

УДК 615.9

## МОРФОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС ЧЕРЕЗ 24 ЧАСА ПОСЛЕ ИНТОКСИКАЦИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ И ПОСЛЕДУЮЩЕЙ КОРРЕКЦИИ

Байгильдин С.С., Репина Э.Ф., Хуснутдинова Н.Ю., Смолянкин Д.А., Каримов Д.О.,  
Кудояров Э.Р.

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», г. Уфа, Россия

*Эффективность коррекции гепатопротекторами при острой и хронической печеночной патологии до сих пор остается предметом исследований ввиду небольшого количества бесспорно надежных препаратов. Целью нашего исследования было выявление ранних морфологических изменений при коррекции гепатопротекторами токсического повреждения печени. Для моделирования токсического гепатита белым аутбредным крысам производили однократное пероральное введение тетрахлорметана в масляном растворе в дозе 2 г/кг. Коррекцию токсического поражения печени проводили препаратами Гептор, Мексидол, оксиметилурацил в терапевтической дозе через час после введения тетрахлорметана. Через 24 часа после введения кусочек печени подвергался стандартной гистологической обработке. В группах с коррекцией и без коррекции токсического гепатита в основном обнаруживались балонная и гидропическая дегенерация и некроз центрлобулярных гепатоцитов, а также слабая клеточная инфильтрация. Дегенеративные и дистрофические изменения были менее распространены в группе с коррекцией оксиметилурацилом, чем в группах с коррекцией препаратами Мексидол и Гептор.*

**Ключевые слова:** гепатопротекторы, крысы, острый эксперимент, токсический гепатит.

**Для цитирования:** Байгильдин С.С., Репина Э.Ф., Хуснутдинова Н.Ю., Смолянкин Д.А., Каримов Д.О., Кудояров Э.Р. **МОРФОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС ЧЕРЕЗ 24 ЧАСА ПОСЛЕ ИНТОКСИКАЦИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ И ПОСЛЕДУЮЩЕЙ КОРРЕКЦИИ.** Медицина труда и экология человека. 2020; 3:74-79

**Для корреспонденции:** Байгильдин Самат Сагадатович, младший научный сотрудник отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», e-mail: baigildin.samat@yandex.ru.

**Финансирование:** исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**DOI:** <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2020-10310>

## LIVER MORPHOLOGY OF RATS AFTER 24 HOURS OF TETRAHLOROMETHANE- INDUCED INTOXICATION AND SUBSEQUENT CORRECTION

Baygildin S.S., Repina E.F., Khusnutdinova N.Yu., Smolyankin D.A., Karimov D.O., Kudoyarov E.R.  
«Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology», Ufa, Russia

*The effectiveness of treatment with hepatoprotectors in acute and chronic hepatic pathology is still the subject of research due to the small number of undoubtedly reliable drugs. The aim of our study was to reveal early morphological changes after hepatoprotector treatment*

of toxic liver injury. White outbred rats were given a single oral administration of carbon tetrachloride in an oil solution at a dose of 2 g/kg to simulate toxic hepatitis. Treatment of toxic liver damage was carried out with Heptor, Mexidol, oxymethyluracil in a therapeutic dose one hour after the injection of carbon tetrachloride. 24 hours after injection, the liver piece was subjected to standard histological processing. In the groups with and without treatment of toxic hepatitis, balloon and hydropic degeneration and necrosis of centrilobular hepatocytes, as well as weak cellular infiltration, were mainly found. Degenerative and dystrophic changes were less common in the Oxymethyluracil-treated group than in the Mexidol- and Heptor-treated groups.

**Key words:** hepatoprotectors, rats, acute experiment, toxic hepatitis.

**For citation:** Baygildin S.S., Repina E.F., Khusnutdinova N.Yu., Smolyankin D.A., Karimov D.O., Kudoyarov E.R. LIVER MORPHOLOGY OF RATS AFTER 24 HOURS OF TETRAHLOROMETHANE-INDUCED INTOXICATION AND SUBSEQUENT CORRECTION. *Occupational health and human ecology*. 2020; 3:74-79

**For correspondence:** Samat S. Baygildin, Junior Researcher, Department of Toxicology and Genetics, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, email: baigildin.samat@yandex.ru.

**Financing.** The study was not financially supported.

**Conflict of interest:** The authors declare they have no conflict of interest.

**DOI:** <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2020-10310>

Эффект многих препаратов, позиционирующихся как гепатопротекторы, при острой и хронической патологии печени во многих случаях недостаточен и не подтверждается при независимых сравнительных исследованиях [1]. Таким образом, исследования гепатопротекторного действия препаратов, в основе которых лежат антиоксидантные свойства, остаются актуальным направлением в токсикологии. Для сравнения гепатопротекторного действия препаратов на структурные изменения в печени часто выбирают тетрахлорметановую модель [2, 3]. В исследованиях гепатопротекторных свойств нередко рассматривают функциональные изменения совместно со структурными изменениями [4, 5], хотя некоторые исследователи обнаруживали расхождения уровней ферментемии с морфологическими проявлениями при хронической тетрахлорметановой интоксикации крыс [1].

Тетрахлорметан повреждает печень, инициируя образование трихлорметильных радикалов и активных форм кислорода, вторично приводя к воспалению и истощению антиоксидантной защиты [4, 5]. Таким образом, для защиты печени при тетрахлорметановой интоксикации важны антиоксидантные противапоптотические и противовоспалительные свойства препаратов [4]. Одним из антиоксидантов является оксиметилурацил (5-гидрокси-6-метилурацил), ингибирующий процессы перекисного окисления липидов. Кроме того, показано что он активизирует некоторые ферменты антиоксидантной защиты, стабилизирует мембраны клеток и органелл, стимулирует регенераторные процессы и оказывает антигипоксическое действие [6].

**Цель** нашего исследования – выявление ранних морфологических изменений при коррекции гепатопротекторами тетрахлорметановой модели токсического повреждения печени.

### Материалы и методы исследования

Опыты проводили на 25 аутбредных белых крысах-самцах массой 180-220 г в соответствии с Директивой ЕС 2010/63/EU, содержащихся в виварии на стандартном рационе при освещении 12/12 ч. Опытным группам однократно подкожно вводили масляный раствор тетрахлорметана в дозе 2 г/кг, контрольной группе – растительное масло. Коррекцию токсического поражения печени, вызванного тетрахлорметаном, проводили в 3 группах животных препаратами в терапевтической дозе по следующей методике.

Одной группе животных через час после введения тетрахлорметана вводили внутривенно Гептор в дозе 0,9 мг на кг массы тела, второй группе животных – Мексидол подкожно в дозе 5 мг на кг массы тела, третьей группе – перорально оксиметилурацил на 2% растворе крахмальной слизи в дозе 50 мг на кг массы тела. Через 24 часа после введения кусочек ткани печени фиксировался в 10% нейтральном формалине. После фиксации образцы были обезвожены в серии батареи спиртов (изопропанола), подготовлены в промежуточной среде (минеральное масло изопропанол) и залиты в парафин. Парафиновые блоки были микротомированы на срезы толщиной 5-7 мкм и окрашены гематоксилином и эозином. Гистологические препараты исследовали и фотографировали с помощью микроскопов Zeiss AXIO Imager D2 и ЛОМО Микмед-2.

### Результаты и обсуждение

На гистологических препаратах печени крыс через 24 часа после введения исключительно растительного масла обнаруживалась нормальная архитектура балок, морфология ядра и цитоплазмы печеночных клеток. Через 24 часа после введения тетрахлорметана патоморфологические признаки повреждения паренхимы печени выражались в основном в гидропической и баллонной дистрофии с участками некроза и воспалительного клеточного инфильтрата (рис. 1).

У большинства крыс группы с коррекцией препаратом Гептор обнаруживалась баллонная дегенерация центролобулярных гепатоцитов и гидропическая дистрофия гепатоцитов центролобулярных и в некоторых случаях промежуточных зон (рис. 2). Слабая инфильтрация воспалительными клетками обнаруживалась около центральных вен на месте погибших гепатоцитов. У двух крыс обнаруживались только незначительные дистрофические изменения в центролобулярных зонах.

В печени крыс группы с коррекцией препаратом Мексидол баллонная дегенерация обнаруживалась в единичных гепатоцитах центролобулярной зоны у двух крыс, у остальных – во всей центролобулярной зоне (рис. 3). Только у одной крысы вакуольная дистрофия обнаруживалась в промежуточной и центролобулярной зоне, в то время как у остальных крыс она обнаруживалась только в центролобулярной зоне. Дегенеративные и дистрофические изменения были также распространены, как и в группе с коррекцией препаратом Гептор.



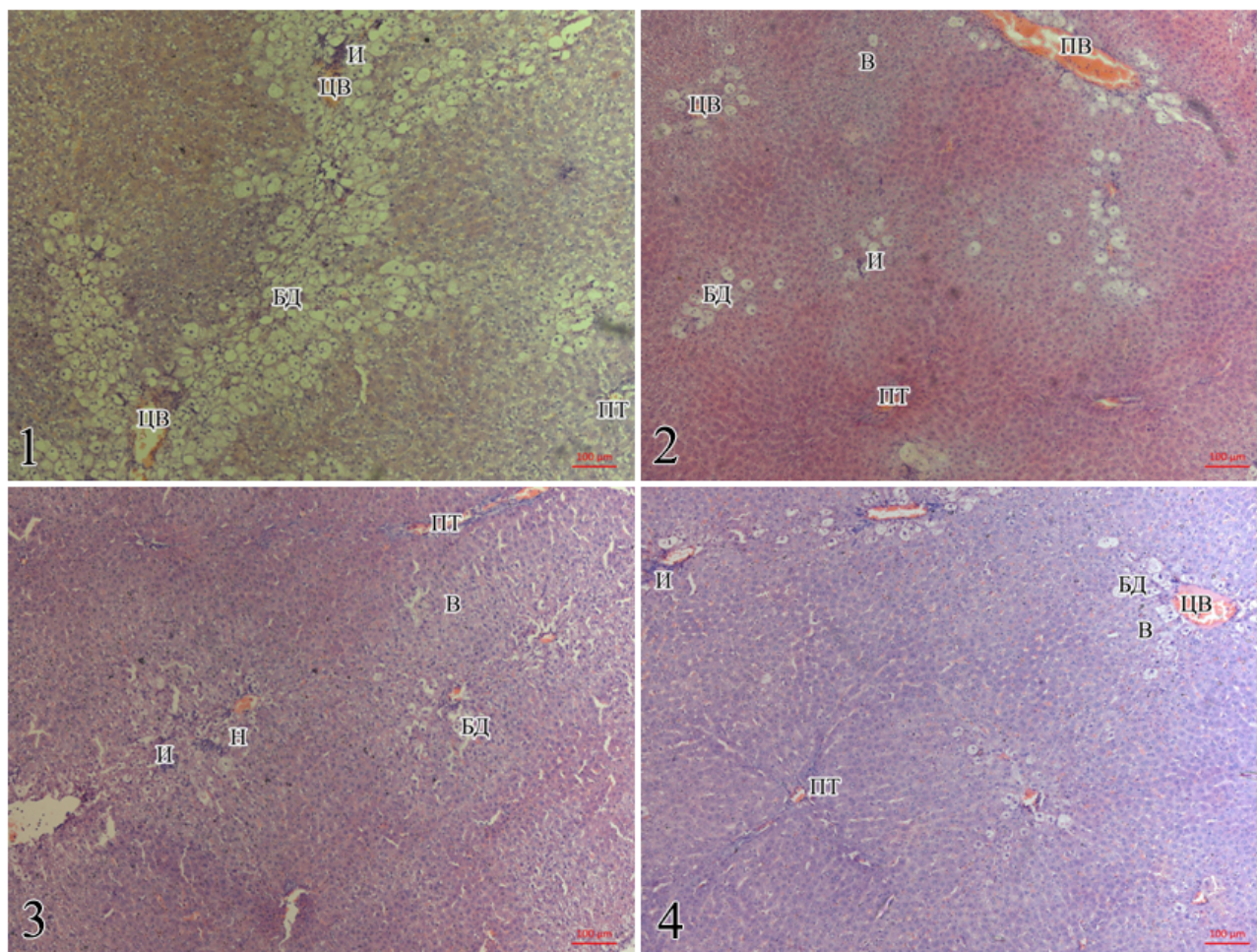


Рис. 1. Паренхима печени крысы через 24 часа после введения раствора тетрахлорметана

Рис. 2. Паренхима печени крысы через 24 часа после введения раствора тетрахлорметана с последующей коррекцией препаратом Гептор

Рис.3. Паренхима печени крысы через 24 часа после введения раствора тетрахлорметана с последующей коррекцией препаратом Мексидол

Рис. 4. Паренхима печени крысы через 24 часа после введения раствора тетрахлорметана с последующей коррекцией оксиметилурацилом

БД – баллонная дегенерация, В – вакуольная дистрофия, И – воспалительный клеточный инфильтрат, Н – некроз гепатоцитов, ПВ – поддольковая вена, ПТ – портальный тракт, ЦВ – центральная вена. Окраска гематоксилин-эозин. Увел. X100.

При коррекции препаратом оксиметилурацил у одной крысы обнаруживалась баллонная дегенерация гепатоцитов в центрлобулярной зоне, у остальных крыс – только в единичных гепатоцитах (рис. 4). У крыс гидропическая дистрофия ограничивалась только центрлобулярной зоной печеночного ацинуса и сопровождалась минимальной клеточной инфильтрацией. У одной крысы обнаруживались только незначительные дистрофические изменения. По сравнению с другими группами с коррекцией, в этой группе дистрофические и дегенеративные изменения были менее распространены.

В острых экспериментах с тетрахлорметановой интоксикацией, длящихся не более 14 дней в паренхиме печени крыс группы положительного контроля обычно обнаруживают нарушение радиального балочного построения гепатоцитов, дегенерацию гепатоцитов, некроз центролобулярных гепатоцитов, воспалительную клеточную инфильтрацию, цитоплазматическую вакуолизацию, жировую дегенерацию, расширение синусоид, застой кровеносных сосудов [3, 4, 5]. Через 24 часа после введения тетрахлорметана в печени крыс некоторые исследователи [4] обнаруживали также апоптоз клеток, центролобулярный и мостовидный некроз. Ультрамикроскопически при тетрахлорметановом повреждении печени выявляются обширное повреждение клеток печени, повреждение структуры ядер, значительное расширение эндоплазматических сетей, появление больших липидных вакуолей, потеря гликогена [3]. В основном вышеописанные микроскопические изменения обнаруживались в паренхиме печени крыс в настоящем исследовании в группе без коррекции.

При коррекции или профилактическом введении гепатопротекторных препаратов в паренхиме печени могут наблюдаться уменьшение повреждений, восстановление структуры печени, преобладание фокального некроза над центролобулярным, уменьшение воспалительной инфильтрации [3,5], ультрамикроскопически – восстановление повреждений мембраны ядер и расширений эндоплазматических сетей [3]. В исследовании [7] интоксикацию мышей тетрахлорметаном в дозе 0,5 мл/кг корректировали силимарином и байкалином за 30 минут до введения и через 2 часа после введения токсиканта. Печень животных через 24 часа после введения тетрахлорметана подвергалась гистологической обработке. В группах с коррекцией обнаруживали улучшения картины печени в виде минимального некроза, в то время как в группе без коррекции некроз был обширным [7]. В настоящем исследовании мы также обнаружили, что в группах с коррекцией некротические и дистрофические изменения были менее распространены, что, возможно, говорит о гепатопротекторном эффекте этих препаратов при гистологическом исследовании уже на ранних сроках токсического поражения печени.

Таким образом, через 24 часа после введения тетрахлорметана дегенеративные и дистрофические изменения в печени крыс были менее распространены в группе с коррекцией оксиметилурацилом, чем в группах с коррекцией препаратами Мексидол и Гептор.

#### **Список литературы:**

1. Семенова Е. В. Гепатопротекторная активность некоторых производных 3-гидроксипиридина при токсических повреждениях печени [диссертация]. Саранск: Мордовский государственный ун-т им. Н.П. Огарева; 2009.
2. Чаиркина Н.В., Инчина В.И., Семенова Е.В., Семенов А.В., Исаак И.Н. Возможности коррекции гибридными антиоксидантами морфофункциональных изменений при токсическом повреждении печени. Морфологические ведомости. 2007;1(1-2):232-6.
3. Shah M. D., D'souza U. J., Iqbal M. The potential protective effect of *Commelina nudiflora* L. against carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatotoxicity in rats, mediated by suppression of oxidative stress and inflammation. *Environ Health Prev Med.* 2017; 22(1):66.

4. Yang C., Li L., Ma Z., Zhong Y., Pang W., Xiong M., et al. Hepatoprotective effect of methyl ferulic acid against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Exp Ther Med*. 2018; 15(3):2228-38.
5. Zhou C., Yin S., Yu Z., Feng Y., Wei K., Ma W., et al. Preliminary characterization, antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from Taishan *Pinus massoniana* pollen. *Molecules*. 2018; 23(2):281.
6. Репина Э.Ф., Хуснутдинова Н.Ю., Тимашева Г.В., Байгильдин С.С., Каримов Д.О., Мусина Л.А. и соавт. Морфологические особенности гепатопротекторного действия антигипоксантов при остром поражении печени тетрахлорметаном в эксперименте. *Токсикологический вестник*. 2019;154(1):43-8.
7. Park S.W., Lee C.H., Kim Y.S., Kang S.S., Jeon S.J., Son K., et al. Protective effect of baicalin against carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice. *J Pharmacol Sci*. 2008;106(1):136-143.

#### References:

1. Semenova E.V. Hepatoprotective activity of some derivatives of 3-hydroxypyridine in toxic liver damage [dissertation]. Saransk: Mordovian State University named after NP Ogareva; 2009.
2. Chairkina N.V., Inchina V.I., Semenova E.V., Semenov A.V., Isaak I.N. Possibilities for the correction of morphofunctional changes in toxic liver damage by hybrid antioxidant. *Morfologicheskiye vedomosti*. 2007;1(1-2): 232-6.
3. Shah M.D., D'souza U.J., Iqbal M. The potential protective effect of *Commelina nudiflora* L. against carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatotoxicity in rats, mediated by suppression of oxidative stress and inflammation. *Environ Health Prev Med*. 2017; 22(1):66.
4. Yang C., Li L., Ma Z., Zhong Y., Pang W., Xiong M., et al. Hepatoprotective effect of methyl ferulic acid against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Exp Ther Med*. 2018; 15(3):2228-38.
5. Zhou C., Yin S., Yu Z., Feng Y., Wei K., Ma W., et al. Preliminary characterization, antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from Taishan *Pinus massoniana* pollen. *Molecules*. 2018; 23(2):281.
6. Repina E.F., Khusnutdinova N.Yu., Timasheva G.V., Baygildin, S.S., Karimov D.O., Musina L. A., et al. Morphological features of the hepatoprotective action of antihypoxants in acute liver injury with carbon tetrachloride in the experiment. *Toksikologicheskiy vestnik*. 2019;154(1):43-8.
7. Park S.W., Lee C.H., Kim Y.S., Kang S.S., Jeon S.J., Son K., et al. Protective effect of baicalin against carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in mice. *J Pharmacol Sci*. 2008;106(1):136-143.

Поступила/Received: 31.08.2020

Принята в печать/Accepted: 02.09.2020