

С.В. Пронина, А.С. Фомина

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТИМУСЕ СИРИЙСКОГО ХОМЯКА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ ЦЕСТОДОЙ *DIPHYLLOBOTHRIMUM DENDRITICUM* (PSEUDOPHYLLIDEA: DIPHYLLOBOTHRIIDAE)

Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)

*Морфофункциональные изменения в тимусе хомяков свидетельствуют о достаточно высоком иммуногенном действии антигенов *Diphyllobothrium dendriticum* на случайного дефинитивного хозяина в период активного роста паразитов.*

Ключевые слова: лентец чаечный, сирийский хомяк, лимфоциты, тучные клетки

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN THE HAMSTER'S THYMUS AT EXPERIMENTAL INFECTION BY *DIPHYLLOBOTHRIMUM DENDRITICUM* (PSEUDOPHYLLIDEA: DIPHYLLOBOTHRIIDAE)

S.V. Pronina, A.S. Fomina

Buryat State University, Ulan-Ude

*Morphofunctional changes in the hamster's thymus testify about strong immunological reaction to casual host which caused by high level of antigen reaction of *Diphyllobothrium dendriticum* in a stage of active growth.*

Key words: gull-tapeworm, Syrian hamster, lymphocyte, mast cell

Дифиллоботриоз занимает особое место среди паразитарных инвазий в Республике Бурятия и представляет актуальную социально-медицинскую проблему в связи с большой распространенностью и ростом заболеваемости населения. В северных районах Сибири и в Прибайкалье основным возбудителем дифиллоботриоза человека и животных является лентец чаечный *Diphyllobothrium dendriticum* (Nitsch, 1824). Это связано с тем, что доминантным дополнительным хозяином лентеца чаечного в водоемах Байкальского бассейна является байкальский омуль — *Coregonus autumnalis migratorius* (Gregori, 1775), экстенсивность заражения которого в разных районах оз. Байкал может достигать 100 %.

Установлено, что паразит может вызывать анемию у человека [7, 9], воспалительные и дегенеративные процессы в пищеварительном тракте у чайки (облигатного хозяина) [6], при высокой интенсивности инвазии атрофию в органах пищеварительной системы у хомяков (в эксперименте) [8], снижение функциональной активности Т- и В-клеточного звена иммунитета у серебристой чайки при экспериментальном заражении [5].

Иммунный процесс при гельминтозах представляет собой цепь дифференцировок иммунокомпетентных клеток хозяина под воздействием антигенов, выделяемых паразитом [4]. При этом состояние и активность тимуса, как центрального органа иммунитета, в котором происходит антигеннезависимая пролиферация и дифференцировка Т-лимфоцитов, во многом определяют выраженность защитных реакций всего организма [9]. Имеется большой фактический материал по структурным и функциональным изменениям в органах иммунной защиты человека и животных при воздействии различных

экзогенных и эндогенных факторов. В то же время, данные о влиянии цестод на эти органы в научной литературе представлены слабо, а что касается дифиллоботриозной инвазии, то они отсутствуют. В данной работе приведены результаты изучения морфофункциональных изменений, вызываемых лентецом в тимусе дефинитивного хозяина, на примере экспериментальной модели «*D. dendriticum* — сирийский хомяк *Mesocricetus auratus*».

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментальной модели *D. dendriticum* — сирийский хомяк использованы животные обоего пола, средним весом 70 г, в возрасте 3 месяцев. Подопытные животные (12 экз.) были заражены однократно перорально живыми плероцеркоидами, полученными от байкальского омуля — облигатного дополнительного хозяина лентеца чаечного в оз. Байкал. Интенсивность инвазии составила 2 — 7 экз. паразитов на особь. В качестве контроля служил материал от 5 интактных хомяков. Эксперимент проводился согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных». Умерщвляли животных путем декапитации. Материал для исследования был взят на 3 и 8 сутки после заражения. Кусочки тимуса размером 0,5 × 0,5 см после получения отпечатков фиксировали 10% нейтральным формалином и жидкостью Карнуа. Парафиновые срезы толщиной 3 — 6 мкм окрашивали общими морфологическими методами: гематоксилином Эрлиха — эозином, по методу Маллори, азур II — эозином. Тучные клетки выявляли 0.5% водным раствором толуидинового синего. Отпечатки органа окрашивали азур-эозином по Романовскому — Гимза.

Микроморфологические изменения в тимусе оценивали согласно рекомендациям Автандилова (1990) [1]. На гистосреззах измеряли площадь, занимаемую корковым и мозговым веществом, тимическими тельцами (тельца Гассалья). В субкапсульной зоне, в корковом и мозговом веществе (на площади 1 мм²), а также на отпечатках органа подсчитывали относительное количество следующих видов клеток: бластные; большие, малые и средние лимфоциты; макрофаги; деструктивно измененные; тучные. В отпечатках подсчитывали по 500 клеток.

Результаты исследований статистически обрабатывали при помощи пакета программ «Statistica» для непараметрических данных (Mann – Whitney U-тест) при уровне достоверности $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Тимус у сирийского хомяка состоит из 6–8 долек разной формы (округлой, овальной, конусообразной). Снаружи каждая долька покрыта тонкой соединительнотканной капсулой, от которой отходят трабекулы, проникая в корковое вещество на разную глубину. Паренхима долек четко подразделяется на периферическое более темное корковое вещество и центральное светлое мозговое. В мозговом веществе долек, как и у других млекопитающих, содержатся тимические тельца.

В тимусе зараженных хомяков на 3 сутки наблюдается венозное полнокровие в кортико-медулярной и медулярной зонах дольки, небольшие очаговые отеки вокруг сосудов. На 8 сутки многие сосуды запустевшие, в медулярной зоне отмечается склероз стенок кровеносных сосудов с облитерацией у некоторых просвета. Склеротическим изменениям подвержена и строма медулярной зоны, где грубые коллагеновые волокна располагаются по одиночке или в виде сети. Вблизи слоистых телец сеть коллагеновых волокон более плотная. В мозговом веществе выявляются небольшие скопления адипоцитов. У зараженных особей граница между корковым и мозговым веществом в дольках тимуса становится неровной за счет глубокой инверсии слоев друг в друга. Доля мозгового вещества тимуса достоверно увеличивалась почти в полтора раза. У интактных животных на мозговое вещество приходится 28.3 ± 3.44 % от общей площади дольки, у зараженных хомяков оно составляет 41.4 ± 2.55 %. В то же время, выраженно снижена абсолютная концентрация лимфоидной ткани в тимусе зараженных хомяков, по-видимому, не происходит, поскольку у зараженных особей лимфоциты располагаются в корковом веществе плотнее, а в мозговом они образуют плотные скопления в виде тяжелей и округлых образований вокруг кровеносных сосудов. Плотность лимфоцитов в поле зрения микроскопа в корковом веществе интактных животных составляла 146 ± 5.12 клеток, у зараженных — 166 ± 4.54 клеток. В медулярной зоне этот показатель у зараженных животных также выше по сравнению с интактными хомяками (85.6 ± 3.31 и 62.2 ± 1.40 клеток соответственно). При инвазии наблюдалось увеличение размера и

количества слоистых или тимических телец (тельца Гассалья). У интактных животных на их долю приходится 1.86 ± 0.12 % от общей площади дольки, у зараженных особей она составила 7.15 ± 0.46 %.

У зараженных хомяков по сравнению с интактными изменяется процентное соотношение разных видов лимфоцитов в функциональных зонах долек тимуса (табл. 1). Относительное содержание больших лимфоцитов у зараженных особей во всех зонах больше: в субкапсульной в 2.5 раза, в корковой зоне в 4, а в медулярной в 4.5 раза. Делящимися лимфоцитами у зараженных особей также богаче все функциональные зоны. Процент больших лимфоцитов у зараженных достоверно выше в корковом и мозговом веществе. По содержанию макрофагов функциональные зоны долек тимуса достоверно не различаются, хотя тенденция к увеличению их в зонах коркового и мозгового вещества у зараженных особей имеет место (табл. 1). В то же время у инвазированных хомяков относительное содержание малых и средних лимфоцитов меньше по сравнению с интактными. Статистически достоверное снижение количества малых лимфоцитов наблюдалось в субкапсульной и медулярной зонах, а средних лимфоцитов — только в корковом веществе (табл. 1).

В отпечатках тимуса отмечены сходные тенденции по относительному содержанию большинства видов клеток (табл. 2). Доля больших лимфоцитов у зараженных особей выше в 2 раза, бластных форм — в 3 раза, клеток с признаками деструктивных изменений — более чем в 1.5 раза, выше содержание и макрофагов, но разница по этому виду клеток не достоверна. Количество средних и малых лимфоцитов так же меньше у зараженных животных.

В тимусе зараженных хомяков по сравнению с интактными увеличивается и абсолютное содержание тучных клеток (11.9 ± 1.39 и 8.0 ± 1.35 клеток, соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты проведенного исследования показали, что в тимусе хомяков, зараженных лентецом *D. dendriticum*, на пике инвазионного процесса (8 сутки) наблюдающиеся деструктивные изменения свидетельствуют об умеренно выраженном инволюционном процессе в органе.

Обеднение коркового вещества малыми и средними лимфоцитами и изменение концентрации лимфоцитов вблизи кровеносных сосудов в медулярной зоне, указывают на усиление процесса миграции лимфоцитов из тимуса в периферические органы иммуногенеза и в слизистую пищеварительного тракта. Последнее подтверждается данными авторов [3], установившими двукратное увеличение интраэпителиальных лимфоцитов (являющихся Т-лимфоцитами) в собственной пластинке слизистой оболочки тонкой кишки хомяков, зараженных лентецом чаечным. Увеличение количества больших и бластных форм лимфоцитов, а так же числа делящихся клеток является показателем усиления пролиферации лимфоцитов, направленной

Таблица 1

Процентное соотношение клеток ($M \pm m_x$) в функциональных зонах тимуса сирийского хомяка в норме (интактные животные) и при заражении лентецом чаечным *D. dendriticum*

Виды клеток	Субкапсулярная зона		Корковая зона		Медуллярная зона	
	Интактные животные	Зараженные животные	Интактные животные	Зараженные животные	Интактные животные	Зараженные животные
Б. Л.	7.9 ± 1.50	19.9 ± 1.44*	3.2 ± 0.35	12.9 ± 1.31*	1.4 ± 0.35	6.1 ± 0.17*
С. Л.	32.3 ± 1.87	27.2 ± 2.05	35.2 ± 1.86	24.1 ± 2.87*	42.4 ± 3.40	47.4 ± 2.75
М. Л.	32.0 ± 1.87	22.1 ± 1.73*	49.4 ± 2.09	41.6 ± 4.29	38.9 ± 2.30	18.5 ± 1.74*
Б.	6.7 ± 1.19	8.2 ± 1.05	3.5 ± 0.93	6.5 ± 0.55*	1.2 ± 0.34	2.6 ± 0.49*
Дел.	1.3 ± 0.43	3.1 ± 0.57*	0.7 ± 0.14	2.0 ± 0.16*	0.4 ± 0.17	1.0 ± 0.16*
М.	5.9 ± 0.98	5.6 ± 0.79	1.8 ± 0.24	2.8 ± 0.61	2.5 ± 0.43	3.1 ± 0.30
Дес.	13.6 ± 1.37	13.9 ± 1.40	6.6 ± 0.54	10.5 ± 0.75*	13.5 ± 1.36	21.4 ± 1.14*

Примечание: Б.Л. – большие лимфоциты, С.Л. – средние лимфоциты, М.Л. – малые лимфоциты, Б. – бластные клетки, Дел. – делящиеся клетки, М. – макрофаги, Дес. – клетки с деструктивными изменениями. M – среднее арифметическое; m_x – ошибка среднего. * – достоверно относительно интактных животных при $p < 0$.

Таблица 2

Клеточный состав ($M \pm m_x$) тимуса сирийских хомяков (по отпечаткам)

Вид клеток	Интактные животные	Зараженные животные
Большие лимфоциты, %	1.20 ± 0.47	2.74 ± 0.28*
Средние лимфоциты, %	63.02 ± 3.20	45.90 ± 4.26
Малые лимфоциты, %	24.91 ± 2.04	18.22 ± 0.85*
Бластные формы, %	7.70 ± 0.82	25.60 ± 5.36*
Макрофаги, %	0.96 ± 0.25	1.90 ± 0.55
Клетки с деструктивными изменениями, %	2.2 ± 0.29	3.75 ± 0.49*

Примечание: M – среднее арифметическое; m_x – ошибка среднего. * – достоверно относительно интактных животных при $p < 0.05$.

ной на компенсацию повышенной миграции клеток из тимуса. Повышение количества лимфоцитов в мозговом веществе, вероятно, обусловлено и возвращением стимулированных антигеном лимфоцитов из лимфоидных образований кишечника и других периферических лимфоидных органов.

Количественные и качественные изменения лимфоцитов в функциональных зонах долек тимуса зараженных хомяков сопровождаются увеличением количества тучных клеток у этих особей. Это полифункциональные клетки. Известно, что гистамин, высвобождающийся при дегрануляции тучных клеток, повышает проницаемость стенки кровеносных сосудов, а также способен угнетать вызванную антигенами пролиферацию Т-лимфоцитов, высвобождение цитокинов из Т-клеток, дифференцировку В-лимфоцитов и угнетение продукции иммуноглобулинов, повышение активности НК-клеток [11]. Дифференцировка Т-лимфоцитов на субпопуляции происходит в кортико-медулярной зоне, затем клетки мигрируют в периферические лимфоидные органы [2]. Роль тучных клеток в тимусе хомяков, очевидно, не однозначна. Биологически активные вещества, выделяемые клетками, локализуясь вблизи кровеносных сосудов, повышают проницаемость стенки сосудов, обеспечивая успех миграции лимфоцитов из тимуса в кровяное русло. В мозговом веществе тимуса часто

встречаются тучные клетки, контактирующие с малыми лимфоцитами. Возможно, эти клетки участвуют в регуляции процессов дифференцировки и (или) оценки функционального потенциала тимоцитов, предназначенных для миграции из тимуса, а возможно и рециркулирующих Т-лимфоцитов, стимулированных паразитарными антигенами в периферических лимфоидных органах.

Полученные данные позволяют сделать заключение о том, что морфо-функциональные изменения в тимусе свидетельствуют о достаточно высоком иммуногенном действии антигенов лентеца чаечного на Т-звено иммунитета у необлигатного definitivoного хозяина.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 08-04-98035-р_сибирь_а и Бурятского госуниверситета «Инновационные и научные исследования – 2007». Выражаем глубокую благодарность за помощь в проведении эксперимента заведующему лаборатории паразитологии и экологии гидробионтов ИОЭБ СО РАН д.б.н. Н.М. Пронину и сотрудникам лаборатории к.б.н., И.А. Кутыреву, к.б.н. О.Е. Мазур, Л.В. Толочко.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфология: руководство / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 383 с.

2. Галактионов В.Г. Иммунология / В.Г. Галактионов. — М.: Академия, 2004. — 528 с.
3. Качина Е.А. Сравнительный анализ специфических и неспецифических реакций у необлигатных хозяев при инвазии лентецом чаечным *Diphyllbothrium dendriticum* в эксперименте / Е.А. Качина, Е.В. Комарова // 73 итоговая студенческая научно-практическая конференция с международным участием имени профессора В.Ф. Войно-Яснецкого, посвященная 100-летию со дня рождения академика Л.В. Киренского: Сб. материалов. — Красноярск: Изд-во ООО «Версо», 2009. — С. 311–314.
4. Лейкина Е.С. Иммунитет при гельминтозах. Основы общей гельминтологии / Е.С. Лейкина. — М.: Наука, 1976. — Т. 3. — С. 89–169.
5. Мазур О.Е. Гематологические и иммунологические характеристики птенцов серебристой чайки (*Larus argentatus*) при экспериментальном заражении *Diphyllbothrium dendriticum* (Cestoda: Pseudophyllidae) / О.Е. Мазур, Н.М. Пронин, Л.В. Толочко // Известия РАН. Серия биологическая. — 2007. — Т. 4. — С. 1–8.
6. О роли чаек в распространении дифиллоботриозов / А.В. Герасимова [и др.] // Матер. науч. конф. всесоюз. общества гельминтологов. — 1969. — Ч. 2. — Р. 187–189.
7. Плотников Н.Н. К клинике, патогенезу и терапии дифиллоботриозной анемии / Н.Н. Плотников // Клин. медицина. — 1955. — Т. 7. — С. 38–43.
8. Пронина С.В. Влияние лентеца чаек (*Diphyllbothrium dendriticum* Nitzsch, 1824) на микроморфологическую картину органов пищеварения у золотистых хомячков / С.В. Пронина, Т.М. Тимошенко // Сибирский биологический журнал. — 1991. — Т. 2. — С. 47–52.
9. Сапин М.Р. Иммунная система человека / М.Р. Сапин, Л.Е. Этинген. — М.: Медицина, 1996. — 304 с.
10. Структура природного очага дифиллоботриоза в районе пролива Малое море оз. Байкал / А.А. Майборода [и др.] // Гельминтозы человека: Республ. сб. науч. тр. — Л.: Изд-во Ленингр. НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, 1987. — С. 56–62.
11. Тотолян А.А. Клетки иммунной системы / Тотолян А.А., Фрейдлин И.С. — СПб.: Наука, 2000. — 231 с.

Сведения об авторах:

С.В. Пронина. Бурятский госуниверситет, ул. Смолина 24а, Улан-Удэ, 670000.

И.О. Убашеев, К.С. Лоншакова, И.М. Бальхаев, Е.И. Убашеева

ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЛАВОНОИДОВ ФИТОСРЕДСТВА «ДИГ-ДА-ШИ-ТАН» У БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ОСТРОМ CCL₄-ГЕПАТИТЕ*Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)
Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ)*

В работе установлено, что применение лекарственного средства тибетской медицины «dig-da-shi-tan» обуславливает более ускоренное, чем в контроле, восстановление уровней содержания ДНК, гликогена, уровней активности ферментов в гепатоцитах, снижение жировой инфильтрации в печени, стимуляцию клеточной и внутриклеточной регенерации органа на фоне торможения перекисного окисления липидов в мембранных структурах.

Ключевые слова: диг-да-ши-тан, гепатите, печень

HEPATOTREAD MECHANISM OF FLAVONOIDS OF PHYTOREMEDY «DIG-DA-SHI-TAN» ACTING IN WHITE RATS AT ACUTE CCL₄-HEPATITE

I.O. Ubasheev, K.S. Lonshakova, I.M. Balhaev, E.I. Ubaseeva

*Buryat State University, Ulan-Ude
Institute of general and experimental Biology, Ulan-Ude*

It was established, that use of Tibet medicine remedy «dig-da-shi-tan» causes faster, than in control group recovery of content levels of DNA, glycogen, levels of ferments activity in hepatocytes, decrease of the fat infiltration in liver, stimulation of cellular and intracellular regeneration of organ the same as inhibition of lipid peroxidation in membrane structures.

Key words: dig-da-shi-tan, hepatitis, liver

В работе установлено, что применение лекарственного средства тибетской медицины «диг-да-ши-тан» обуславливает более ускоренное, чем в контроле, восстановление уровней содержания ДНК, гликогена, уровней активности ферментов в гепатоцитах, снижение жировой инфильтрации в печени, стимуляцию клеточной и внутриклеточной регенерации органа на фоне торможения перекисного окисления липидов в мембранных структурах.

Полученные данные свидетельствуют о том, что применение «диг-да-ши-тан» предотвращало выраженные деструктивные изменения гепатоцитов за счет ингибирующего влияния антиоксидантов, содержащихся в испытуемом средстве, на перекисное окисление липидов мембран и стабилизацию последних, что обуславливало усиление нуклеинового обмена, ускорение митоза, появление гипертрофированных и двуядерных клеток, т.е. интенсификацию клеточной и внутриклеточной регенерации. К этому, в основном, сводятся гепатопротекторные механизмы влияния испытуемого лекарственного средства.

При анализе описаний болезней печени, методов и средств их лечения в тибетских письменных источниках обращает на себя внимание широкое применение горечавки бородастой — *Gentiana Barbata* Froel. (по тибетски «диг-да»).

Существует 4 различных варианта прописей «диг-да-ши-тан» («горечавка — 4»), рекомендуемые в тибетской медицине для лечения болезней печени.

Прописи с горечавкой бородастой применялись в зависимости от динамики симптомов и синдромов

воспаления печени. В рецептуре замена одних компонентов другими проводилась по принципу системности и этажности в лечении, а также в зависимости от индивидуальных свойств каждого компонента.

При «холодных» болезнях печени (хронических гепатитах) назначался препарат по прописи № 1, состоящий из цветков горечавки бородастой, травы зубчатки красной, плодов эмблики лекарственной, корней софоры желтоватой.

Нам представлялось интересным экспериментальное изучение лекарственного средства по прописи № 1, ее модифицированного варианта, где эмблика лекарственная была заменена на яблоню ягодную (чжу-ру-ра). Замену индийского сырья на местное в практике лам Монголии и Забайкалья установили еще А.Ф. Гаммерман и Б.В. Семичев [2]. В целях выяснения достоверности указанной замены рядом авторов было проведено экспериментальное изучение фармакологических свойств яблони ягодной, исходя из сведений о «чжу-ру-ра» из трактатов тибетской медицины [1, 3]. Авторами установлено, что средство из яблони ягодной обладает противовоспалительной, желчегонной и мочегонной активностью.

Также были изучены фармакологические свойства других компонентов прописи № 1. Средство из горечавки бородастой показало положительный эффект на функциональное состояние печени при остром гепатите [12 — 14]. Установлено, что лекарственное средство из горечавки бородастой, содержащее полифенольный комплекс, обладает противовоспалительной и стимулирующей регенерацию печени активностью.

Третий компонент прописи — это зубчатка красная. Препарат из нее обладает мембраностабилизирующим действием [8]. Сухой экстракт зубчатки красной почти не уступает по эффективности аллохолу [9].

Софора желтоватая — четвертый компонент исследуемой прописи. Она может с успехом быть заменена на софору японскую. По сведениям из литературы она обладает свойством повышать артериальное давление, суживать сосуды, а также оказывать некоторое наркотическое действие [4].

Таким образом, в четырех прописях «диг-да-ши-тан» горечавка бородачатая является основным компонентом, назначаемым при различных клинических формах, симптомокомплексах поражений печени, в частности, гепатоцитов.

Цель выполненной работы сводилась к оценке механизмов гепатозащитного влияния «диг-да-ши-тан» из арсенала тибетской медицины при остром токсическом повреждении печени белых крыс четыреххлористым углеродом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Острый токсический гепатит у белых крыс вызывали путем введения четыреххлористого углерода (CCl_4) в виде 50%-ного масляного раствора в объеме 0,4 мл/100 г массы животного, трехкратно через день, подкожно. Печень декапитированных животных подвергали исследованию на 7, 14, 21 сутки с начала эксперимента. Испытуемое лекарственное средство «диг-да-ши-тан» вводили в течение 14 дней внутривенно в дозе 0,3 г/кг массы крысы. В качестве препарата сравнения животным вводили аллохол в дозе 80 мг/кг. Животным контрольной группы вводили только раствор CCl_4 .

Всего в опытах использовано 80 белых беспородных крыс массой 170 — 200 г.

Учитывая, что при патологиях органов гепатобилиарной системы имеют место нарушения окислительно-восстановительных процессов, активности ферментных систем и целый ряд нарушений обмена веществ, использован набор методик, позволяющих определить характер и степень изменений в организме животных под влиянием природных средств. О фармакотерапевтической активности последних судили по степени активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) [5], активности щелочной фосфатазы (унифицированный метод Вассея, Лоури, Брока с использованием набора реактивов Био — Ла — Тест (Чехословакия), по концентрации холестерина (метод Илька) и бета-липопротеидов (метод Бурштейна и Самай), содержанию общего белка (биуретовая реакция), количеству общего, прямого и непрямого билирубина в сыворотке крови (метод Йендрашека) и показателю тимоловой пробы — метод Хуэрго и Поппер с использованием набора реактивов Био — Ла — Тест (Чехословакия).

Для взятия гистоматериала белых крыс умертвляли декапитацией. Кусочки печени фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина.

Депарафинированные гистологические срезы органа толщиной 6 — 8 мкм для оценки общей морфологической картины и для исследования митотической активности гепатоцитов и подсчета двуядерных и гипертрофированных печеночных клеток окрашивали по общепринятой методике гематоксилин-эозином [7].

Подсчет гепатоцитов осуществляли под иммерсионным увеличением.

В свежемороженых срезах печени, полученных на микротокриостате МК — 25, определяли количество гликогена ШИК-реакцией, нейтральных жиров — суданом черным «Б», активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ-азы) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ-азы) — по Нахласу, активность щелочной и кислой фосфатаз — по Гомори [10].

Микроскопирование и микрофотографирование гистологических, гистохимических препаратов осуществляли на немецком микроскопе «Motic» со встроенной видеокамерой и с помощью ряда прикладных компьютерных программ.

Цифровые данные, полученные в опытах, обрабатывали по параметрическому критерию (t) Стьюдента — Фишера [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При введении испытуемого средства белым крысам с острым токсическим гепатитом на 7 сутки наблюдений в отличие от контроля только в единичных случаях выявлены в печени крыс некротические очажки. В очажках клеточной инфильтрации по ходу сосудов можно было видеть значительное количество макрофагальных элементов. В гепатоцитах обнаружена мелко- и реже среднекапельная жировая дистрофия, в то время как у контрольных животных жировая инфильтрация в виде крупных капель жира охватывает большую часть дольки печени.

Данные исследования митотической активности гепатоцитов и подсчета двуядерных и гипертрофированных клеток печени приведены в таблице 1.

Наибольший пик митотической активности отмечен в печени крыс, получавших «диг-да-ши-тан», на 3 и 7 сутки эксперимента. В последующие сроки митотический индекс значительно снижался и к концу исследований (28 сутки) составлял 4,4 % изначального показателя в этой группе белых крыс.

Об активности регенераторных процессов в печени крыс, получавших «диг-да-ши-тан», мы судили по появлению крупных темноокрашенных клеток с гиперхромными ядрами и увеличению числа двуядерных гепатоцитов (табл. 2). Из результатов, приведенных в таблице 2, видно, что регенерация гепатоцитов в печени подопытных животных происходит как за счет увеличения числа двуядерных клеток, так и за счет гипертрофированных гепатоцитов. При введении «диг-да-ши-тан» регенераторные процессы в печени крыс протекали быстрее, чем в печени контрольных животных и при введении препарата сравнения аллохола, что подтверждало повышение числа

Таблица 1

Показатели митотической активности гепатоцитов крыс (%) при остром токсическом гепатите на фоне фармакотерапии «диг-да-ши-тан» ($M \pm m$)

№ п/п	Условия опыта	Срок исследования, сутки				
		3	7	14	21	28
1	CCl ₄ (контроль), $n = 7$	0,25 ± 0,04	0,2 ± 0,01	0,6 ± 0,02	0,4 ± 0,002	0,4 ± 0,001
2	CCl ₄ + аллохол, $n = 7$	2,0 ± 0,02*	1,0 ± 0,03*	1,0 ± 0,02*	0,6 ± 0,002	0,4 ± 0,002
3	CCl ₄ + «диг-да-ши-тан», $n = 7$	4,5 ± 0,01*	3,3 ± 0,04*	1,7 ± 0,04*	0,5 ± 0,02	0,2 ± 0,002*

Примечание: * – значения достоверны в сравнении с контролем при $P \leq 0,05$; n – количество животных в группе.

Таблица 2

Показатели регенерации в печени белых крыс при остром гепатите ($M \pm m$) при введении «диг-да-ши-тан»

№	Условие опыта	Количество двуядерных клеток				Число гипертрофированных клеток			
		Срок исследования, сутки							
		7	14	21	28	7	14	21	28
1	CCl ₄ (контроль), $n = 7$	8,6 ± 0,82	20,3 ± 1,22*	19,0 ± 0,94	16,3 ± 1,22	8,6 ± 0,62*	19,3 ± 1,21	22,0 ± 2,11*	25,6 ± 0,75
2	CCl ₄ + аллохол, $n = 7$	16,6 ± 1,31*	17,6 ± 1,11*	17,0 ± 1,12	24,0 ± 1,23*	35,6 ± 2,34*	34,3 ± 2,12*	45,3 ± 1,21*	56,5 ± 2,44*
3	CCl ₄ + «диг-да-ши-тан», $n = 7$	34,0 ± 1,52*	42,0 ± 1,73*	38,0 ± 2,42*	29,3 ± 1,31*	54,3 ± 5,55*	48,3 ± 3,61*	65,0 ± 2,92*	74,0 ± 2,91*

Примечание: * – значения достоверны в сравнении с контролем при $P \leq 0,05$; n – количество животных в группе.

двуядерных и гипертрофированных клеток во все сроки исследования.

На 14 сутки исследований в печени крыс, получавших изучаемое средство, сохранялись еще гемодинамические нарушения, однако дистрофические изменения в гепатоцитах были выражены в меньшей степени, чем в печени контрольных животных в эти сроки. Явления мелкокапельной жировой инфильтрации в печени крыс, получавших «диг-да-ши-тан», сохранялись только непосредственно вокруг центральных вен. В более поздние сроки (21 сутки) дистрофические изменения в печени наблюдались в виде очажков. Имели место клеточные инфильтраты лимфоидно-гистиоцитарного типа, располагавшиеся, в основном, по ходу сосудов.

В этот период уже можно было видеть признаки репаративной регенерации. Об этом свидетельствовали часто встречающиеся по периферии долек фигуры митоза, гипертрофированные гепатоциты с крупными, богатыми хроматином ядрами, а также двуядерные клетки, в которых отмечено более высокий по сравнению с контролем уровень содержания РНК и ДНК. Уровень содержания гликогена варьировал в зависимости от сроков после введения «диг-да-ши-тан». Так, в первые сроки исследований (7 сутки) гликоген присутствовал по периферии долек в виде мелких гранул. В дальнейшем (14, 21 сутки) концентрация гликогена в гепатоцитах, как правило, возрастала, и к концу эксперимента он заполнял большую часть дольки.

Активность восстановительных ферментов (СДГ- и АДГ-азы) в печени животных в случаях введения диг-да-ши-тан на 7 сутки исследований была выше, чем таковая в контроле. Подобная картина сохранялась и на 14 сутки, а к концу 21 суток изучения активность вышеуказанных ферментов

в печени животных, принимавших исследуемое растительное средство, соответствовала норме.

О функциональном состоянии печени подопытных животных при токсическом повреждении ее и последующем введении тибетского растительного средства свидетельствовали нарушения пигментного и белкового обменов, а также изменения активности аминотрансфераз. Так, содержания общего, прямого и непрямого билирубина в сыворотке крови крыс с экспериментальным гепатитом на 7 сутки исследований составляли соответственно $1,4 \pm 0,01$; $0,8 \pm 0,03$ и $0,6 \pm 0,02$ мг/%, в то время как у интактных животных эти же показатели равнялись соответственно $0,4 \pm 0,03$; $0,2 \pm 0,01$ и $0,2 \pm 0,01$ мг/% (табл. 3). Различие во всех случаях было достоверным ($P \leq 0,05$).

На 14 сутки исследований у животных, получавших изучаемое средство, отмечено снижение всех фракций билирубина до нормальных величин ($P \leq 0,05$). На 21 сутки наблюдений у животных во всех группах количество фракций билирубина доходило до исходных величин.

Активность ферментов АСТ и АЛТ на 7 сутки наблюдений повышалась: соответственно до $2,36 \pm 0,08$ мкмоль и $2,61 \pm 0,03$ мкмоль, что было достоверно выше интактного контроля ($P \leq 0,01$). Спустя 14 суток наблюдений отмечена тенденция к нормализации активности АСТ и АЛТ у крыс, получавших испытуемое средство. В данном случае активность АСТ и АЛТ составляла соответственно $0,68 \pm 0,02$ и $1,42 \pm 0,04$ мкмоль, а у контрольных крыс активность этих ферментов была равна соответственно $1,1 \pm 0,05$ и $1,95 \pm 0,01$ мкмоль ($P \leq 0,05$). На 21 сутки наблюдений у животных на фоне введения «диг-да-ши-тан» активность трансаминаз нормализовалась, в то время как у контрольных

Изменение биохимических показателей под влиянием тибетского препарата «диг-да-ши-тан» при экспериментальном гепатите у крыс ($M \pm m$)

Показатель	7-е сутки		14-е сутки		21-е сутки	
	Контроль, $n = 7$	«Диг-да-ши-тан», $n = 7$	Контроль, $n = 7$	«Диг-да-ши-тан», $n = 7$	Контроль, $n = 7$	«Диг-да-ши-тан», $n = 7$
АЛТ, мкмоль	3,20 ± 0,02	2,36 ± 0,08*	1,1 ± 0,03	0,68 ± 0,02*	1,20 ± 0,02	0,68 ± 0,02*
АСТ, мкмоль	2,90 ± 0,14	2,61 ± 0,03*	1,95 ± 0,14	1,42 ± 0,04*	1,25 ± 0,01	0,90 ± 0,04*
Общий билирубин, мг%	1,56 ± 0,02	0,86 ± 0,01*	1,40 ± 0,01	0,72 ± 0,02*	1,53 ± 0,04	0,61 ± 0,05*
Тимоловая проба, усл. ед.	5,50 ± 0,32	3,95 ± 0,05*	5,5 ± 0,22	3,5 ± 0,04*	4,1 ± 0,08	1,1 ± 0,02*

Примечание; * – различия достоверны в сравнении с контролем при $P \leq 0,05$; n – количество животных в группе.

крыс активность указанных ферментов превышала в 4 раза нормальные величины этих показателей (табл. 3).

У подопытных животных, подвергнутых интоксикации CCl_4 , нарушалась сулемовая проба. В частности, на 7 сутки наблюдений количество сулемы, ушедшее на титрование, снижалось до 0,6 мл при норме 1,4 мл. На 14 сутки исследований крыс, получавших «диг-да-ши-тан», уровень сулемовой пробы приближался к норме. У контрольных животных сулемовая проба оставалась резко положительной (0,8 мл). Спустя 21 сутки с начала опытов у крыс после введений изучаемого средства сулемовая проба нормализовалась, в то время как у контрольных животных она оставалась еще положительной (0,9 мл).

Тимоловая проба у крыс с экспериментальным острым гепатитом на 7 сутки наблюдений была равна 5,5 ед. при норме 3 ед. На 14 сутки исследований у подопытных животных во всех группах тимоловая проба оставалась резко положительной. На 21 сутки у крыс на фоне введений «диг-да-ши-тан» тимоловая проба приближалась к нормальным величинам (табл. 3).

На основании экспериментальных данных следует заключить, что с самого начала опытов можно было отметить разницу в морфологической картине и функциональных показателях печени контрольных крыс и животных, получавших испытуемое средство. В печени последних в меньшей степени, чем в контроле, были выражены дистрофические изменения и в большей степени проявлялись морфологические критерии регенерации, изменения воспалительно-пролиферативного характера, а также быстрее нормализовались гистохимические показатели, показатели белково-осадочных проб и пигментного обмена, активность аминотрансфераз.

При анализе полученных данных немаловажным являлась сравнительная оценка активности изучаемых ферментов и изменений белкового, нуклеинового, углеводного и жирового обменов в печени подопытных крыс. Как было указано ранее, уровни активности СДГ- и АДГ-азы, АСТ, а также уровни содержания ДНК, РНК и гликогена в печени животных, получавших испытуемое средство, были выше, чем в контроле. Кроме того, в случаях

введений животным его быстрее нормализовались сулемовая и тимоловая пробы, характеризующие состояние белкового обмена.

Активация окислительно-восстановительных процессов при воздействии «диг-да-ши-тан», по-видимому, являлась одним из основных механизмов, который приводил к нормализации нарушенных обменов веществ (белкового, углеводного, жирового, пигментного). Важным моментом в восстановительных процессах в печени на фоне введений животным испытуемого средства, вероятно, являлась нормализация синтеза белков и нуклеиновых кислот, от состояния которых зависит активность процессов репаративной регенерации в поврежденном органе.

Анализ источниковедческих сведений о различных вариантах прописей «горечавка – 4», применявшихся в тибетской медицине при заболевании печени, показывает, что назначались они в зависимости от наличия конкретных симптомов при поражениях печени с учетом индивидуальных свойств каждого компонента прописи.

Результаты экспериментального изучения испытуемого средства по прописи № 1 «горечавка – 4» на модели токсического гепатита подтверждают данные, полученные из источников тибетской медицины. В опытах на животных замечено, что лекарственное средство «диг-да-ши-тан» по прописи № 1 оказывает стимулирующее влияние на восстановительные процессы в печени при ее токсическом повреждении. Выявленный фармакотерапевтический эффект можно объяснить комплексом гепатотропных биологически активных веществ, в первую очередь флавоноидов, полисахаридов и др., содержащихся в отдельных растениях изучаемого средства, ибо вещества из группы флавоноидов обладают широким спектром биологического действия [6, 8]. Важным в механизме действия «диг-да-ши-тан» следует считать ингибирование перекисного окисления липидов (ПОЛ) и отсюда – его мембраностабилизирующий эффект, обуславливающий гепатозащитное влияние при токсическом повреждении печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаммерман А.Ф. Словарь тибето-латино-русских названий лекарственного сырья, приме-

няемого в тибетской медицине / А.Ф. Гаммерман, Б.В. Семичов. — Улан-Удэ, 1963. — 180 с.

2. Даргаева Т.Д. Исследование яблони ягодной, произрастающей в Бурятии / Т.Д. Даргаева, Г.Г. Николаева, С.М. Николаев // Изучение препаратов природного и синтетического происхождения. — Томск, 1978. — С. 16–17.

3. «Дзейцхар-Мигчжан» — памятник тибетской медицины / С.М. Баторова [и др.]. — Новосибирск, 1985. — 88 с.

4. Ибрагимов Ф.И. Основные лекарственные растения китайской медицины / Ф.И. Ибрагимов, В.С. Ибрагимова. — М., 1960. — 411 с.

5. Колб В.Г. Справочник по клинической хирургии / В.Г. Колб, В.С. Камышников. — Минск, 1982. — 226 с.

6. Колла В.Э. Перспективы поиска стимуляторов регенерации среди растительных препаратов, содержащих биофлавоноиды / В.Э. Колла, Г.Д. Билич // Фармакологическая регуляция регенераторных процессов в эксперименте и клинике: Межвузовский сборник ГГУ. — Горький, 1978. — С. 3–10.

7. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. — М., 1969. — 423 с.

8. Николаев С.М. Экспериментальная фармакотерапия антиоксидантами повреждений печени / С.М. Николаев // Фармакология и токсикология. — 1983. — № 1. — С. 79–81.

9. Николаев С.М. О желчегонной активности *Odontites serotina* (Lam) Dum. / С.М. Николаев, Р.Б. Гармаев // Раст. ресурсы. — 1982. — Т. 2, Вып. 1. — С. 91–93.

10. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. — М., 1962. — 962 с.

11. Плохинский Н.А. Алгоритмы биометрии / Н.А. Плохинский. — М., 1980. — 281 с.

12. Убашеев И.О. Природные лекарственные средства при повреждениях органов и тканей / И.О. Убашеев. — Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 1998. — 224 с.

13. Убашеев И.О. Природные лекарственные средства при повреждениях органов и тканей: Автореф. дис. ... докт. биол. наук / И.О. Убашеев. — Улан-Удэ, 1998. — 47 с.

14. Убашеев И.О. Экспериментально-морфологические исследования печени белых крыс, леченных препаратом из горечавки бородачковой при остром токсическом гепатите / И.О. Убашеев, К.С. Лоншакова, Г.В. Болдаруева // Фармакол. и токсикол. — 1984. — № 3. — С. 123–124.

Сведения об авторах:

И. О. Убашеев. Бурятский государственный университет, г. Улан-Удэ, ул. Октябрьская 36, А тел. (3012) 44-82-55

И.О. Убашеев, К.С. Лоншакова, И.М. Бальхаев, О.И. Убашеев

КАЛЕФЛОН КАК СТИМУЛЯТОР РЕГЕНЕРАТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ В ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ CCl_4 -ГЕПАТИТЕ

Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)
Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ)

В работе установлено стимулирующее влияние калефлона — экстракта какалии копьевидной на регенераторные процессы в печени белых крыс при хроническом CCl_4 -гепатите.

Ключевые слова: печень, гепатит, калефлон

CALEPHLON AS A STIMULATOR OF REACTIVATION PROCESSES IN LIVER OF WHITE RATS AT CHRONIC CCL_4 -HEPATITE

I.O. Ubasheev, K.S. Lonshakova, I.M. Balhaev, O.I. Ubasheev

Buryat State University, Ulan-Ude
Institute of general and experimental Biology, Ulan-Ude

The stimulating influence of extract of spear-point cacalia Calephlon on reactivation processes in liver of white rats at chronic CCL_4 -hepatite is stated.

Key words: liver, hepatitis, Calephlon

В процесс стимуляции репаративной регенерации печени белых крыс вносит свою лепту целый ряд антиоксидантов, содержащихся в калефлоне, преимущественно полифенолы. Благодаря их ингибирующему влиянию на перекисное окисление липидов, мембранозащитному эффекту предотвращалась грубая деструкция и достигалось ускорение митоза клеток и внутриклеточной регенерации поврежденной печени животных.

Способность к регенерации сложилась в процессе эволюции. Она является одной из форм приспособления организма.

В основе лечения болезней человека и животных лежат регенераторные процессы в поврежденных органах и тканях, ибо общеизвестно, что выздоровление организма при его заболеваниях идет через регенерацию.

Полное выздоровление возможно лишь при восстановлении нормального строения клеток, тканей и органов. Поэтому и в медицине, и в ветеринарии регенерационной терапии во все времена уделялось большое внимание. Значительное место в стимуляции репаративных процессов занимали природные лекарственные средства [2, 7].

Часто применение биологически активных веществ из природного сырья определяет исход заболевания, обуславливая полноту восстановления структуры и функции поврежденных органов и систем организма. Стимулирующие регенерацию природные средства важны не только на этапе лечебных мероприятий, но и с целью профилактики болезненных состояний.

В настоящее время уделяется большое внимание регенерации патологически измененных органов. При воздействии токсических агентов в паренхиматозных органах (в том числе в печени) имеют место множественные очаги некрозов.

Восстановление органов в этих случаях протекает двояко: 1) путем заполнения очага некроза либо соединительной тканью, с последующей ее организацией, либо жизнеспособной, вновь образованной специфической тканью; 2) за счет гипертрофии другого неповрежденного участка органа.

Для стимуляции регенерации патологически измененных органов особую актуальность приобретает поиск новых средств, ускоряющих восстановление поврежденных тканей и органов [8].

Целью настоящей работы явилась оценка стимуляции регенерации печени белых крыс калефлон — экстрактом календулы лекарственной при хроническом CCl_4 -гепатите.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Хронический токсический гепатит вызывали у белых крыс с массой 180 — 240 г введением 50%-ного масляного раствора CCl_4 в объеме 0,25 мл/100 г массы животного подкожно 2 раза в неделю в течение 1,5 месяца. Животные принимали калефлон внутривенно в дозе 0,5 г/100 г через месяц с начала затравки CCl_4 . Все животные в эксперименте были разделены на три группы:

- 1) контрольная группа — животные, которым вводили только раствор CCl_4 ;
- 2) животные, получавшие калефлон после месячной затравки CCl_4 ;
- 3) группа интактных животных.

Всего в опытах использовано 105 белых крыс.

Морфологическое состояние печени животных исследовали в сроки: 15, 28 и 35 суток с момента введения калефлона на фоне хронического гепатита.

Для взятия гистоматериала белых крыс декапитировали под эфирным наркозом. Кусочки печени фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Депарафинированные гистологические срезы

органа для оценки морфологической картины окрашивали по общепринятой методике гематоксилин-эозином [4]. Для оценки состояния перекисного окисления липидов выявляли содержание в печени пигмента липофусцина по Шморлю [3, 5].

В свежемороженых срезах печени, полученных на микротомкриостате МК-25, определяли количество гликогена ШИК-реакцией, нейтральных жиров — суданом черным «Б», активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ-азы) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ-азы) — по Нахласу.

При оценке влияния калефлона на течение репаративной регенерации печени после ее токсического повреждения использованы морфофункциональные показатели, характеризующие регенераторный процесс. В частности, гистологические срезы печени, окрашенные гематоксилин-эозином, употребляли для исследования митотической активности гепатоцитов и подсчета двуядерных клеток. Количество митозов и двуядерных клеток подсчитывали в 100 полях зрения гистологического препарата. Митотический индекс выражали в промилле (‰), т.е. содержание митозов на 1000 клеток, способных к делению.

Цифровые данные, полученные в опытах этой серии, обрабатывали по параметрическому критерию (I) Стьюдента-Фишера [6].

Микроскопирование гистологических, гистохимических препаратов осуществляли на немецком микроскопе «Motik» со встроенной видеокамерой и с помощью ряда прикладных программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На 15 сутки в печени белых крыс контрольной группы, подвергнутых длительной интоксикации CCl_4 , выявлялось умеренное полнокровие перипортальных вен и капилляров в дольках. Часто наблюдалось расширение синусов. Портальные тракты увеличены в размерах, вокруг триад умеренный отек соединительной ткани с инфильтрацией круглоклеточными элементами. В ряде случаев замечена дисконфлексация печеночных балок. Границы между клетками представлялись нечеткими. В отдельных гепатоцитах отмечались явления цитолиза и мутного набухания. В дольках у многих животных обнаруживался холестаза. Есть нежные тяжики соединительной ткани как по периметру долек, портальным трактам, так и вокруг отдельных групп печеночных клеток в дольке. Гистохимически выявлялись выраженная жировая инфильтрация, понижение синтеза гликогена и уровней активности окислительно-восстановительных ферментов. В значительном количестве определялись гранулы липофусцина.

На 28 сутки исследования гистологическая картина в печени контрольных животных почти соответствовала таковой в первый срок наблюдения. Гистохимически выявлены жировая инфильтрация и повышение содержания гликогена в гепатоцитах. Еще оставались гранулы липофусцина.

На 35 сутки наблюдения в ряде случаев в печени сохранялись полнокровие и расширение стенок капилляров. Вокруг триад отек не наблюдался, а

клеточная инфильтрация, как правило, сопровождалась фибриллогенезом. Уровни активности СДГ- и ЛДГ-азы и содержания гликогена значительно повышались, жировая инфильтрация органа сводилась к появлению капель жира, расположенных преимущественно по периферии печеночных долек.

При введении калефлона животным в отличие от контроля в первые сроки наблюдения (15 сутки) не было отмечено явлений «мутного» набухания клеток, что свидетельствовало об упорядочении биохимических процессов в гепатоцитах. Менее выражена полиморфноклеточная инфильтрация в паренхиме и по ходу сосудов. В меньшей степени существовали отечные изменения в портальных трактах. Гистохимически в печени выявлена очень слабая жировая инфильтрация в виде очень мелких капель. Содержание гликогена в 4 случаях из 5 очень близко к норме.

На 28 сутки в подавляющем большинстве случаев (в 4 из 6) отсутствуют соединительнотканное волокно и полиморфно-клеточная инфильтрация, структура печени соответствовала таковой у интактных животных. Совершенно не было отмечено явление жировой инфильтрации, нет гранул липофусцина. В структуре печени наблюдалось увеличение количества гипертрофированных гепатоцитов с крупными темноокрашенными ядрами.

На 35 сутки у крыс, получавших калефлон, в одном случае из 5 отмечалась клеточно-мезенхимальная реакция в печени. Жировая дистрофия гепатоцитов не была выявлена. У всех животных на этот срок исследования содержание гликогена в органе не отличалось от такового в печени интактных животных. Активность окислительно-восстановительных ферментов была такой же, как в интактном контроле.

Результаты морфологических исследований показывают, что калефлон повышает по сравнению с контролем в более ранние сроки функциональную активность гепатоцитов, способствует более быстрому рассасыванию соединительнотканного тяжиков, обеспечивая в более короткие сроки нормализацию структуры органа.

Что касается регенераторных процессов, то показатели митотической активности, число двуядерных и гипертрофированных клеток при введении белым крысам с CCl_4 -гепатитом калефлона в первые сроки исследований (табл. 1, 2) свидетельствовали о вялом течении регенераторных процессов в печени крыс контрольной группы. Так, митотический индекс практически прослеживался на одном уровне во все сроки наблюдения. Число двуядерных гепатоцитов незначительно менялось на протяжении всего эксперимента.

У животных, получавших калефлон, митотический индекс в клетках печени возрастал по сравнению с контролем в 2,2–2,5 раза во все сроки эксперимента (табл. 1). Число двуядерных гепатоцитов повышалось к концу исследований по сравнению с контролем в 3 раза. Среднее число гипертрофированных клеток у крыс на фоне введения калефлона постепенно увеличивалось до $69,1 \pm 0,3$ при контроле

Таблица 1

Показатели митотической активности гепатоцитов белых крыс (%) при хроническом токсическом гепатите на фоне фармакотерапии калефлоном ($M \pm m$)

№ п/п	Условия опыта	Срок исследования, сутки		
		15	28	35
1	CCl ₄ (контроль), $n = 7$	1,3 ± 0,03	1,9 ± 0,01	1,7 ± 0,01
2	CCl ₄ + калефлон, $n = 7$	2,9 ± 0,01*	4,7 ± 0,07*	2,4 ± 0,04*

Примечание: * – достоверность по сравнению с контролем при $P \leq 0,05$; n – количество животных в группе.

Таблица 2

Показатели регенерации в печени белых крыс при хроническом гепатите на фоне введения калефлона ($M \pm m$)

№ п/п	Условия опыта	Число двуядерных клеток			Количество гипертрофированных клеток		
		Срок исследования, сутки					
		15	28	35	15	28	35
1	CCl ₄ (контроль), $n = 7$	18,2 ± 1,2*	12,4 ± 0,6*	13,5 ± 0,8*	20,2 ± 1,2*	19,5 ± 1,2*	18,6 ± 1,3*
2	CCl ₄ + калефлон, $n = 7$	25,5 ± 2,1**	28,5 ± 2,3**	38,4 ± 1,2**	43,2 ± 2,1**	43,2 ± 2,1**	69,1 ± 4,2**
3	Интakтный контроль, $n = 7$	7,3 ± 0,2	79,0 ± 0,8	6,9 ± 0,1	10,4 ± 0,4	10,4 ± 0,4	12,0 ± 0,2

Примечание: * – различие достоверно по отношению к интактному контролю ($P \leq 0,05$); ** – различие достоверно по отношению к контролю ($P \leq 0,05$); n – количество животных в группе.

18,6 ± 0,1 (табл. 2). Все эти явления – показатель того, что в печени крыс, получавших калефлон, регенераторные процессы проходят значительно активнее по сравнению с таковыми у крыс контрольной группы. В основе выявленного стимулирующего влияния изучаемого средства на регенераторные процессы в поврежденной печени следует считать ведущим молекулярно-биологический механизм, сводящийся к ингибированию перекисных процессов и стабилизации мембран в ней [1, 9 – 11]. В результате ингибирующего влияния калефлона на процессы свободно-радикального окисления липидов и последующего снижения концентрации токсических перекисных продуктов достигается ускорение митотического деления клетки, т.е. процессов клеточной регенерации, что убедительно показано в наших исследованиях. Можно предположить, что в процессе стимуляции репаративной регенерации печени вносит свою лепту целый ряд антиоксидантов, содержащихся в калефлоне, преимущественно полифенолы.

Благодаря ингибирующему влиянию на перекисное окисление липидов, мембранозащитному эффекту их предотвращалась грубая деструкция и достигалось ускорение митоза клеток и внутриклеточной регенерации в поврежденной печени у животных.

В случаях фармакотерапии калефлоном белых крыс с хроническим CCl₄-гепатитом усиление регенерации в паренхиме печени способствовало ускорению резорбции тяжиков соединительной ткани, фуксинофильных волокон [7, 8].

Сведения об авторах:

И.О. Убашев. Бурятский государственный университет, г. Улан-Удэ, ул. Октябрьская 36, А тел. (3012) 44-82-55

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений / В.А. Барабой. – Киев, 1976. – 260 с.
2. Буеверов А.О. Современные аспекты патогенеза алкогольной болезни печени / А.О. Буеверов // Новое в изучении патогенеза и лечения алкогольной болезни печени: Материалы симпозиума. – М., 2003. – С. 9 – 12.
3. Лилли Р. Патологистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли. – М., 1969. – 645 с.
4. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – М., 1969. – 423 с.
5. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М., 1962. – 962 с.
6. Плохинский Н.А. Алгоритмы биометрии / Н.А. Плохинский. – М., 1980. – 281 с.
7. Саркисов Д.С. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций / Д.С. Саркисов. – М., 1987. – 448 с.
8. Чернух А.М. Воспаление / А.М. Чернух. – М., 1979. – 448 с.
9. Middleton E. The flavonoids / E. Middleton // Trends Pharmacol. Sci. – 1984. – Vol. 5, N 8. – P. 336 – 338.
10. Mittelbach H.P. Zur Chemoprophylaxe und Therapie der Wundinfektion, besonders der Verbrennungswunden / H.P. Mittelbach // Ther. d. Gedenw. – 1970. – B. 109, N 12. – S. 1761 – 1773.
11. Tappel A.L. Lipid peroxidation damage to cell components / A.L. Tappel // Feder. proc. – 1973. – Vol. 32. – P. 1870 – 1874.

Н.В. Фаткуллин, Г.А. Краснояров

ОЦЕНКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ДАВЛЕНИЯ ЭНДОПРОТЕЗА КРЕСТООБРАЗНОЙ СВЯЗКИ КОЛЕННОГО СУСТАВА ПРИ ПРЯМЫХ И ДУГООБРАЗНЫХ КОСТНЫХ ТОННЕЛЯХ

Бурятский Государственный университет (Улан-Удэ)

В статье рассматриваются проблемы восстановления крестообразных связок коленного сустава. Высокая частота осложнений оперативной фиксации крестообразных связок при применении прямых костных тоннелей связана с образованием точек избыточного давления в местах выхода эндопротезов, авторы дают математическое обоснование применению дугообразных костных тоннелей.

Ключевые слова: коленный сустав, эндопротезы, крестообразные связки, математическое моделирование, вычисление, больной, силы давления

A COMPARISONS ANALYSIS OF DISTRIBUTION PRESSURE IMPLANTS OF CRUCIATE LIGAMENT IN DIRECT AND ARCHED BONES CANALS

N.V. Fatkullin, G.A. Krasnoyarov

Buryat State University, Ulan-Ude

The article is devoted to the problems of cruciate ligament deficient knee repair. High rate of complications of fixation in cruciate ligament reconstruction is because of using of the direct bones canals. An alternative cruciate reconstruction using the arched bones canals is more preferable for the patient's benefit.

Key words: a knee joint, endoprotheses, crosswise ligaments, mathematical modelling, calculation, the patient, pressure forces

Коленный сустав занимает первое место по частоте повреждений связочного аппарата и составляет 50 % от всех травм суставов. Повреждение крестообразных связок коленного сустава характерно для лиц активного трудоспособного возраста. Соотношение повреждений передней крестообразной связки к повреждениям задней составляет 2:1, что приводит к нестабильности коленного сустава. Нестабильность сустава – это невозможность его нормального функционирования вследствие потери способности замыкания в период опоры без дополнительных внешних и компенсаторных приспособлений [3, 4].

К настоящему моменту имеется множество публикаций, отражающих опыт реконструкции связочного аппарата коленного сустава эндопротезами. Изучены ближайшие и отдаленные результаты оперативных вмешательств [7, 8]. Вместе с тем, отсутствует единое мнение в отношении выбора диаметра, направления тоннеля, в котором располагают эндопротез, с целью соблюдения изометричности расположения эндопротезов в костных тоннелях и его максимальной функциональности.

При внутрисуставных способах эндопротезирования крестообразных связок в дистальном метаэпифизе бедренной и проксимальном метаэпифизе большеберцовой костей формируются только прямые костные тоннели.

Несмотря на изометричное расположение эндопротеза в полости сустава, ось внутрисуставной части эндопротеза не совпадает с осью тоннеля, расположенные в них части эндопротеза образуют углы с внутрисуставной частью, и в момент наибольшей нагрузки на эндопротез он оказывает избыточное

давление на стенку тоннеля. Там же имеются потенциально критические места, где может произойти разрушение эндопротеза. В дальнейшем это приводит к резорбции костной ткани тиббиального и феморального тоннелей у выхода эндопротеза из костного тоннеля в полость сустава. В глубине тоннелей, они приобретают эллипсоидную форму с ориентацией длинной оси эллипса в сагиттальной плоскости, и по длине костный канал приобретает форму усеченного конуса, обращенного основанием к полости сустава, этот феномен получил название «эффект стеклочистителя». [1, 2, 5, 6].

Крестообразные связки стремятся удерживать продольную ось голени в одной плоскости с осью ее вращения в коленном суставе. При движении голени, на проксимальную часть большеберцовой кости действуют силы, стремящиеся сместить ее как назад, так и вперед, в зависимости от того, какая группа мышц активна, но фиксация крестообразными связками к бедренной кости позволяет находиться голени в равновесном состоянии, и перемещение ее кпереди и кзади относительно бедра невозможно.

Схематично распределение давления эндопротеза на стенки внутрикостного тоннеля при прямых тоннелях рассмотрено в одной плоскости, применяя аксиомы статики, распределенных сил, реакции связи (рис. 1).

Эндопротез – это **нить**, считающаяся гибкой и нерастяжимой. Реакция последней на тело направлена по касательной к нити в точке ее закрепления. Так, точками закрепления (А и С) будем считать место фиксации эндопротеза в тиббиальном костном тоннеле и место выхода эндопротеза в полость коленного сустава из бедренного костного тоннеля.

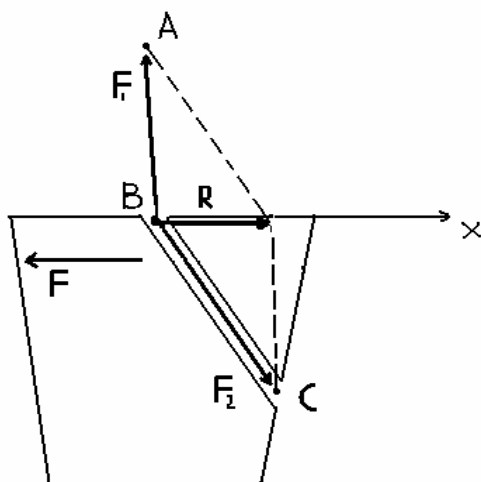


Рис. 1. Распределение нагрузки на стенки прямого внутрикостного тоннеля (схема).

- **A** – точка закрепления, место выхода эндопротеза из бедренного костного тоннеля в полость сустава;
- **C** – точка закрепления, место фиксации эндопротеза в тибальном костном тоннеле;
- **F** – сила, стремящаяся сместить проксимальную часть голени кзади;
- **F₁, F₂** – сила натяжения, действующая на нить;
- **R** – равнодействующая сила;
- **B** – точка выхода нити (эндопротеза) из тоннеля;
- **X** – ось (тибиальное плато).

Взаимодействие сил находящихся в равновесии

$$F = F_1 + F_2.$$

Согласно правила параллелограмма сил, две силы, приложенные к твердому телу в одной точке имеют равнодействующую силу, приложенную в той же точке и изображаемую диагональю параллелограмма, построенного на этих силах, как на сторонах. Сила **R** эквивалентна системе двух сил **F₁** и **F₂**, вектор **R** равен геометрической сумме векторов **F₁** и **F₂**, т.е.

$$F_1 + F_2 = R$$

Равнодействующая сила **R** направлена от точки **B** по оси **X**. Все давление нити на стенку костного тоннеля сосредоточено в точке **B** и выражается уравнением:

$$P = R / SB,$$

где **P** – давление нити на стенку костного тоннеля;

R – равнодействующая сила;

SB – площадь передней части костного тоннеля в точке **B**.

Построим математическую модель распределения давления эндопротеза на стенки внутрикостного тоннеля при дугообразных тоннелях в одной плоскости, используя аппарат теоретической механики, применяя аксиомы статики, распределенных сил, реакции связи (рис. 2).

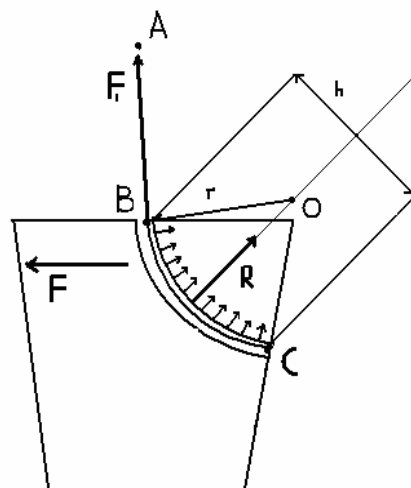


Рис. 2. Распределения нагрузки на стенки дугообразного внутрикостного тоннеля (схема).

- **A** – точка закрепления, место выхода эндопротеза из бедренного костного тоннеля в полость сустава;
- **C** – точка закрепления, место фиксации эндопротеза в тибальном костном тоннеле;
- **F** – сила, стремящаяся сместить проксимальную часть голени кзади;
- **F₁** – сила натяжения, действующая на нить;
- **R** – равнодействующая сила;
- **B** – точка выхода нити (эндопротеза) из тоннеля;
- **h** – длина хорды, стягивающей дугу **BC**;
- **O** – центр дуги;
- **r** – радиус окружности.

Взаимодействие сил, находящихся в равновесии:

$$F = F_1.$$

При дугообразной форме внутрикостного тоннеля, силы давления нити на переднюю стенку сходятся, будем считать, что они равномерно распределены по дуге. Равнодействующая системы сходящихся равномерно распределенных по дуге окружности сил равна произведению интенсивности сил на длину хорды, стягивающей дугу, линия действия равнодействующей перпендикулярна хорде и проходит через ее середину. Рассчитывается по формуле:

$$R = q \times h,$$

где **q** – сила, приходящаяся на единицу длины, единица измерения ньютон на метр (Н/м)

$$q = F_1 / L_{bc};$$

L_{bc} – длина полуокружности между точками **B** и **C**.

Все давление нити на стенку костного тоннеля равномерно распределено и выражается уравнением:

$$P = R / S_{bc},$$

где **P** – давление нити на переднюю стенку костного тоннеля по дуге **BC**;

R – равнодействующая сила;

$S_{вс}$ — площадь передней части костного тоннеля взята равной половине площади цилиндра (рис. 3), имеющего высоту, равную длине хорды — h и заданный диаметр.

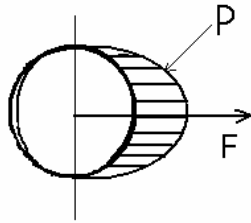


Рис. 3. Схема распределения давления эндопротеза на стенку внутрикостного тоннеля, при поперечном сечении: где P — эпюры распределения давления эндопротеза на стенку тоннеля по 1/2 длины окружности в направлении действия силы F .

Проведем численный эксперимент и сравним давление эндопротеза при прямом и дугообразном костных тоннелях на стенку.

Для прямого костного тоннеля:

$$P_1 = R / S_{в},$$

где P_1 — давление в точке B ;

R — равнодействующая сила 50Н;

$S_{в}$ — площадь передней части костного тоннеля в точке B и взята равной половине площади цилиндра имеющего высоту цилиндра в точке B 1 мм диаметр 8 мм.

$$S_{в} = 2\pi \times 4 \times 1/2 = 25,13/2 = 12,56 \text{ мм}^2 = 0,000125 \text{ м}^2.$$

$$\text{Тогда, } P_1 = 50\text{Н}/0,000125 \text{ м}^2 = 4\,000\,000 \text{ Па}$$

Для дугообразного костного тоннеля:

$$P_2 = R / S_{вс},$$

где P_2 — давление нити на переднюю стенку костного тоннеля по дуге BC ;

R — равнодействующая сила 50Н;

$S_{вс}$ — площадь передней части костного тоннеля и взята равной половине площади цилиндра имеющего высоту h 40 мм, диаметр 8 мм.

$$S_{вс} = 2\pi \times 4 \times 40 / 2 = 1005/2 = 502,3 \text{ мм}^2 = 0,0005023 \text{ м}^2.$$

$$\text{Тогда, } P_2 = 50\text{Н}/0,0005023 \text{ м}^2 = 99542 \text{ Па}$$

Сравним P_1 и P_2

$$P_1 / P_2 = 4000000 \text{ Па}/99542 \text{ Па} = 40,1$$

Таким образом, при воздействии на эндопротез одной и той же силы, давление, оказываемое эндопротезом на переднюю стенку костного тоннеля при его дугообразной форме в 40 раз меньше давления на переднюю стенку прямого костного тоннеля в месте выхода эндопротеза в полость сустава.

Построенная математическая модель распределения давления эндопротеза на стенки внутрикостного тоннеля при прямых костных тоннелях показала, что резорбция костной ткани в тоннелях возникает согласно правила параллелограмма сил и в местах выхода эндопротеза из костных тоннелей

в полость сустава **развивается значительное давление на костную ткань, которое сосредоточено в одной точке**, приводящее к ее постепенному разрушению. Математическая модель распределения давления эндопротеза на стенку дугообразного костного тоннеля демонстрирует, что давление, оказываемое эндопротезом на стенку костного тоннеля **равномерно распределено по всей длине дугообразного тоннеля, что приводит к значительному уменьшению давления** на костную ткань.

Произведенные числовые сравнительные расчеты убеждают, что дугообразные костные тоннели при эндопротезировании крестообразных связок являются оптимальными.

ВЫВОД

Применение дугообразных костных тоннелей при эндопротезировании крестообразных связок является более предпочтительными в связи с меньшим риском развития осложнений, связанных с механическим воздействием эндопротеза на костную ткань. Для реализации данного технического решения предложен перфоратор дугообразных каналов в кости патент РФ на изобретение № 2260389 от 29.03.2004 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богущкая Е.В. Отдаленные результаты пластического восстановления крестообразных связок коленного сустава лавсаном: Авторефер. ... дис. канд. мед. наук. — М., 1975. — 20 с.
2. Дубров В.Э. Хирургическая коррекция крестообразных и коллатеральных связок коленного сустава в остром периоде травмы (клинико-экспериментальное исследование): Дисс. ... докт. мед. наук / В.Э. Дубров. — М., 2003.
3. Лазишвили Г.Д. Оперативное лечение свежих повреждений связочного аппарата коленного сустава: Автореф. ... дис. канд. мед. наук / Г.Д. Лазишвили. — М., 1992. — 24 с.
4. Малыгина М.А. Эндопротезирование крестообразных связок коленного сустава: Автореф. ... дис. докт. мед. наук / М.А. Малыгина. — М., 2002. — 47 с.
5. Миан Амджад Али Хирургическое лечение застарелых сочетанных повреждений коленного сустава: Автореф. дис. ...канд. мед. наук / Амджад Али Миан. — М., 1996. — 18 с.
6. Glousman R. Gore-Tex prosthetic ligament in ACL deficient knees / R. Glousman, C. Shields, R. Kerlan // Am. J. Sports Med. — 1988. — Vol. 16, N 4. — P. 321 — 326.
7. Gore W.L. Gore-Tex cruciate ligament prosthesis: 5 year clinical results / W.L. Gore. — Company Literature, 1989.
8. Moseley B.J. 4 year follow up of ACL reconstruction using the Gore-Tex ligament / B.J. Moseley // 57th Annual Meeting AAOS. — 1990.

Сведения об авторах:

Фаткуллин Наиль Вахитович — врач-травматолог больницы скорой медицинской помощи г. Улан-Удэ, аспирант кафедры спортивной медицины ГОУ ВПО БГУ: 670042, г. Улан-Удэ, ул. Мокрова-42, кв. 61, д. тел. 8301245-10-35; fnv1969@mail.ru

Краснояров Геннадий Александрович — д.м.н., профессор, зав. кафедрой спортивной медицины ГОУ ВПО БГУ, д. тел. 83012551869.

С.А. Чукаев, О.А. Роднаева

ОЦЕНКА СПЕКТРА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ГИПОРАМИНА IN VITRO

Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)

В серии экспериментов продемонстрировано наличие у гипорамин (сухого экстракта листьев облепихи крушиновидной) комплексного механизма антиоксидантного действия, определяемого способностью фитосредства перехватывать липидные радикалы, «тушить» активные формы кислорода и снижать содержание свободных ионов двухвалентного железа, что в итоге предопределяет также и эффект торможения накопления ТБК-реактивных продуктов при добавлении фитоэкстракта в модельную систему in vitro.

Ключевые слова: антиоксиданты, хемилюминесценция, традиционная медицина, гипорамин

THE ESTIMATION OF ANTIOXIDANT ACTIVITY'S SPECTRUM OF HIPORAMINE IN VITRO

S.A. Chukaev, O.A. Rodnaeva

Buryat State University, Ulan-Ude

It was shown in series of experimental investigations, that pharmacological remedium «hiporamine» (dry extract of Hippophae rhamnoides leaves) demonstrates antioxidative properties. This kind of pharmacological activity of hiporamine bases on its capacity to trap the lipid radicals and active oxygen species as well as on effect of drug to decrease the free ferrous ions concentration in medium of model system in vitro.

Key words: antioxidants, chemiluminescence, traditional medicine, hiporamine

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных задач современной фармакологии является разработка новых эффективных и безопасных средств растительного происхождения. В частности, перспективным видом лекарственного растительного сырья является облепиха крушиновидная (*Hippophae rhamnoides* L.). Биологически активные вещества, выделяемые из различных частей данного растения обладают антимикробными, ранозаживляющими, капилляроукрепляющими, антиревматическими свойствами [5], а также противолучевой активностью [4]. В настоящее время в клинической практике в качестве лечебно-профилактического средства при гриппе используется препарат гипорамин, представляющий собой сухой экстракт листьев облепихи крушиновидной [9]. Его фармакологическая активность обусловлена присутствием в составе фитоэкстракта полифенольного комплекса галлоэлаготанинов. Тем не менее, следует отметить, что молекулярно-биохимические механизмы действия данного фармакологического средства изучены к настоящему времени явно недостаточно, что ограничивает его использование в экспериментальной и клинической фармакологии. Данные, приводимые в различных литературных источниках, свидетельствуют о том, что присутствие биологически активных веществ, относящихся к группе фенолов или полифенолов, в фармакологических средствах природного происхождения определяет наличие у них антиоксидантных свойств [2, 7, 8, 12]. В связи с этим, целью данного исследования явилось проведение количественной оценки способности гипорамин ингибировать реакции свободнорадикального окисления.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В данном исследовании были изучены фармакологические свойства гипорамин (сухого

экстракта листьев облепихи крушиновидной) производства ЗАО «Фармцентр ВИЛАР» (Россия). В серии экспериментов in vitro способность тестируемого фармакологического средства перехватывать липидные радикалы определяли с использованием метода Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции (ХЛ) [3]. Степень выраженности антирадикальных свойств в отношении активных форм кислорода (АФК) оценивали по динамике изменения интенсивности процессов генерации радикальных интермедиантов в системе цитрат натрия (45 мМ), фосфатный буфер (KH_2PO_4 20 мМ; KCl 105 мМ; $pH = 7,45$), люминол (10 мМ) [1]. Динамику изменения содержания свободных ионов двухвалентного железа определяли в цветной реакции с о-фенантролином [12] при добавлении в реакционную среду тестируемых средств в концентрациях 0,1 г/л и 0,3 г/л и ионов Fe^{2+} 20 мкМ, 40 мкМ и 60 мкМ. Кроме этого, общую антиоксидантную способность гипорамин определяли по методике, приведенной в работе [6], определяя концентрационную зависимость содержания ТБК-реактивных продуктов (ТБКРП) в суспензии липосом, приготовленных из желточных липопротеидов. Измерение интенсивности ХЛ проводили на установке «PXL-01» (Россия), а спектрофотометрические исследования на приборе СФ-46 (ЛОМО, Россия).

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики; о степени достоверности различий между экспериментальными группами судили по результатам численного определения параметра U (применяя непараметрический критерий Вилкоксона – Манна – Уитни).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе исследований изучали влияние гипорамина на динамику изменения параметров Fe^{2+} -индуцированной ХЛ в модельной системе, содержащей суспензию многослойных липосом из желточных липопротеидов. Эффекты фитопрепарата оценивали в широком диапазоне концентраций, имея ввиду необходимость предварительного определения диапазона эффективных действующих концентраций. Выявлено, что гипорамин *in vitro* практически не влияет на амплитуду «быстрой вспышки» ХЛ; при этом прослеживается концентрационная зависимость изменения параметров характеризующих интенсивность «медленной вспышки» сверхслабого свечения. Добавление в модельную систему тестируемого средства в наименьшей из исследованных концентраций (0,01 г/л) обуславливает тенденцию к некоторому увеличению максимальной скорости увеличения интенсивности ХЛ (параметр tg d); при этом амплитуда «медленной вспышки» (параметр Н м.в.) остается практически на уровне контрольных величин. Дальнейшее повышение концентрации тестируемого средства обуславливает монотонное снижение величин исследуемых показателей до нулевых значений (табл. 1).

Отмеченный фазный характер изменения интенсивности ХЛ соответствует данным, приводимым в ряде литературных источников [7, 11], согласно которым результирующий эффект соединений фенольной и полифенольной природы может иметь как про-, так и антиоксидантный характер и определяться в каждом конкретном случае химической природой биологически активного вещества и металла переменной валентности, их концентрационными соотношениями и типом модельной биологической системы.

Рассчитанное численное значение концентрации гипорамина, вызывающей двукратное уменьшение величины регистрируемых параметров (параметр $C_{1/2}$) составило: 0,054 г/л — по tg δ и 0,048 г/л — Н м.в.

На следующем этапе исследований изучали влияние гипорамина на интенсивность люминолзависимой ХЛ, индуцированной добавлением перекиси водорода и оценивали, таким образом, способность тестируемого средства к «тушению» АФК. Выявлено, что фитоэкстракт при добавлении в модельную систему в наименьшей из исследо-

ванных концентраций (0,01 г/л) не изменяет интенсивность ХЛ (рис. 1). Дальнейшее повышение концентрации гипорамина обусловило монотонное снижение величины исследуемого показателя до значений, близких к нулевым.

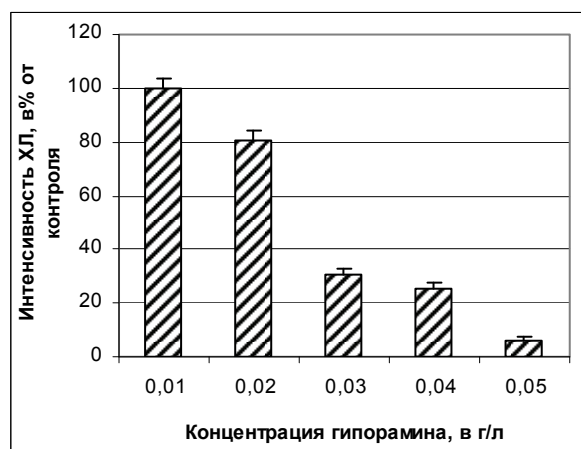


Рис. 1. Влияние гипорамина на интенсивность люминолзависимой хемилюминесценции.

Как известно, одним из механизмов непрямого антиоксидантного действия химических соединений является их комплексообразующая способность по отношению к ионам двухвалентного железа. В этой связи в отдельной серии экспериментов было изучено влияние гипорамина на содержание Fe^{2+} в модельной системе *in vitro*. Выявлено, что добавление тестируемого фармакологического средства в реакционную среду в концентрациях 0,1 – 0,3 г/л обуславливает снижение содержания свободных ионов двухвалентного железа в среднем на 29,5 – 43,2 % по сравнению с уровнем контрольных значений (20 – 60 мкМ) (рис. 2). Эффект является статистически значимым при всех исследованных концентрационных соотношениях добавляемых в модельную систему реагентов, однако умеренный характер его выраженности не позволяет, в отличие от двух предыдущих серий экспериментов, рассчитать численное значение параметра $C_{1/2}$.

Результаты ТБК-теста свидетельствуют о том, что гипорамин в концентрациях 0,03 г/л и 0,1 г/л практически не изменяет содержание ТБКРП в модельной системе *in vitro*, добавление тестируемого фитосредства в больших количествах вызывает

Таблица 1

Влияние гипорамина на параметры Fe^{2+} -индуцированной хемилюминесценции

Концентрация гипорамина (г/л)	tg δ (% от контроля)	Н м.в. (% от контроля)
0,01	110,7 ± 8,5	101,2 ± 9,8
0,025	81,0 ± 6,1*	82,3 ± 6,5*
0,05	56,9 ± 4,7*	48,6 ± 4,1*
0,1	23,0 ± 2,8*	20,1 ± 1,9*
0,3	0*	0*

Примечание: * – статистически достоверное отклонение от контроля ($p < 0,05$).

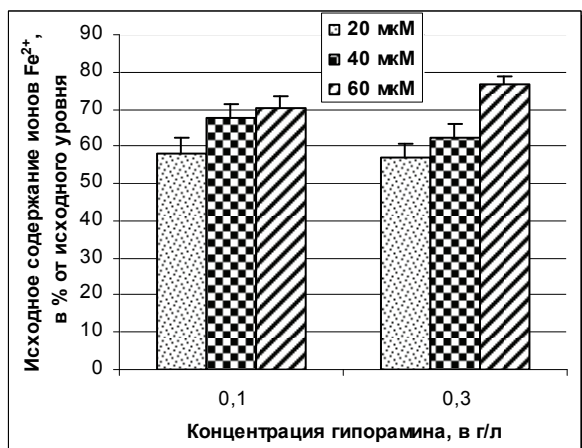


Рис. 2. Влияние гипорамина на содержание свободных ионов Fe^{2+} .

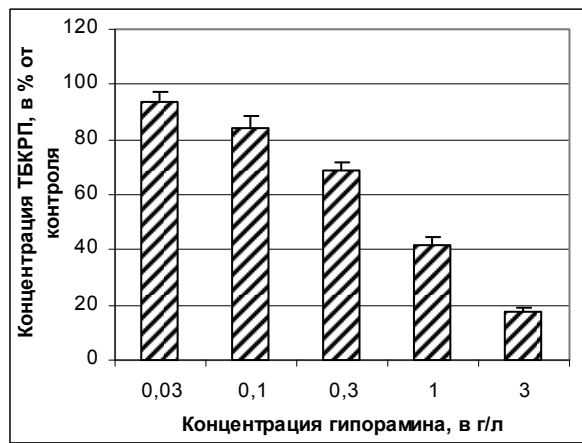


Рис. 3. Влияние гипорамина на содержание ТБК-реактивных продуктов.

существенное уменьшение исследуемого показателя (в среднем на 31,4 – 82,8 %) (рис. 3). При этом, в отличие от результатов, полученных при проведении хемилюминесцентного анализа, достижения нулевых величин исследуемого параметра даже в диапазоне высоких концентраций (1,0 – 3,0 г/л) не регистрируется. Рассчитанное методом интерполяции численное значение параметра $C_{1/2}$ (по результатам ТБК-теста) составляет 0,68 г/л.

Таким образом, в серии экспериментов *in vitro* установлена способность гипорамина ингибировать реакции свободнорадикального окисления и установлены молекулярно-биохимические механизмы его антиоксидантного действия, состоящие в наличии у него как прямой радикалперехватывающей активности в отношении липидных радикалов, так и непрямых антиоксидантных свойств (а именно, способности «тушить» активные формы кислорода и снижать содержание свободных ионов двухвалентного железа). Указанные виды активности определяют также и способность фитоекстракта тормозить накопление ТБКРП в модельной системе *in vitro*. В сравнительном плане – в максимальной степени выражены эффекты взаимодействия гипорамина с АФК, в минимальной – способность регулировать содержание ионов двухвалентного железа и тормозить образование продуктов перекисного окисления липидов. По всей видимости антиоксидантные свойства фитоекстракта определяются наличием в его составе полифенольного комплекса галлоэллаготанинов [5]. Учитывая тот факт, что фармакологический эффект в данном случае определяется суммарным действием целого ряда биологически активных веществ, с нашей точки зрения, при проведении численной оценки степени выраженности действия гипорамина и подобных ему средств природного происхождения более правомерно использовать термин «антиоксидантная способность» [10], а не антиоксидантная активность, как это принято для химически чистых биологически активных веществ.

Следует также отметить, что диапазон концентраций, в которых регистрируются указан-

ные выше эффекты соответствует диапазону экспериментально-терапевтических доз, в которых данное фармакологическое средство применяется *in vivo*. Таким образом, способность гипорамина к комплексной регуляции процессов свободнорадикального окисления является одним из основных механизмов его фармакологического действия, предопределяющим потенциально широкие показания к его применению в качестве средства профилактики и коррекции состояний свободнорадикальной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдрашитова Н.Ф. [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1998. – Т. 125, № 3. – С. 297 – 299.
2. Колесова В.Г. [и др.] // Эфферентная терапия. – 1996. – Т. 2, № 1. – С. 67 – 71.
3. Лопухин Ю.М. [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1983. – Т. 95, № 2. – С. 61 – 63.
4. Мизина Т.Ю. / Т.Ю. Мизина, С.Г. Ситникова // Раст. ресурсы. – 1999. – Т. 35, Вып. 3. – С. 85 – 92.
5. Минаева В.Г. Лекарственные растения Сибири / Минаева В.Г. – 5-е изд., перераб. и доп. – Новосибирск: Наука. Сиб. отделение, 1991. – 431 с.
6. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Клебанов Г.И. [и др.] // Лаб. дело. – 1988. – № 5. – С. 59 – 62.
7. Сыров В.Н. [и др.] // Хим.-фарм. журнал. – 1987. – Т. 21, № 1. – С. 59 – 62.
8. Чукаев С.А. [и др.] // Сиб. мед. журнал. – 2005. – Т. 53, № 4. – С. 61 – 64.
9. Щелканов М.Ю. [и др.] // Иммунология. – 2001. – № 4. – С. 21 – 23.
10. Prior R.L. / R.L. Prior, G. Cao // Free Radic. Biol. and Med. – 1999. – Vol. 27, N 11 – 12. – P. 1173 – 1181.
11. Sugihara N. [et al.] // Free Radic. Biol. and Med. – 1999. – Vol. 27, N 11 – 12. – P. 1313 – 1323.
12. Yoshino M. / M. Yoshino, K. Murakami // Anal. Biochem. – 1998. – Vol. 257. – P. 40 – 44.