследованных препаратов.

**Ключевые слова:** тетрахлорметан, антигипоксанты, оксиметилурацил, сукцинат натрия, аскорбиновая кислота, печень, морфологическая структура.

**Введение.** Одним из патогенетических механизмов химического поражения печени является ишемия [1] которая в свою очередь может усиливать процессы свободнорадикального окисления в мембранах гепатоцитов [2,3,4]. Это определило перспективу применения для защиты печени препаратов метаболического действия, сочетающих антиоксидантную и противогипоксическую активность [5,6,7]. Среди последних важное значение приобретают производные урацила, наиболее активным представителем которых является соединение – 5-гидрокси-6-метилурацил (оксиметилурацил) [8]. Антиоксидантные и антигипоксические свойства у оксиметилурацила были обна-

ружены в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, что позволило в дальнейшем успешно развивать это направление исследований, используя различные экспериментальные модели интоксикаций и химически индуцированных видов патологии [6,8,9]. Применение оксиметилурацила и комплексных препаратов на его основе способствовало сохранению структуры гепатоцитов, активности каталазы, супероксиддисмутазы, уровня восстановленного глутатиона, SH-групп, а также подавляло накопление в ткани продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых, триеновых конъюгатов, ТБК-реагирующих продуктов [6,9]. В связи с изложенным, представляется актуальным

**Репина Эльвира Фаридовна (Repina Elvira Faridovna)**, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией токсикологии с экспериментальной клиникой лабораторных животных отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e.f.repina@bk.ru

**Хуснутдинова Надежда Юрьевна (Khusnutdinova Nadezhda Yurevna)**, научный сотрудник лаборатории токсикологии с экспериментальной клиникой лабораторных животных отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», h-n-yu@yandex.ru

**Тимашева Гульнара Вильевна (Timasheva Gulnara Vilevna)**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории токсикологии с экспериментальной клиникой лабораторных животных отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e.f.repina@bk.ru

**Байгильдин Самат Сагадатович (Baigildin Samat Sagadatovich)**, младший научный сотрудник лаборатории токсикологии с экспериментальной клиникой лабораторных животных отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», baigildin.samat@yandex.ru

**Каримов Денис Олегович (Karimov Denis Olegovich)**, кандидат медицинских наук, заведующий отделом токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», karimovdo@gmail.com

**Мусина Ляля Ахияровна (Musina Lyalya Akhiyarovna)**, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела морфологии ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России, morphoplant@mail.ru

**Мышкин Владимир Александрович (Myshkin Vladimir Alexandrovich)**, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории токсикологии с экспериментальной клиникой лабораторных животных отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e.f.repina@bk.ru

**Бакиров Ахат Бариевич (Bakirov Ahat Barievich)**, доктор медицинских наук, профессор, академик АН РБ, директор ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, e.f.repina@bk.ru

**Гимадиева Альфия Раисовна (Gimadieva Alfiya Raisovna)**, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакофорных циклических систем ФГБУН «Уфимский Институт химии РАН», alf\_gim@mail.ru

дальнейший поиск эффективных гепатопротекторов среди препаратов с установленными антигипоксическими свойствами.

*Целью исследований* являлось изучение морфологических особенностей действия изученных ранее новых комплексных препаратов оксиметилурацила с сукцинатом натрия и с аскорбиновой кислотой, проявляющих антигипоксические свойства, на экспериментальной модели острого поражения печени тетрахлорметаном (ТХМ).

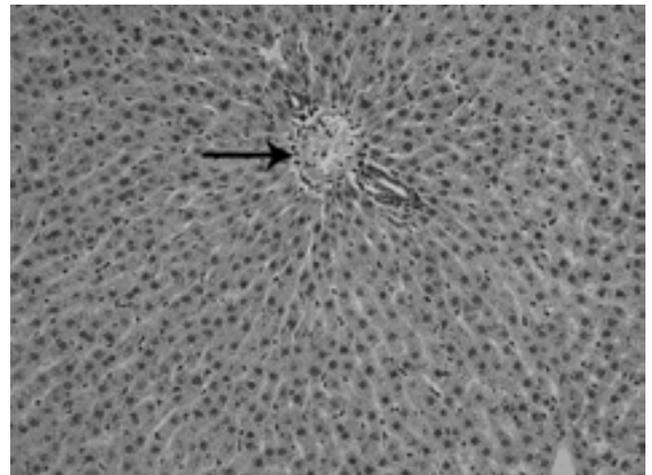
**Материалы и методы исследования.** Экспериментальные исследования выполнены на белых беспородных крысах-самцах массой 200-220 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область). Животных содержали в условиях вивария в однородных группах при свободном доступе к воде и пище при температуре  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ . Экспериментальные исследования проводили в осенне-зимний период. В качестве токсиканта использовали 50% раствор ТХМ в оливковом масле, который вводили в дозе 2 мл/кг массы тела подкожно ежедневно в течение 4 дней. Изучаемые препараты: комплексное соединение оксиметилурацила с сукцинатом натрия [10] и комплексное соединение оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой [11]. Их введение осуществляли в профилактическом режиме в течение шести дней. Животные были разделены на группы по 8 в каждой: 1 – интактные животные, которых не подвергали фармакологическим и токсическим воздействиям («отрицательный» контроль); 2 – животные, которым вводили раствор ТХМ в оливковом масле («положительный» контроль); 3 – животные, которым профилактически вводили комплексное соединение оксиметилурацила с сукцинатом натрия в дозе 50 мг/кг массы тела дважды – за 2 часа, затем за 1 час до ТХМ; 4 – животные, которым за 2 часа до введения ТХМ вводили комплексное соединение оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой в дозе 50 мг/кг массы тела, затем за 1 час до ТХМ.

Забор материала для морфологических исследований проводили на 7 сутки эксперимента. После вскрытия печень крыс извлекали и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, проводили через спирты и заливали в парафин по стандартной методике приготовления гистологических препаратов [12]. Производили серийные срезы печени. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Изготовленные препараты изучали в светооптическом микроскопе Leica DMD 108 (Германия). Окуляр  $\times 10$ , объектив  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$  (100, 200 и 400-кратное увеличение). Сравнительный анализ полученных резуль-

татов проводили по комплексу морфологических признаков:

- морфологическим проявлениям повреждения паренхимы (некротические и некробиотические морфологические признаки, распространенность, форма дистрофии, нарушение балочного строения);
- наличию и характеру стромальных клеточных реакций;
- характеру и степени выраженности компенсаторно-приспособительных процессов.

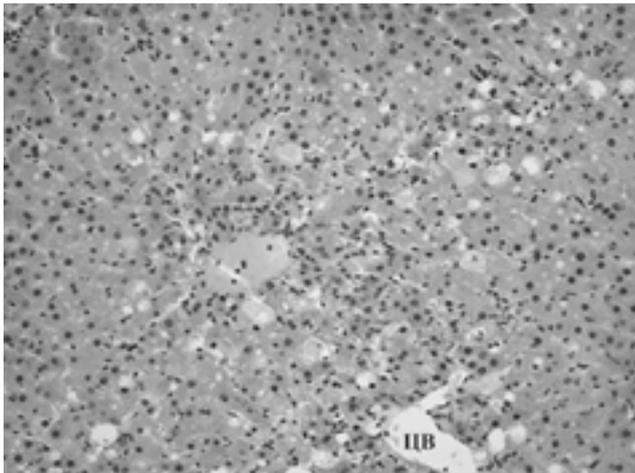
**Результаты и обсуждение.** В препаратах интактных животных выявлено четкое дольковое строение печени с радиальным расположением балок (рис. 1). При окраске гистологических срезов гематоксилином и эозином цитоплазма гепатоцитов окрашивалась в ровный розовый цвет. Клетки имели одно, реже два довольно крупных ядра с хорошо выраженной ядерной оболочкой.



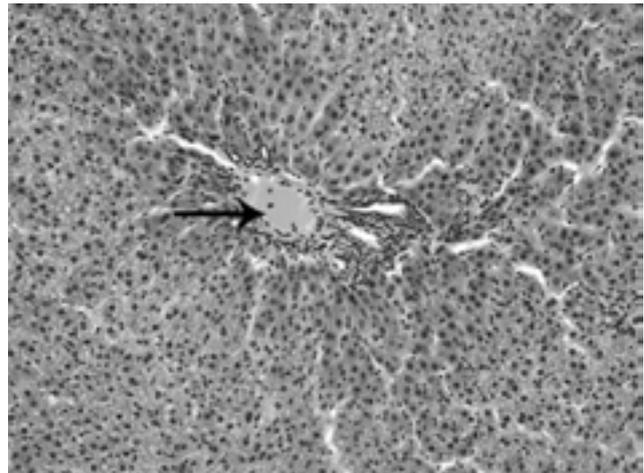
**Рис. 1.** Печень интактных крыс. Портальный тракт представлен междольковыми сосудами и желчным протоком (↑) (окраска гематоксилином и эозином, увеличение  $\times 200$ ).

В паренхиме печени крыс контрольной группы выявлялись изменения, которые наступают при воздействии на животных ТХМ. Характерны гидропическая и белковая дистрофии гепатоцитов. В отдельных печеночных клетках дистрофические изменения усиливались до парциального некроза цитоплазмы и даже полного распада клеточных органелл с полной потерей радиальной балочной структуры паренхимы печени (рис. 2). При микроскопическом исследовании выявлялись ступенчатые и массивные мостовидные некрозы паренхимы печени, которые носят необратимый характер.

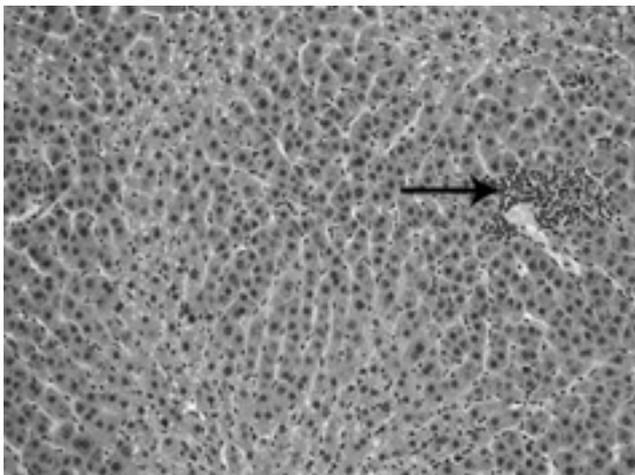
При оценке тканей печени при профилактической схеме введения комплексного соединения оксиметилурацила с сукцинатом натрия выявлялись морфологические изменения ге-



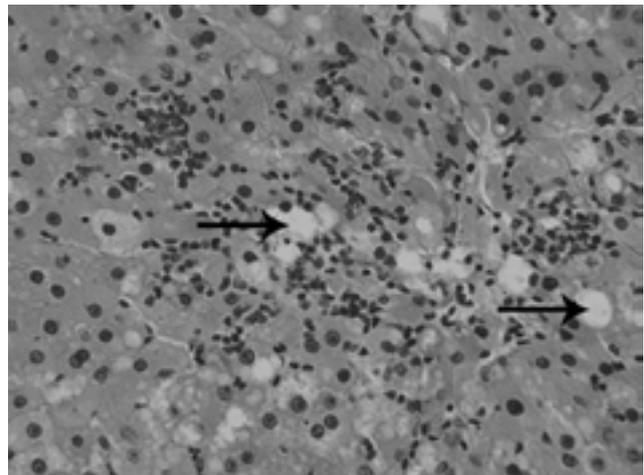
**Рис. 2.** Печень крысы после воздействия ТХМ. Полиморфизм гепатоцитов и потеря радиального трабекулярного построения вокруг центральной вены (ЦВ) (окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 200).



**Рис. 4.** Печень крыс при профилактическом введении комплексного соединения оксиметилурацила с сукцинатом натрия. Кровенаполнение сосудов портального тракта (↑) (окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 200).



**Рис. 3.** Печень крыс при профилактическом введении комплексного соединения оксиметилурацила с сукцинатом натрия. Лимфоцитарный инфильтрат в паренхиме печени (↑) (окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 200).



**Рис. 5.** Печень крыс при профилактическом введении комплексного соединения оксиметилурацила с сукцинатом натрия. Цитоллиз гепатоцитов (↑) (окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 400).

патоцитов центрлобулярных зон, выраженные от слабой до средней степени. Изменения касались только цитоплазмы клеток, размеры ядер и их структура у большинства клеток не изменялись. Вокруг портальных трактов выявлялись зоны неизмененных гепатоцитов. Печеночные пластинки (трабекулы), построенные из гепатоцитов, лежали ровно. Синусоиды между печеночными трабекулами хорошо просматривались. В них определялись звездчатые ретикулоэндотелиоциты с ярко-розовой цитоплазмой. Очень редко в паренхиме печени встречались небольшие по размерам лимфоцитарные инфильтраты (рис. 3). Необходимо отметить, что при общей картине слабой и средней степени дистрофических изменений

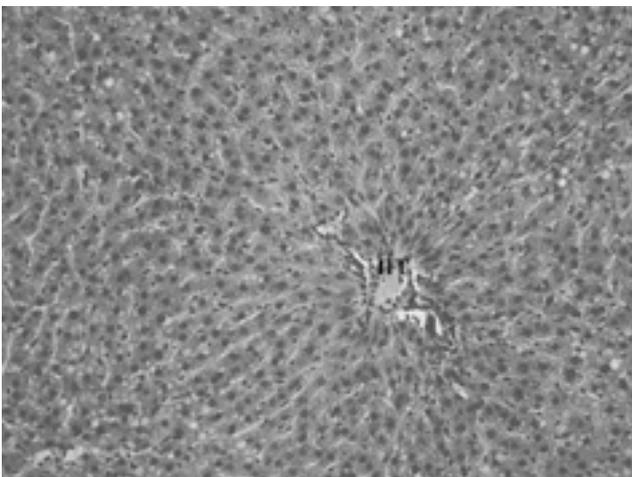
у большинства крыс данной группы выявлялись признаки гемостаза в большинстве сосудов, как в центральных венах, так и в сосудах портального тракта (рис. 4). В целом, на гистологических препаратах печени большинства крыс этой группы выявлялись патоморфологические признаки дистрофии гепатоцитов, выраженных от слабой до средней степени, которые можно считать обратимыми. Хотя у трех крыс данной группы определялись и более выраженные морфологические изменения, присущие токсическому гепатиту (рис. 5).

При оценке изменений в тканях печени крыс, которым профилактически вводилась комбинация оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой, установлено, что у части животных этой

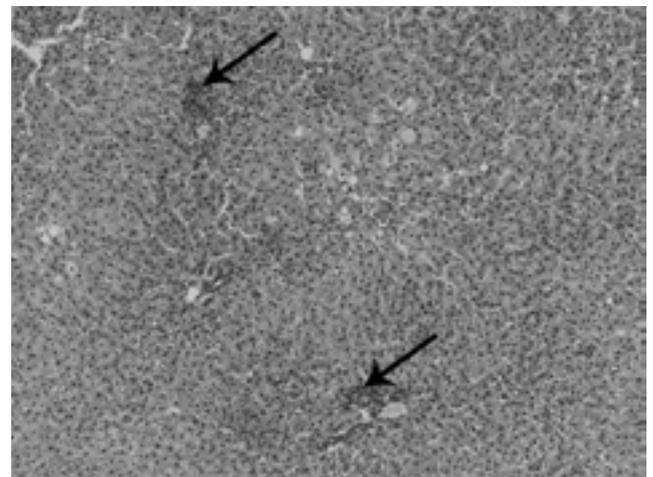
группы (3 из 8) дистрофические изменения паренхимы носили обратимый характер. Они были представлены довольно выраженной мелко и крупнокапельной вакуолизацией цитоплазмы. Гепатоциты перипортальных зон были ровные, имели одно, реже два ядра с одним или двумя ядрышками. Радиальность расположения печеночных трабекул сохранялась (рис. 6). Отдельные центральные вены и сосуды портальных трактов были расширены и кровенаполнены (рис. 7). У двух крыс патологические изменения печени были более выраженными (значительные воспалительные клеточные инфильтраты), хотя и сохранялась структура ге-

патоцитов вокруг портальных трактов (рис. 8). У трех крыс патологические изменения печени были более значительные. Большинство гепатоцитов подверглось балонной дистрофии, парциальному (частичному) некрозу цитоплазмы и колликвационному некрозу всей клетки (рис. 9). Таким образом, лишь у небольшой части животных этой группы изменения в паренхиме печени носили обратимый характер. Сравнительная гепатопротекторная эффективность изученных комплексных препаратов представлена в таблице.

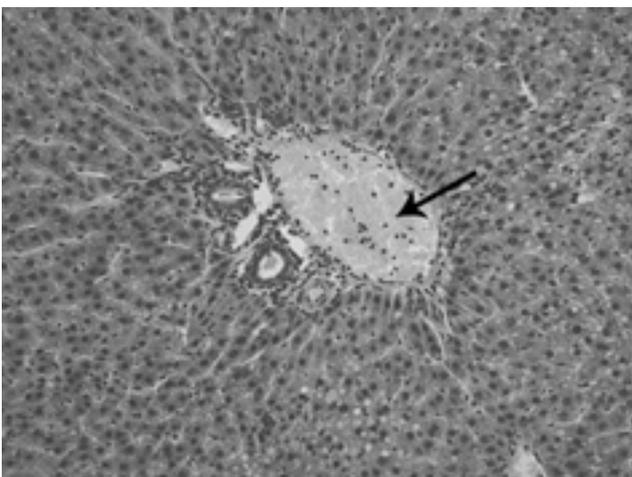
Из данных, представленных в таблице, видно, что оба препарата проявляют определенные



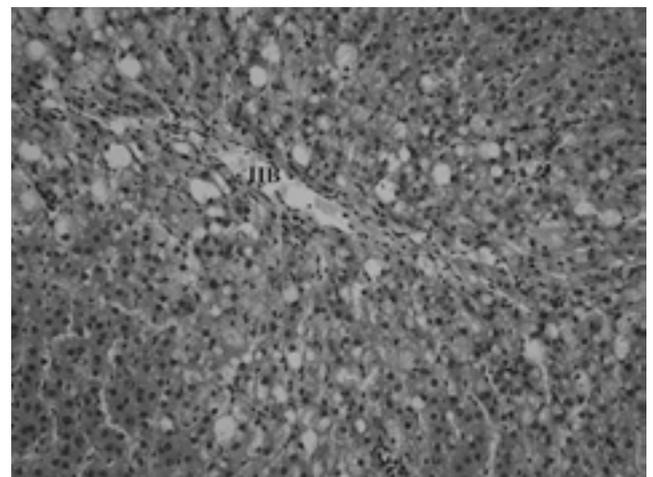
**Рис. 6.** Печень крыс при профилактическом введении комплексного соединения оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой. Сохранность структуры и радиальность расположения гепатоцитов вокруг портального тракта (ПТ) (окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 200).



**Рис. 8.** Печень крыс при профилактическом введении комплексного соединения оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой. Воспалительные клеточные инфильтраты (↑) (окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 100).



**Рис. 7.** Печень крыс при профилактическом введении комплексного соединения оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой. Расширение сосуда и кровенаполнение в портальном тракте (↑) (окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 200).



**Рис. 9.** Печень крыс при профилактическом введении комплексного соединения оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой. Выраженные дистрофические изменения гепатоцитов вокруг центральной вены (ЦВ) (окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 200).

## Сравнительная гепатопротекторная эффективность комплексных препаратов

Место в ряду эффективности	Комплексный препарат	Патоморфологические признаки (общее краткое заключение)
1 место	оксиметилурацил + сукцинат натрия	Выявлялись патоморфологические признаки белковой и гидропической дистрофии гепатоцитов, выраженные от слабой до средней степени (изменения обратимы). У 3-х крыс определялись более выраженные морфологические изменения, присущие токсическому гепатиту (цитоллиз и некроз отдельных гепатоцитов).
2 место	оксиметилурацил + аскорбиновая кислота	Выявлялись обратимые дистрофические изменения гепатоцитов центролобулярных зон паренхимы печени слабой степени. У 3-х крыс определялись дистрофические изменения средней степени тяжести. У 3-х крыс патологические изменения были более выраженные – глубокие дистрофические изменения гепатоцитов вплоть до атрофии печеночной паренхимы, сопровождающиеся некротическими проявлениями и пролиферацией воспалительных клеток в паренхиме.

защитные свойства при воздействии на печень токсиканта, однако комплексный препарат оксиметилурацила с сукцинатом натрия в наших исследованиях оказался несколько эффективнее. Следует отметить, что при изучении антигипоксических свойств этих препаратов, он также был более активен [10,11]. Проведенные нами исследования подтверждают тот факт, что одним из механизмов токсического повреждения печени является гипоксия [1].

Из данных, представленных в таблице, видно, что оба препарата проявляют определенные защитные свойства при воздействии на печень токсиканта, однако комплексный препарат оксиметилурацила с сукцинатом натрия в наших исследованиях оказался несколько эффективнее. Следует отметить, что при изучении антигипоксических свойств этих препаратов, он также был более активен [10,11]. Проведенные нами исследования подтверждают тот факт, что одним из механизмов токсического повреждения печени является гипоксия [1].

**Заключение.** Таким образом, проведенные исследования показали целесообразность применения антигипоксантов для защиты печени от повреждения четыреххлористым углеродом. Оксиметилурацил, сукцинат натрия, аскорбиновая кислота имеют, в основном, раз-

личные точки приложения (биохимические мишени). Однако комплексное их применение по профилактической схеме может оказывать защитное действие на морфологическую структуру печени путем ослабления дистрофических, некробиотических нарушений, а также за счет разрешения воспалительного процесса.

**Выводы:**

1. Воздействие ТХМ в токсической дозе на 7 сутки эксперимента вызывало повреждение ткани печени в виде белковой, гидропической дистрофии, фокальных некрозов гепатоцитов, усиление клеточных реакций, воспалительных инфильтраций с нарушением балочного строения.

2. Комбинированное профилактическое применение оксиметилурацила с сукцинатом натрия, оксиметилурацила с аскорбиновой кислотой позволило снизить интенсивность и распространенность дистрофических и некробиотических процессов, клеточных реакций, а также сохранить (частично или полностью) радиальность структуры тканей печени.

3. В порядке убывания гепатопротекторной активности исследованные комбинации препаратов можно расположить в следующей последовательности: оксиметилурацил+ сукцинат > оксиметилурацил+аскорбат.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

- Голиков С. Н., Саноцкий Н. В., Тиунов Л. А. Общие механизмы токсического действия. М.: Медицина; 1986; 279.
- Оковитый С.Н., Смирнов А.В. Антигипоксанты. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2001; 64(3):76-80.
- Абдуллаев Н.Х., Каримов Х.Я. Печень при интоксикации гепатотропными ядами. Ташкент: Медицина; 1989; 96.
- Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). М.: Медицина; 1989; 367.
- Лукиянова Л.Д. Фармакологическая коррекция митохондриальной дисфункции при гипоксии. Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. М; 2004:456-487.
- Мышкин В.А., Еникеев Д.А. Преодоление гепатотоксичности антиоксидантами: реальность и перспектива. Уфа: Полиграфдизайн; 2014; 182.
- Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф., Каримов Д.О. Экспериментальная фармакокоррекция токсических поражений печени антиоксидантами. Уфа: ООО «Принт-2»; 2016; 173.
- Мышкин В.А., Еникеев Д.А., Срубиллин Д.А., Гимадиева А.Р. Экспериментальная оценка производных пиримидина на моделях токсического поражения печени: обзор. Научное обозрение. Ме-

дицинские науки. 2016; 03: 88-98.  
**9.** Гепатопротекция с применением оксиметилурацила: Информационно-методическое письмо / В.А. Мышкин, А.Б. Бакиров, Э.Ф. Репина, А.Р. Гимадиева. Уфа; 2013; 11.

**10.** Репина Э.Ф., Гимадиева А.Р., Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Тимашева Г.В., Хуснутдинова Н.Ю. и др. Антигипоксическая активность нового комплексного соединения оксиметилурацила с сукцинатом натрия. Токсико-

логический вестник. 2017; 2:40-42.  
**11.** Репина Э.Ф., Мышкин В.А., Каримов Д.О., Тимашева Г.В., Хуснутдинова Н.Ю., Смолянкин Д.А. и др. Антигипоксическая активность комплексного соединения оксиметилурацила с аскор-

биновой кислотой. Токсикологический вестник. 2018; 4: 20-23.  
**12.** Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. М.: Медицина; 1969.

## REFERENCES:

**1.** Golikov S.N., Sanotsky N.V., Tiunov, L.A. General mechanisms of toxic action. M.: Medicine; 1986; p. 279 (in Russian).  
**2.** Okovityi S.N., Smirnov A.V. Antihypoxants. Experimental and clinical pharmacology. 2001, 64, p. 76-80 (in Russian).  
**3.** Abdullayev N.Kh., Karimov Kh.Ya. Liver intoxication with hepatotropic poisons. Tashkent, Medicine, 1989, 96 p. (in Russian).  
**4.** Bilenko M.V. Ischemic and reperfusion injuries of organs (molecular mechanisms, ways of prevention and

treatment). M., Medicine, 1989, p. 367 (in Russian).  
**5.** Lukyanova L.D. Pharmacological correction of mitochondrial dysfunction in hypoxia. Problems of hypoxia: molecular, physiological and medical aspects. M, 2004, p. 456-487 (in Russian).  
**6.** Myshkin V.A., Enikeev D.A. Overcoming of hepatotoxicity with antioxidants: reality and perspective. Ufa, Polygraphdesign; 2014; 182 p. (in Russian).  
**7.** Myshkin V.A., Bakirov A.B., Repin E.F. Experimental pharmacocorrection of toxic liver lesions by antioxidants. Ufa, LLC

«Print-2»; 2016; 173 p. (in Russian).  
**8.** Myshkin V.A., Enikeev D.A., Srubilin D.A., Gimadieva A.R. Experimental evaluation of pyrimidine derivatives on models of liver toxicity: a review. Medical science, 2016; 03, p. 88-98 (in Russian).  
**9.** Myshkin V.A., Bakirov A.B., Repina E.F., Gimadieva A.R. Hepatoprotection using oxymethyluracil. Information methodical letter, Ufa; 2013; 11 p. (in Russian).  
**10.** Repina E.F., Gimadieva A.R., Myshkin V.A., Bakirov A.B., Timasheva G.V., Khusnutdinova N.Yu. etc. Antihypoxic

activity of a new complex compound of oxymethyluracil with sodium succinate. Toxicological Review, 2017, 2, p. 40-42 (in Russian).  
**11.** Repina E.F., Myshkin V.A., Karimov D.O., Timasheva G.V., Khusnutdinova N.Yu. Smolyankin D.A. Antihypoxic activity of complex compound of oxymethyluracil with ascorbic acid. Toxicological Review, 2018, 4, p. 20-23 (in Russian).  
**12.** Merkulov G.A. Course of histopathological techniques. M., Medicine, 1969 (in Russian).

*E.F. Repina<sup>1</sup>, N.Yu. Khusnutdinova<sup>1</sup>, G.V. Timasheva<sup>1</sup>, S.S. Baigil'din<sup>1</sup>, D.O. Karimov<sup>1</sup>, L.A. Musina<sup>2</sup>, V.A. Myshkin<sup>1</sup>, A.B. Bakirov<sup>1</sup>, A.R. Gimadieva<sup>3</sup>*

## MORPHOLOGIC SPECIFICITIES OF HEPATOPROTECTIVE EFFECTS OF ANTIHYPOXANTS IN EXPERIMENTAL ACUTE LIVER DAMAGE WITH CARBON TETRACHLORIDE

<sup>1</sup>Ufa Institute of Occupational Health and Human Ecology, 450106, Ufa, Russian Federation

<sup>2</sup>All-Russian Centre of Eye and Plastic Surgery, RF Ministry of Health, 450075, Ufa, Russian Federation

<sup>3</sup> Ufa Institute of Chemistry of the Russian Academy of Science, 450054, Ufa, Russian Federation

The article presents the results on liver morphologic changes in acute carbon tetrachloride damage and its preventive correction by antihypoxants: complex oxymethyluracil agents (with sodium succinate and ascorbic acid). It has been shown that carbon tetrachloride causes pronounced morphologic changes in the liver and preventive use of the antihypoxants studied decreases intensity and prevalence of dystrophic processes in liver tissues. The analysis of comparative efficiency of the agents studied has been carried out.

**Keywords:** carbon tetrachloride, antihypoxants, oxymethyluracil, sodium succinate, ascorbic acid, liver, morphologic structure.

Материал поступил в редакцию 09.11.2018 г.

