

DOI: 10.18499/2225-7357-2019-8-1-49-54

УДК 616.36-002-092.4:615.244:546.133.1

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© Коллектив авторов, 2019

Фармакологическая коррекция экспериментального острого токсического гепатита

Р. Г. Мязин*, Г. Л. Снигур, Д. Н. Емельянов, М. В. Чернышова

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России,
г. Волгоград, Россия

Цель работы – разработка новых методов лечения острых токсических гепатитов. Изучена динамика патологических изменений в ткани печени при острой интоксикации после фармакологической коррекции гипохлоритом натрия.

Материал и методы. Работа выполнена на 45 крысах-самцах, у которых экспериментально воспроизведена модель острого токсического гепатоза. 1-ю группу составляли интактные особи, 2-й группе животных интрагастрально вводили аллиловый спирт с формированием у них острого токсического гепатоза, у 3-й группы крыс острый токсический гепатоз, вызванный введением аллилового спирта, корректировали гипохлоритом натрия, у 4-й группы медикаментозную коррекцию острого токсического гепатоза проводили с помощью эссенциале Н, животным 5-й группы фармакологическую коррекцию гепатоза проводили сочетанным применением гипохлорита натрия и эссенциале Н. На 6-е сут животных выводили из эксперимента с последующим гистологическим исследованием ткани печени.

Результаты. Введение аллилового спирта сопровождалось выраженными изменениями гепатоцитов в виде дистрофических, некротических процессов и нарушения кровообращения в печеночных долях. Фармакологическая коррекция гипохлоритом натрия, эссенциале Н или их комбинацией не способствовала полному гистологическому восстановлению гепатоцитов печени, однако под влиянием гипохлорита натрия или его комбинации с эссенциале Н степень выраженности жировой дистрофии существенно уменьшалась.

Выводы. Применение гипохлорита натрия в качестве монотерапии или в комбинации его с эссенциале Н при острым токсическим гепатите способствует снижению степени тяжести жировой дистрофии печени. 0.03% раствор гипохлорита натрия может быть эффективен как в качестве самостоятельного метода лечения острого токсического гепатита, так и в комбинации с другими гепатопротекторами.

Ключевые слова: острый токсический гепатит, аллиловый спирт, гипохлорит натрия, эссенциале Н, гепатоциты, химическое и лекарственное повреждение печени.

Pharmacological Correction of Experimental Acute Toxic Hepatitis

© R.G. Myazin*, G.L. Snigur, D.N. Emel'yanov, M.V. Chernyshova, 2019

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

The aim of study was to develop new methods of treatment of acute toxic hepatitis. To achieve this objective, the authors investigated dynamics of pathological changes in the hepatic tissue under acute intoxication followed by the pharmacological correction with sodium hypochlorite.

Material and methods. The study included 45 male rats that were subjected to the experimental simulation of acute toxic hepatitis. Group 1 included intact animals; group 2 included animals that were intragastrically administered allyl alcohol resulting in acute toxic hepatitis; group 3 included rats with acute toxic hepatitis caused by allyl alcohol introduction that was corrected by sodium hypochlorite; group 4 included animals with acute toxic hepatitis corrected by essential N; group 5 included animals with acute toxic hepatitis corrected by the combined application of sodium hypochlorite and essential N. On the 6th day the animals were removed from the experiment with the followed histological examination of the hepatic tissue.

Results. The introduction of allyl alcohol was accompanied by significant changes in hepatocytes expressed by dystrophic, necrotic processes and circulatory disorders of the hepatic lobules. Pharmacological correction by sodium hypochlorite, essential H, or their combination did not result in the complete histological recovery of hepatocytes; however, the degree of fatty degeneration decreased significantly under the influence of sodium hypochlorite or its combination with essential N.

Conclusions. The application of sodium hypochlorite as a monotherapy or in combination with essential N in acute toxic hepatitis has allowed to relieve the severity of fatty liver disease. 0.03% solution of sodium hypochlorite can be effective as both - an independent method for treating acute toxic hepatitis, and in combination with other hepatoprotectors.

Key words: acute toxic hepatitis, allyl alcohol, sodium hypochlorite, essential N, hepatocytes, chemical and drug induced liver injury.

***Автор для переписки:**

Мязин Роман Геннадиевич
Кафедра пропедевтики внутренних болезней, ФГБОУ
ВО «Волгоградский государственный медицинский
университет» Минздрава России, пл. Павших борцов,
1, г. Волгоград, 400131, Российская Федерация.
E-mail: naclo@mail.ru

***Corresponding author:**

Roman Myazin
Department of Internal Medicine Propaedeutics,
Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh bortsov,
1, Volgograd, 400131, Russian Federation
E-mail: naclo@mail.ru

Введение

Токсические поражения печени характеризуются многообразием этиологических факторов, сложностью патогенеза и полиморфным течением, что создает трудности в лечении [8, 17]. В связи с этим актуальными являются поиски новых методов фармакотерапии [4, 13]. Перспективным направлением является применение гипохлорита натрия для лечения токсических гепатитов различной этиологии.

Известно, что гипохлорит натрия инактивирует в крови повышенные концентрации эндо- и экзотоксинов, уменьшает холестаз, улучшает реологические свойства крови и микроциркуляцию в тканях печени [3, 6, 7]. Такие эффекты обуславливают необходимость всестороннего изучения гипохлорита натрия в качестве фармакологического средства при лечении токсической патологии гепатобилиарной системы.

Целью настоящего экспериментального исследования стала разработка новых методов лечения острых токсических гепатитов. Для этого проведено сравнительное гистологическое исследование ткани печени после моделирования отравления специфическими гепатотоксическими ядами, воспроизводящими острую форму токсического повреждения ткани печени у групп лабораторных животных, получавших и не получавших в дальнейшем гипохлорит натрия или препарат сравнения.

Материал и методы исследования

Экспериментальные исследования проведены на 45 половозрелых беспородных белых крысах-самцах массой тела 180–200 г, полученных из питомника ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Животные содержались в стандартных условиях вивария кафедры биологии ФГБОУ ВО «ВолГМУ» Минздрава России и лаборатории морфологии, иммуногистохимии и канцерогенеза при ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр». Содержание животных и эксперименты выполнены в соответствии с приказом Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г., Европейской Конвенцией о защите позвоночных

животных, используемых для экспериментов или в других научных целях (Страсбург, 18.03.1986 г.) и Федеральным законом РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.12.1999 г.

В качестве отравляющего агента для формирования острого токсического гепатита использовали аллиловый спирт (ГОСТ 12.1.007-76. Вредные вещества), окисляемый цитозольной и митохондриальной алкоголь-дегидрогеназами в электрофильный метаболит акролеин, и повреждающий перипортальные гепатоциты вследствие дефицита в них восстановленного глутатиона [1, 2, 14].

Моделирование острого токсического гепатоза у лабораторных животных проводили интрагастральным введением 99% аллилового спирта в дозе 0.05–0.1 мл/кг из расчета 1 мл вводимой жидкости, содержащей 0.0135 мл отравляющего вещества на крысу средним весом 180 г. Аллиловый спирт в указанной дозе вводили животным интрагастрально ежедневно в 1-й и 2-й дни эксперимента для формирования острого повреждения паренхимы печени [1]. На 3-, 4- и 5-й дни эксперимента животным проводили медикаментозную коррекцию путем интрагастрального введения гепатопротектора (гипохлорита натрия, эссенциале Н или их сочетания).

Свежеприготовленный раствор гипохлорита натрия в концентрации 300 мг/л (0.03%) объемом 5 мл вводили животным интрагастрально ежедневно в течение 3 дней. В качестве базисного гепатопротектора использовали раствор эссенциале Н объемом 1 мл, который вводили интрагастрально ежедневно также на протяжении 3 дней.

Лабораторные животные были разделены на 5 экспериментальных групп (табл. 1). Первую группу (n=5) составили интактные животные. Вторую (n=10) – животные, которым интрагастрально вводили аллиловый спирт в 1-й и 2-й дни эксперимента по вышеописанной методике для формирования острого токсического гепатоза. В третьей группе (n=10) после моделирования острого токсического гепатоза, на 3-, 4- и 5-е сут проводили медикаментозную коррекцию гипохлоритом натрия по изложенной методике. Животным четвертой группы (n=10) медикаментозную коррекцию острого токсического гепатоза на 3-е – 5-е сут проводили с помощью эссенциале Н по изложенной методике. Пятая группа (n=10) включала крыс, которым после моделирования острого токсического гепатоза с 3-го по 5-й дни эксперимента интрагастрально вводили эссенциале Н и гипохлорит натрия по изложенной методике.

При экспериментальном токсическом поражении печени у лабораторных животных, начиная с 7-х сут острая интоксикация печени, как правило, уже трансформируется в хроническую. Поэтому задачей исследования

Таблица 1

Экспериментальные группы лабораторных животных (n=45)

№ п/п	Группы	Количество животных
I	Интактные животные	5
II	Токсический гепатоз	10
III	Токсический гепатоз + гипохлорит натрия	10
IV	Токсический гепатоз + эссенциале Н	10
V	Токсический гепатоз + эссенциале Н + гипохлорит натрия	10

Таблица 2

Патоморфологические и морфометрические критерии острого токсического гепатоза печени при введении аллилового спирта и его фармакологической коррекции

№ п/п	Группы	Доля клеток с признаками альтерации, %	Диаметр вакуолей, мкм (M±m)	Степень жировой дистрофии (баллы)
I	Интактные животные	0.7±0.009	3.4±0.02	0
II	Острый токсический гепатоз	32.6±1.4*	8.5±0.1	3
III	Острый токсический гепатоз + гипохлорит натрия	25.1±2.0	7.6±0.8	2
IV	Острый токсический гепатоз + эссенциале Н	36.8±1.9	9.0±0.5	3
V	Острый токсический гепатоз + эссенциале Н + гипохлорит натрия	19.9±1.2	6.9±0.7	2

Примечание: * – достоверно по отношению к интактному контролю ($p < 0.05$).

стало завершение эксперимента до перехода острого токсического повреждения печени в хроническую форму.

На 6-е сут животных выводили из эксперимента с последующим гистологическим исследованием ткани печени. Полученный материал фиксировали в 10% растворе нейтрального забуференного формалина (pH 7.4) в течение 24 часов. На ротаторном микротоме изготавливали срезы толщиной 5–6 мкм и монтировали их на предметные стекла. Для обзорных целей микропрепараты окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятым гистологическим методикам [9–12, 14, 15, 16, 18]. Для выявления степени жирового гепатоза изготавливали срезы толщиной до 20 мкм на замораживающем микротоме с электроприводом и микропроцессорным управлением (МПЗ-01 ТЕХНОМ, Россия) и окрашивали их суданом III по общепринятым методикам [5]. При гистологическом исследовании выявляли общепатологические изменения: нарушение желче- и кровообращения, некрозы гепатоцитов, белковую и жировую дистрофию гепатоцитов и признаки их репаративной регенерации.

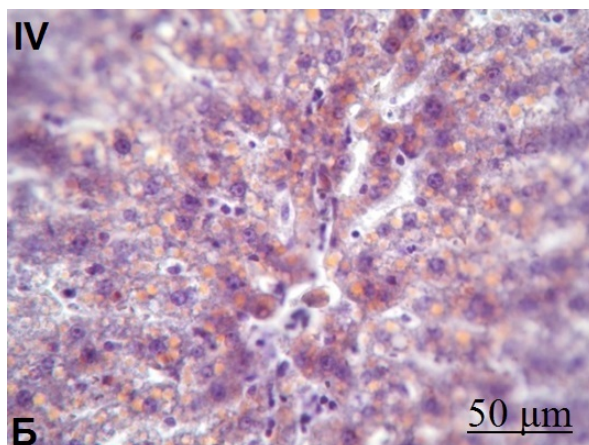
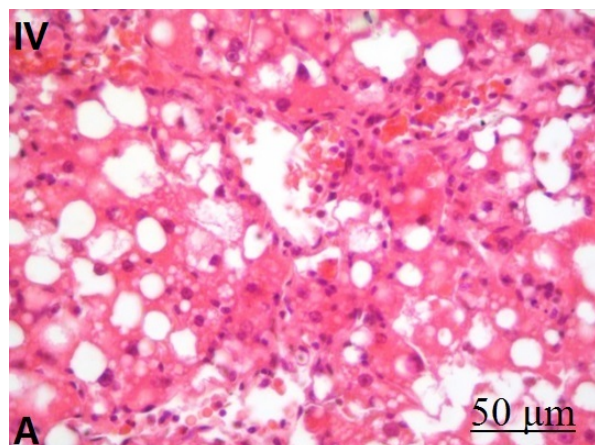
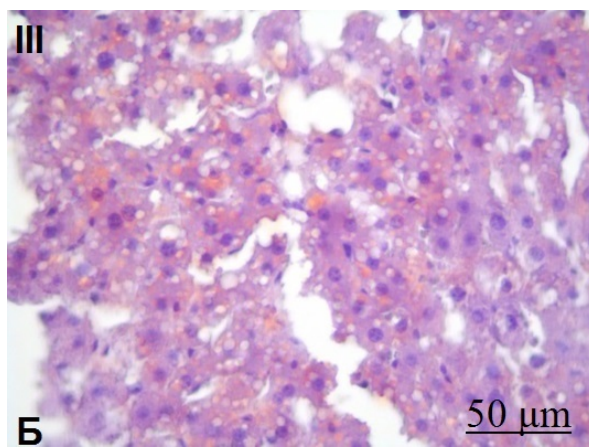
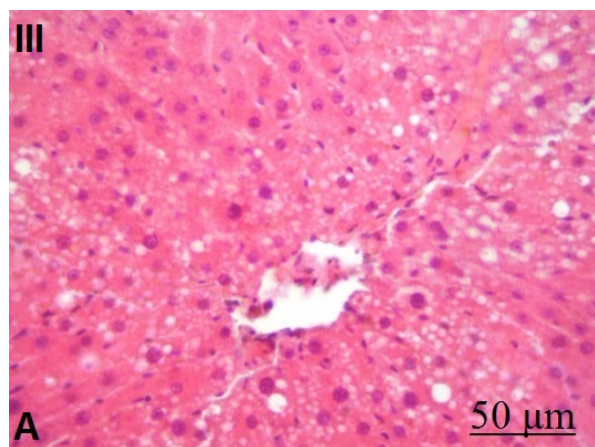
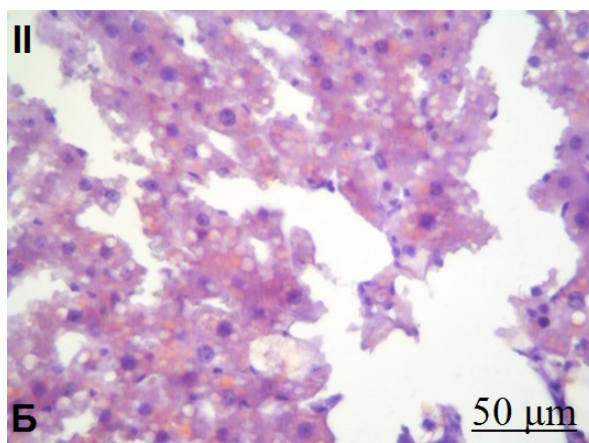
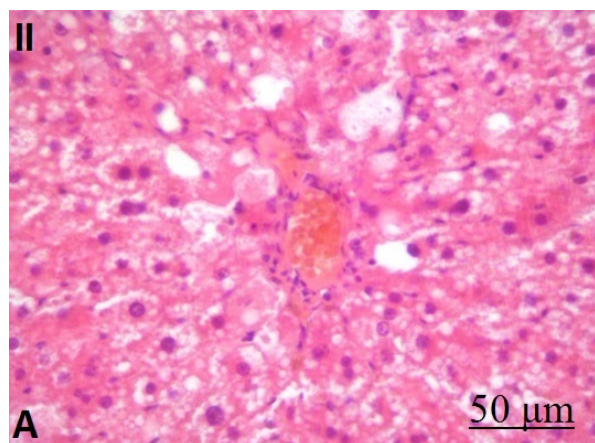
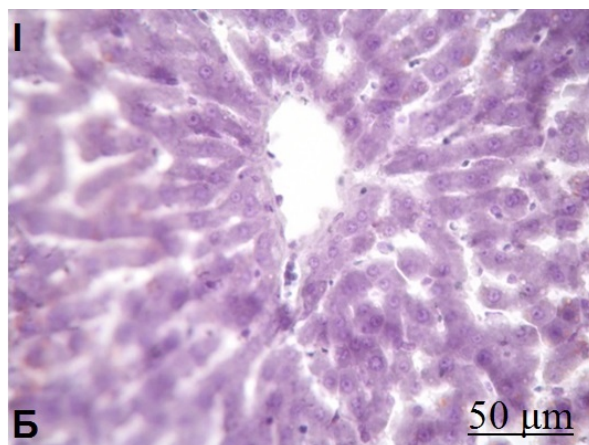
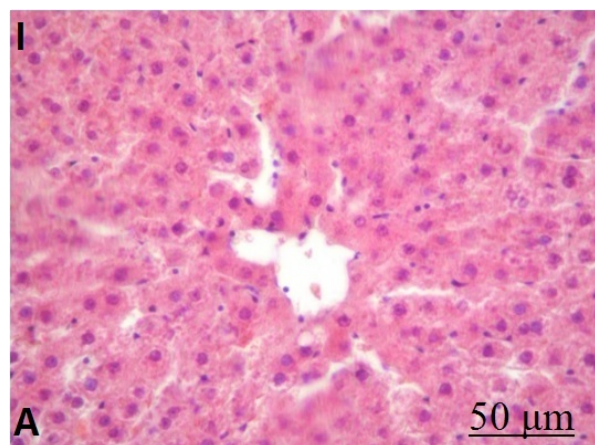
Фотопротоколирование микроскопических изменений проводили с использованием комплекса из микроскопа «Axio Scope» (Carl Zeiss, Германия) и цифровой фотокамеры «Power Shot» (Canon, Япония). Морфометрический анализ проводили с помощью компьютерной программы «Видео ТестМорфо-4» (Россия). Определяли удельное количество гепатоцитов с признаками повреждения по отношению ко всем клеткам печеночной дольки (%).

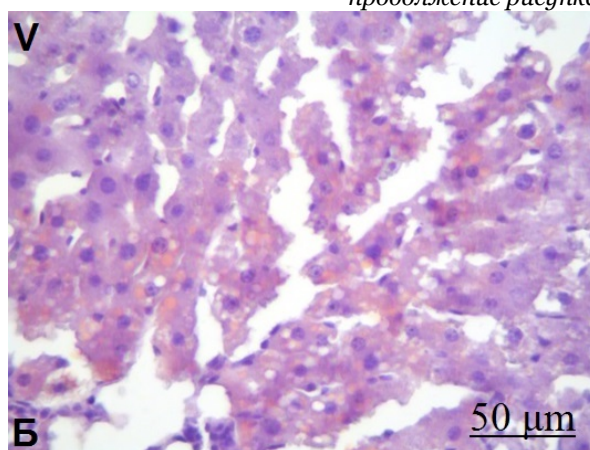
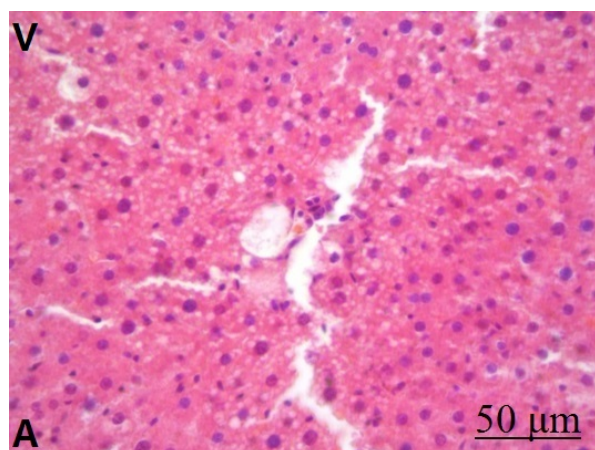
Результаты обрабатывались методами базисного статистического анализа на ПК с использованием программ «Видео ТестМорфо-4», Excel Microsoft Office (Microsoft, USA) и STATISTICA 6.0 (Stat Soft Inc., USA). Анализ параметров при нормальном распределении значений проводили с помощью критерия Стьюдента. Значимыми считали различия, если вероятность ошибки $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

У животных интактной группы при микроскопическом исследовании гистологическая структура печени соответствовала возрастной норме. В печеночных дольках отчетливо визуализировались центральные вены, портальные тракты и гепатоциты без признаков повреждения. Признаки нарушения крово- и желчеобращения отсутствовали. Жировые вакуоли встречались в единичных случаях в виде мелких цитоплазматических включений в отдельно расположенных гепатоцитах (табл. 2, рис. 1).

При моделировании острого токсического гепатоза в большинстве микропрепаратов отмечались явления нарушения кровообращения печеночных долек в виде умеренного или выраженного полнокровия центральных вен, синусоидных капилляров, очаговых кровоизлияний (преимущественно в центральных зонах печеночных долек) с умеренной дискомплексацией печеночных балок. Явления жирового гепатоза носили умеренно выраженный характер. Жировые включения отмечались преимущественно в гепатоцитах центральнобулярных зон печеночных долек в





продолжение рисунка

Рис. Патоморфологические изменения перипортальных отделов печеночных долек при моделировании острого токсического гепатоза аллиловым спиртом с его последующей фармакологической коррекцией. Обозначения: I – интактный контроль, II – острый токсический гепатоз, III – коррекция острого токсического гепатоза гипохлоритом натрия, IV – коррекция острого токсического гепатоза эссенциале Н, V – сочетанная коррекция острого токсического гепатоза эссенциале Н и гипохлоритом натрия; А – окраска гематоксилином и эозином; Б – окраска суданом III. Ув. 400.

виде накоплений крупных или средних цитоплазматических судан III позитивных включений. Наравне с жировой дистрофией отмечались выраженные явления гидропической дистрофии с единичными колликвационными некрозами гепатоцитов в составе отдельных печеночных балках. Отмечались признаки умеренно выраженного холестаза в виде расширения и переполнения желчью протоков и капилляров (табл. 2, рис. 1).

При медикаментозной коррекции острого токсического гепатоза гипохлоритом натрия, определялись признаки нарушения кровообращения печеночных долек с сохранением умеренного полнокровия центральных вен и синусоидных капилляров. Кровоизлияния отсутствовали. Отмечался незначительный жировой гепатоз. Жировые вакуоли имели средние размеры. Гидропическая дистрофия визуализировалась в гепатоцитах центральных отделов долек. Признаки холестаза не визуализировались (табл. 2, рис. 1).

При коррекции острого токсического гепатоза эссенциале Н, наблюдались умеренно выраженные явления нарушения кровообращения печеночных долек в виде полнокровия центральных вен и синусоидов, очаговых кровоизлияний. Дистрофические изменения затрагивали преимущественно центральные отделы долек и были представлены умеренной жировой и выраженной гидропической дистрофией. Печеночные балки имели неровные контуры за счет некротически измененных гепатоцитов (табл. 2, рис. 1).

При сочетанной медикаментозной коррекции острого токсического гепатоза эссенциале Н и гипохлоритом натрия отмечалось полнокровие синусоидных капилляров, умеренное полнокровие центральных вен. Признаки холестаза и кровоизлияния отсутствовали. В цитоплазме гепатоцитов портальных

зон содержались липидные вакуоли небольших размеров. Явления жирового гепатоза носили незначительный характер. Наравне с жировой дистрофией сохранялась гидропическая дистрофия гепатоцитов центральных отделов печеночных долек (табл. 2, рис. 1).

Выводы

Таким образом, проведенное морфологическое исследование выявило, что интрагастральное введение крысам аллилового спирта в изучаемой дозе сопровождается выраженными морфофункциональными изменениями гепатоцитов в виде дистрофических, некротических процессов и нарушения кровообращения в печеночных дольках.

Применение в качестве фармакологической коррекции острого жирового гепатоза гипохлорита натрия или его комбинации с эссенциале Н не приводят к полному восстановлению гепатоцитов, однако способствуют существенному уменьшению под степени выраженности жировой дистрофии.

Таким образом, использование 0.03% раствора гипохлорита натрия при лечении острого токсического гепатита оказывает положительный эффект как при монотерапии, так и в комбинации с другими гепатопротекторами.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Венгеровский А. И., Маркова И. В. Доклиническое изучение гепатопротективных средств. Ведомости Фармакологического Комитета. 1999; 2: 9–12 [Vengerovskii AI, Markova IV.

- Doklinicheskoe izucheniye gepatozashchitnykh sredstv. Vedomosti Farmakologicheskogo Komiteta. 1999;(2):9–12] (in Russian).
- Голиков С. Н., Санотский И. В., Тиунов Л. А. Общие механизмы токсического действия. М.; 1986. 280 [Golikov SN, Sanotskii IV, Tiunov LA. Obshchie mekhanizmy toksicheskogo deistviya. Moscow; 1986] (in Russian).
 - Емельянов Д. Н., Мязин Р. Г. Оценка влияния терапии гипохлоритом натрия на перекисное окисление липидов, антиоксидантную защиту, синдромы цитолиза и холестаза у больных токсическими гепатитами. Вестник АГИУВ. 2013; 4: 79–81 [Yemelyanov DN, Myazin RG. Assessment of influence of therapy by sodium hypochlorite on perekisny oxidation of lipids, antioxidatic protection, syndromes of cytolysis and a cholestasia at patients with toxic hepatitis. Herald of Almaty State Institute of Advanced Medical Education. 2013;(4):79–81] (in Russian).
 - Ивашкин В. Т. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей. М.; 2005. 536 [Ivashkin VT. Bolezni pecheni i zhelchevyvodyashchikh putei: Rukovodstvo dlya vrachei. Moscow; 2005] (in Russian).
 - Коржевский Д. Э., Гиляров А. В. Основы гистологической техники. СПб.: СпецЛит; 2010. 95 [Korzhevskii DE, Gilyarov AV. Osnovy gistologicheskoi tekhniki. Saint Petersburg: SpetsLit; 2010] (in Russian).
 - Лопаткин Н. А., Лопухин Ю. М. Эфферентные методы в медицине. М.; 1989. 352 [Lopatkin NA, Lopukhin YuM. Efferentnye metody v meditsine. Moscow; 1989].
 - Мязин Р. Г. Патент РФ № 2275921; 2006 [Myazin RG. Patent RF № 2275921; 2006]. URL: <https://patents.google.com/patent/RU2275921C2/ru> (дата обращения: 31.08.2018)
 - Подымова С. Д. Болезни печени: Руководство для врачей. М.; 2018. 984 [Podymova SD. Bolezni pecheni: Rukovodstvo dlya vrachei. Moscow: Medical information Agency; 2018].
 - Araújo Júnior RF de, Garcia VB, Leitão RF de C, Brito GA de C, Miguel E de C, Guedes PMM, et al. Carvedilol Improves Inflammatory Response, Oxidative Stress and Fibrosis in the Alcohol-Induced Liver Injury in Rats by Regulating Kupfer Cells and Hepatic Stellate Cells. Avila MA, editor. PLOS ONE. 2016 Feb 18;11(2):e0148868. doi: 10.1371/journal.pone.0148868
 - Brunt EM, Gouw ASH, Hubscher SG, Tiniaikos DG, Bedossa P, Burt AD, et al. Pathology of the liver sinusoids. Histopathology. 2014 Mar 8;64(7):907–20. doi: 10.1111/his.12364
 - Elsweify SE-S, Abdallah FR, Atteia HH, Wahba AS, Hasan RA. Inflammation, oxidative stress and apoptosis cascade implications in bisphenol A-induced liver fibrosis in male rats. International Journal of Experimental Pathology. 2016 Oct;97(5):369–79. doi: 10.1111/iep.12207
 - Germani G, Burroughs AK, Dhillion AP. The relationship between liver disease stage and liver fibrosis: a tangled web. Histopathology. 2010 Aug 31;57(6):773–84. doi: 10.1111/j.1365-2559.2010.03609.x
 - Kanel GC. Pathology of liver diseases. Chichester, West Sussex: Wiley Blackwell; 2017.
 - Mourelle M, Favari L, Amezcua JL. Protection against thallium hepatotoxicity by Silymarin. Journal of Applied Toxicology. 1988 Oct;8(5):351–4. doi: 10.1002/jat.2550080503
 - Rasineni K, Penrice DD, Natarajan SK, McNiven MA, McVicker BL, Kharbanda KK, et al. Alcoholic vs non-alcoholic fatty liver in rats: distinct differences in endocytosis and vesicle trafficking despite similar pathology. BMC Gastroenterology. 2016 Feb 29;16(1). doi:10.1186/s12876-016-0433-4
 - Wang L, Huang Q-H, Li Y-X, Huang Y-F, Xie J-H, Xu L-Q, et al. Protective effects of silymarin on triptolide-induced acute hepatotoxicity in rats. Molecular Medicine Reports. 2017 Nov 3;17(1):789–800. doi: 10.3892/mmr.2017.7958
 - Xiao S-Y, Oshima K. Liver pathology. New York Demos Medical; 2015.
 - Zhang Y, Luo J, Hu X, Yang F, Zhong S, Lin W. Improved prescription of taohechengqi-tang alleviates D-galactosamine acute liver failure in rats. World Journal of Gastroenterology. 2016;22(8):2558–65. doi: 10.3748/wjg.v22.i8.2558

Поступила в редакцию 11.01.2019

Принята в печать 14.03.2019

Received 11.01.2019

Accepted 14.03.2019

Для цитирования: Мязин Р. Г., Снигур Г. Л., Емельянов Д. Н., Чернышова М. В. Фармакологическая коррекция экспериментального острого токсического гепатита. Журнал анатомии и гистопатологии. 2019; 8(1): 49–54. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-1-49-54.

For citation: Myazin RG., Snigur GL., Emel'yanov DN., Chernyshova MV. Pharmacological correction of experimental acute toxic hepatitis. Journal of Anatomy and Histopathology. 2019; 8(1): 49–54. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-1-49-54.