

Л. В. Яковлева<sup>1</sup>, О. В. Геруш<sup>2</sup>,  
Ю. Б. Лар'яновська<sup>1</sup>, О. Я. Міщенко<sup>1</sup>

## Морфологічні дослідження гепатопротекторної дії нового рослинного засобу за умов експериментального гепатиту, викликаного туберкулоstaticами

<sup>1</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків  
<sup>2</sup>Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Ключові слова:** експериментальний гепатит, викликаний туберкулоstaticами, морфологічні дослідження, гепатопротекторна дія

Ураження печінки у хворих на туберкульоз, що спричинене впливом етіотропних препаратів, займає в загальній структурі патології печінки і в структурі несприятливих побічних реакцій хіміотерапії туберкульозної інфекції одну з провідних позицій [1–4]. Лікування туберкульозу передбачає використання комбінованої хіміотерапії (4–6 одночасно призначених препаратів), спричиняючи значне медикаментозне навантаження на один з основних органів детоксикації ксенобіотиків – печінку. Тому одне з перших місць серед ускладнень комбінованої хіміотерапії туберкульозу займають лікарські ураження печінки, частота яких становить 60 % на тлі застосування препаратів першого ряду, а при використанні препаратів другого ряду – 42,4 % [1–4]. Лікарські ураження печінки перешкоджають проведенню повноцінної етіотропної терапії й вимагають її скасування в 11–28 % пацієнтів [1, 4].

Одним з основних підходів до профілактики та лікування гепатотоксичних реакцій на тлі протитуберкульозної терапії є використання гепатопротекторів [5]. Зважаючи на вищенаведене, актуальними є ще на етапі доклінічного вивчення нових потенційних гепатопротекторів дослідження їхньої дії на експериментальних моделях ушкодження печінки, викликаних протитуберкульозними препаратами.

**Мета дослідження** – оцінка ефективності нового комплексного рослинного засобу (КРЗ) у вигляді гранул під умовною назвою «ШКТ-2» за умов експериментального гепатиту, викликаного туберкулоstaticами, за даними морфологічного дослідження.

**Матеріали та методи.** Об'єктами дослідження були гранули КРЗ «ШКТ-2» та фармацевтичний засіб, що містить екстракти рутки лікарської та плодів розторопши плямистої (ЕРЛРП) [5], як препарат порівняння. Гранули «ШКТ-2» – новий комплексний фармакологічний засіб, що містить нативні порошки квіток нагідок, ромашки, кореня солодки голої, листя кропиви дводомної, кореневища з корінням валеріани лікарської, плодів шипшини коричневої, насіння каштану кінського та пшеничні висівки [6, 7].

Були проведені гістологічні дослідження печінки щурів з експериментальним гепатитом, викликаним внутрішньошлунковим введенням у вигляді водної суспензії суміші туберкулоstaticів (ізоніазид 50 мг/кг, рифампіцин 500 мг/кг та піразинамід 1500 мг/кг) протягом 14 днів [8] – контрольна патологія; печінки щурів, яким за один тиждень до початку досліду та протягом наступних 14 днів за 1 год до введення суміші туберкулоstaticів внутрішньошлунково вводили гранули «ШКТ-2» у дозі 900 мг/кг один раз на один день або препарат порівняння ЕРЛРП (88 мг/кг) в аналогічному режимі; а також печінки інтактних тварин – інтактний контроль. Усього було використано 40 щурів самців масою 180–220 г по 10 тварин у кожній

групі. Використана доза (900 мг/кг) гранул «ШКТ-2» була обґрунтована в попередніх дослідженнях як найефективніша [6]. Препарат порівняння ЕРЛРП використовували в дозі 88 мг/кг, що визначена в результаті перерахунку ефективної дози для людини з урахуванням коефіцієнта видової чутливості [9]. Усі дослідження на тваринах проводили відповідно до сучасних вимог згідно з «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» (Київ, 2007 р.). Зразки печінки фіксували в 10 % розчині формаліну, розподіляли від кожної тварини на декілька частин. Одну частину зневоднювали в спиртах зростаючої міцності, заливали в целюлін-парафін. Отримані з блоків зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Другу частину різали на мікротомі, що заморожує, фарбували суданом IV для виявлення нейтральних жирів, проводили ШІК-реакцію за Мак-Манусом для виявлення глікогену [10, 11]. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400 (Австрія), мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500, цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nikon View 5, Tour View.

**Результати та їх обговорення.** У щурів з групи інтактного контролю стан печінкової паренхіми був типовим, не було виявлено жодних змін патологічного характеру. При постановці ШІК-реакції встановлено, що

цитоплазма гепатоцитів у різних зонах часточок рівномірно заповнена ШІК позитивним матеріалом, фарбування суданом не виявило вмісту жирів у клітинах.

Після введення туберкулостатиків частина гепатоцитів була мозаїчно по часточках збільшена в розмірі. Відмічали дрібні фокуси некробіозу та некрозу клітин (рис. 1). У цитоплазмі більшості гепатоцитів було видно різні за розміром оптично пусті зони. Просвіт синусоїдальних гемокапілярів зонально виразно звужений або не визначався. Однак місцями вони були дещо розширені, містили білковий випіт. Усе це призводило до порушення балкової структури органа. Частина центральних вен була повнокровоною, у деяких кровоносних судинах відмічено стаз еритроцитів, було видно крайове стояння клітин крові. Де-не-де були простежені дрібні крововиливи. Відмічали різну за виразністю лімфоїдно-клітинну інфільтрацію сполучної тканини окремих триад та кровоносних судин (рис. 1).

Фарбування на глікоген показало зниження його вмісту в цитоплазмі гепатоцитів, а фарбування суданом – пілоподібне накопичення нейтральних жирів у клітинах (рис. 2).

Отримані дані співпадають з результатами дослідження Д. С. Суханова (2014 р.) [8], в якому також встановлені аналогічні пошкодження печінки на тлі введення протитуберкульозних препаратів. З джерел літератури відомо, що ізоніазид і рифампіцин є індуктора-

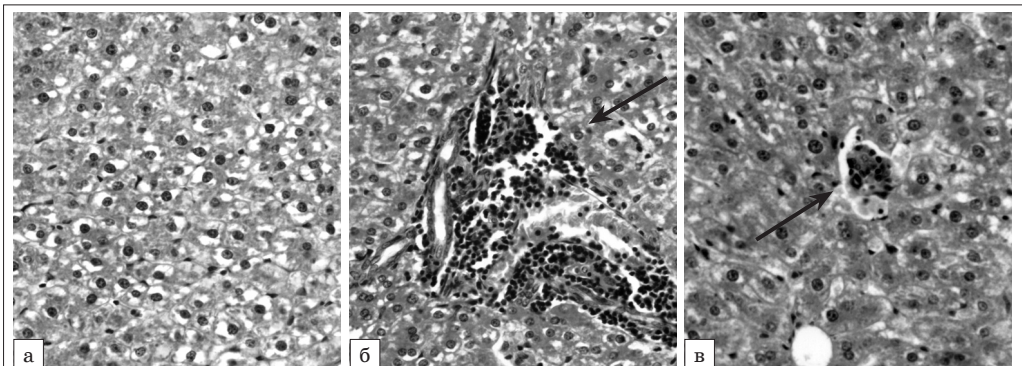


Рис. 1. Печінка щурів після введення туберкулостатиків: а – порушення балкової структури, зернистість та оптично пусті зони в цитоплазмі клітин  $\times 200$ ; б – лімфоїдно-клітинна інфільтрація зони триади  $\times 100$ ; в – дрібний осередок некрозу гепатоцитів (гематоксилін-еозин)  $\times 200$

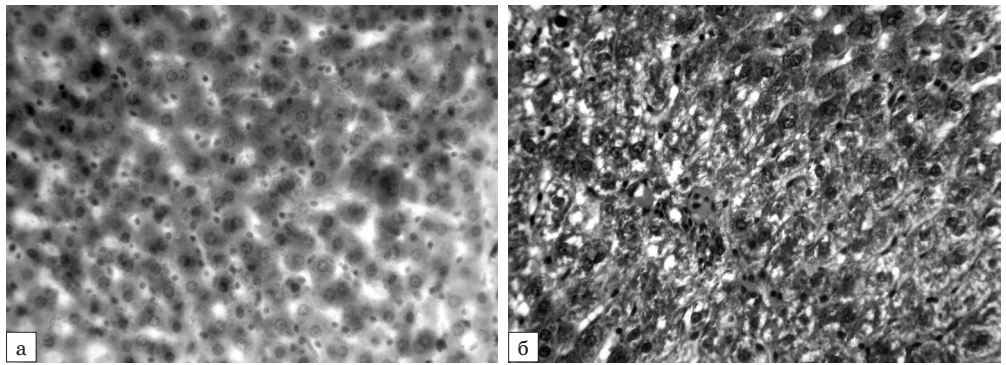


Рис. 2. Печінка щурів після введення туберкулоstaticів: а – пілоподібна жирова дистрофія (судан IV)  $\times 200$ ; б – зниження вмісту глікогену в гепатоцитах (ШІК-реакція за Мак-Манусом)  $\times 250$

ми ізоформ цитохрому СYP 2E1 і 3A4 [4, 8]. Активація СYP3A4 призводить до підвищення метаболізму ізоніазиду з утворенням токсичних метаболітів, що пояснює потенціювання гепатотоксичного ефекту при поєднаному введенні цих препаратів. Рифампіцин стимулює також ізоніазид-гідролази, що призводить до збільшення утворення гідразину, особливо в пацієнтів з повільним ацетилюванням, тим самим підвищуючи токсичний потенціал препаратів [4]. Піразинамід здатний активувати перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), виснажуючи антиоксидантні резерви, пошкоджуючи мембранні структури гепатоцитів, потенціюючи гепатотоксичну дію рифампіцину й ізоніазиду [8].

Після лікування гранулами «ШКТ-2» на тлі введення суміші туберкулоstaticів практично в усіх щурів у межах мікропрепарату спостерігали різні за розміром та розповсюдженістю осеред-

ки, що містили гепатоцити з вакуолями та оптично пустими зонами в цитоплазмі, частина клітин була в стані некробіозу. Радіальна спрямованість тяжів гепатоцитів простежувалася більш чітко, ніж у контрольній патології. Стан синусоїдальних гемокапілярів у цілому був наближений до норми. Жирова та вуглеводна дистрофія печінки більшості щурів – знижена (рис. 3).

Препарат порівняння ЕРЛРП сприяв значному зменшенню ознак ураження тканини печінки сумішшю туберкулоstaticів. У щурів відсутнім був некробіоз гепатоцитів, відновлювалася нормальна гістоархітектоніка печінкових балок, накопичення глікогену в клітинах відбувалося рівномірно. Була збережена дрібновакуольна жирова дистрофія гепатоцитів, яка носила дифузний або великоосередковий характер без ознак порушення як цілісності клітин, так і рисунка тканини (рис. 4).

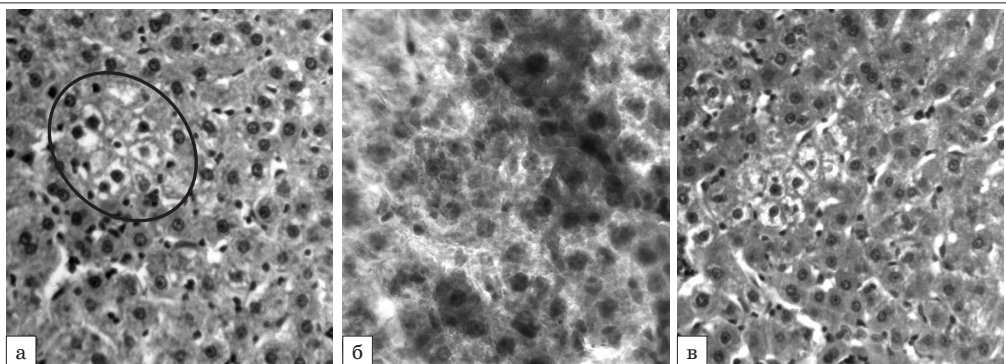


Рис. 3. Печінка щурів після введення гранул «ШКТ-2» на тлі суміші туберкулоstaticів: а – дрібний осередок дистрофічних гепатоцитів (гематоксилін-еозин)  $\times 200$ ; б – зменшення жирової дистрофії (судан IV)  $\times 250$ ; в – зменшення вуглеводної дистрофії (ШІК-реакція за Мак-Манусом)  $\times 200$

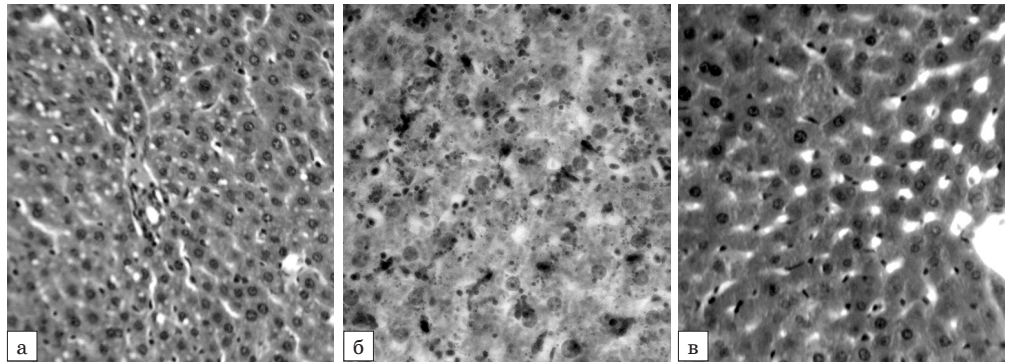


Рис. 4. Печінка щурів після введення ЕРЛРП на тлі туберкулозостатиків: а – дрібнокрапельна вакуолізація гепатоцитів (гематоксилін-еозин)  $\times 200$ ; б – дрібні жирові вакуольки (судан IV)  $\times 250$ ; в – відсутність вуглеводної дистрофії (ШКТ-реакція за Мак-Манусом)  $\times 200$

Таким чином, за даними морфологічного аналізу встановлено, що гранули «ШКТ-2» сприяли зниженню рівня структурно-дистрофічних змін, що виникли в печінці щурів після впливу туберкулозостатиків. За вираженістю нормалізувального впливу на структуру гепатоцитів гранули «ШКТ-2» не поступалися класичному гепатопротекторному препарату порівняння ЕРЛРП, що обґрунтовує перспективність їхнього подальшого клінічного застосування.

Враховуючи результати попередніх досліджень гранул «ШКТ-2» на інших експериментальних моделях гепатиту [6, 7] і дані щодо фармакологічних властивостей препарату ЕРЛРП [5], імовірним механізмом гепатопротекторної дії цих засобів на даній моделі є

їхня здатність гальмувати процеси ПОЛ і підвищувати активність антиоксидантного захисту.

### Висновки

1. Гранули «ШКТ-2» сприяли зниженню рівня структурно-дистрофічних змін (некрозу, жирової та вуглеводної дистрофії), спричинених туберкулозостатиками.
2. За вираженістю нормалізувального впливу на структуру гепатоцитів гранули «ШКТ-2» не поступалися гепатопротекторному препарату порівняння, який містить екстракти рутки лікарської та плодів розторопши плямистої, що обґрунтовує перспективність їхнього подальшого клінічного застосування.

1. Частота, характер и факторы риска лекарственно-индуцированного поражения печени при лечении впервые выявленных больных туберкулезом / Д. А. Иванова, С. Е. Борисов, А. М. Рыжов, Т. Н. Иванушкина // Туберкулез и болезни легких. – 2013. – № 11 (90). – С. 25–31.
2. Antituberculosis drug-induced liver injury: an ignored fact, assessment of frequency, patterns, severity and risk factors / I. Naqvi, K. Mahmood, A. Talib, A. Mahmood // Open Journal of Gastroenterology. – 2015. – V. 5. – P. 173–184.
3. Incidence, Clinical Features and Impact on Anti-Tuberculosis Treatment of Anti-Tuberculosis Drug Induced Liver Injury (ATLI) in China / P. Shang, Y. Xia, F. Liu [et al.] // PLoS ONE. – 2011. – V. 6 (7): e21836. doi:10.1371/journal.
4. Ramappa V. Hepatotoxicity related to anti-tuberculosis drugs: mechanisms and management / V. Ramappa, G. P. Aithal // J. Clin. Exp. Hepatol. – 2013. – V. 3(1). – P. 37–49.
5. Гепатопротектори в лікуванні захворювань печінки: клініко-біохімічні механізми дії / Н. В. Харченко, Г. А. Анохіна, С. І. Чекман [та ін.] // Здоров'я України. – 2013. – № 1 (27). – С. 28–29.
6. Яковлева Л. В. Дослідження гепатозахисної дії нового рослинного засобу «ШКТ-2» / Л. В. Яковлева, О. В. Геруш, С. В. Спиридонов // Вісник фармації. – 2011. – № 3 (67). – С. 70–73.
7. Експериментальне вивчення гранул «ШКТ-2» як потенційного гепатотропного засобу / О. В. Геруш, Л. В. Яковлева, Ю. Б. Лар'яновська, Т. С. Сахарова // Український біофармацевтичний журнал. – 2015. – № 2 (37). – С. 44–48.
8. Суханов Д. С. Фармакотерапия лекарственных поражений печени при туберкулезе (экспериментально-клиническое исследование): дис. на соискание научной степени доктора мед. наук : спец. 14.01.16 «Фтизиатрия», 14.03.06 «Фармакология, клиническая фармакология» / Д. С. Суханов. – Санкт-Петербург, 2014. – 273 с.

9. Уланова И. П. К вопросу об учете поверхности тела экспериментальных животных при токсикологическом исследовании / И. П. Уланова, К. К. Сидоров, А. И. Халепо; под ред. А. А. Летавета и И. В. Саноцкого. – Ленинград : Изд. «Медицина», 1968. – Вып. 10. – С. 18–25.
10. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – Москва : Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.
11. Пирс Э. Гистохимия. Теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – Москва : Издательство иностранной литературы, 1962. – 962 с.

**Л. В. Яковлева, О. В. Геруш, Ю. Б. Лар'яновська, О. Я. Міщенко**  
**Морфологічні дослідження гепатопротекторної дії нового рослинного засобу за умов експериментального гепатиту, викликаного туберкулоstaticами**

*Мета дослідження* – оцінка ефективності нового комплексного рослинного засобу гранул «ШКТ-2» за умов експериментального гепатиту, індукованого туберкулоstaticами, за даними морфологічного дослідження.

Проведено гістологічні дослідження печінки щурів з експериментальним гепатитом, викликаним внутрішньошлунковим введенням туберкулоstaticів (ізоніазиду 50 мг/кг, рифампіцину 500 мг/кг та піразинаміду 1500 мг/кг) протягом 14 днів за умов застосування гранул «ШКТ-2» та препарату порівняння. Зразки печінки фіксували в 10 % розчині формаліну. Одну частину зразків зневоднювали в спиртах зростаючої міцності, заливали в целлоїдин-парафін. Отримані з блоків зрізи фарбували гематоксилином та еозином. Другу частину зразків різали на мікротомі, що заморожує, фарбували суданом IV для виявлення нейтральних жирів, проводили ШИК-реакцію за Мак-Манусом для виявлення глікогену. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400 (Австрія).

Встановлено, що в щурів з групи контрольної патології після введення туберкулоstaticів частина гепатоцитів була мозаїчно збільшеною в розмірі. Встановлено зони некробіозу та некрозу клітин, порушення балкової структури органа, різну за виразністю лімфоїдно-клітинну інфільтрацію сполучної тканини окремих триад та кровеносних судин, зниження вмісту глікогену в цитоплазмі гепатоцитів та пілоподібне накопичення нейтральних жирів у клітинах. Після введення гранул «ШКТ-2» незначна частина клітин була в стані некробіозу. Радіальна спрямованість тяжів гепатоцитів простежувалася більш чітко, ніж у печінці щурів контрольної патології. Жирова та вуглеводна дистрофія в печінці більшості щурів цієї групи була менш виразною. Препарат порівняння сприяв значному зменшенню ознак пошкодження тканини печінки сумішшю туберкулоstaticів: прояви некробіозу гепатоцитів були відсутні, нормальна гістоархітектоніка печінкових балок була відновлена, накопичення глікогену в клітинах відбувалося рівномірно. Місцями була збережена дрібновакуольна жирова дистрофія гепатоцитів.

Таким чином, гранули «ШКТ-2» сприяли зниженню рівня структурно-дистрофічних змін (некрозу, жирової та вуглеводної дистрофії), спричинених туберкулоstaticами. За вираженістю нормалізувального впливу на структуру гепатоцитів гранули «ШКТ-2» не поступались препарату порівняння, що обґрунтовує перспективність їхнього подальшого вивчення та клінічного застосування.

*Ключові слова:* експериментальний гепатит, викликаний туберкулоstaticами, морфологічні дослідження, гепатопротекторна дія

**Л. В. Яковлева, О. В. Геруш, Ю. Б. Ларьяновская, О. Я. Мищенко**  
**Морфологические исследования гепатопротекторного действия нового растительного средства в условиях экспериментального гепатита, вызванного туберкулоstaticами**

*Цель исследования* – оценка эффективности нового комплексного растительного средства гранул «ЖКТ-2» в условиях экспериментального гепатита, индуцированного туберкулоstaticами, по данным морфологического исследования.

Проведены гистологические исследования печени крыс с экспериментальным гепатитом, вызванным внутрижелудочным введением туберкулоstaticов (изониазида 50 мг/кг, рифампицина 500 мг/кг и пиразинамида 1500 мг/кг в течение 14 дней) в условиях применения гранул «ШКТ-2» и препарата сравнения. Образцы печени фиксировали в 10 % растворе формалина. Одну часть образцов обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, заливали в целлоидин-парафин. Полученные из блоков срезы окрашивали гематоксилином и еозином. Вторую часть образцов резали на замораживающем микротоме, окрашивали суданом IV для выявления нейтральных жиров, проводили ШИК-реакцию по Мак-Манусу для выявления гликогена. Просмотр микропрепаратов проводили под микроскопом Mikros 400 (Австрия).

У крыс из группы контрольной патологии после введения туберкулоstaticов часть гепатоцитов была мозаично увеличена в размере. Установлено нарушение балочной структуры органа, зоны некробіоза и некроза клеток, разную по выразительности лимфоидно-клеточную инфильтрацию соединительной ткани отдельных триад и кровеносных сосудов, снижение содержания гликогена в цитоплазме гепатоцитов и пылеподобное накопление нейтральных жиров в клетках. После введения гранул «ЖКТ-2» только незначительная часть клеток была в состоянии некробіоза. Радіальна

---

---

направленность тяжелой гепатоцитов прослеживалась более четко, чем в печени животных группы контрольной патологии. Жировая и углеводная дистрофия у большинства крыс была менее выраженной. Препарат сравнения способствовал значительному уменьшению признаков поражения ткани печени туберкулоstaticами: проявления некробиоза гепатоцитов отсутствовали, была восстановлена нормальная гистоархитектоника печеночных балок, распределение гликогена в клетках было равномерным. Местами была сохранена крупновакуольная жировая дистрофия гепатоцитов.

Таким образом, гранулы «ЖКТ-2» способствовали уменьшению уровня структурно-дистрофических изменений (некроза, жировой и углеводной дистрофии), вызванных туберкулоstaticами. По выраженности нормализующего влияния на структуру гепатоцитов гранулы «ЖКТ-2» не уступали препарату сравнения, что обосновывает перспективность их дальнейшего изучения и клинического применения.

*Ключевые слова: экспериментальный гепатит, вызванный туберкулоstaticами, морфологические исследования, гепатопротекторное действие*

**L. V. Iakovlieva, O. V. Gerush, Yu. B. Lar'yanovska, O. Ya. Mischenko**  
**Morphological study hepatoprotective action of new herbal preparation**  
**in conditions of experimental hepatitis induced by tuberculostatics**

*The aim of the study* was morphological evaluation of new herbal agent-granules «GIT-2» effectiveness in experimental hepatitis induced by tuberculostatics.

Histological examination of rats liver with hepatitis induced by tuberculostatics (isoniazid 50 mg/kg, rifampicin 500 mg/kg, pyrazinamide 1500 mg/kg intragastrically 14 days) and under action of drugs. The samples of liver were fixed in 10 % formalin solution, dehydrated in alcohols and were embedded in celloidin-paraffin. One part of blocks were stained with hematoxylin and eosin, the second part of blocks were stained with sudan IV for neutral fats determination, for glycogen determination ShIK-reaction by Mac-Manus was conducted. Micropreparations were studied with microscope Mikros 400 (Austria).

It was shown that after administration of tuberculostatics the part of hepatocytes was increased in size. The sites of necrobiosis and necrosis cells, violation of beam body structure, lymphoid cell infiltration of the connective tissue of individual triads and blood vessels, reduction of glycogen in hepatocytes and accumulation of neutral fats in the cells were established. After administration of granules «GIT-2» only a small part of the cells were observed in necrobiosis state. Radial direction of hepatocytes strands was traced more clearly than in the control pathology. Fatty and carbohydrate dystrophy in the majority of rats was decreased. The reference drug reduced liver tissue damage: manifestations of hepatocytes necrobiosis were absent, normal liver histoarchitectonics of beams has been restored, distribution of glycogen in the cells were uniform. Fatty degeneration of hepatocytes was preserved in some places.

Thus, granules «GIT-2» reduced structural and degenerative changes (necrosis, fatty and carbohydrate dystrophy) caused by tuberculostatics. Effect of «GIT-2» corresponds to classic hepatoprotector containing extracts of *Fumaria officinalis* and *Silybum marianum* fruits, that justifies the prospects of clinical use.

*Key words: tuberculostatics induced experimental hepatitis, morphological studies, hepatoprotective action*

---

*Надійшла: 10 жовтня 2016 р.*

**Контактна особа:** Міщенко Оксана Яківна, професор, доктор фарм. наук, кафедра фармакоeкономіки, Національний фармацевтичний університет, буд. 4, вул. Валентинівська, м. Харків, 61168. Тел.: + 38 0 96 502 09 71. Електронна пошта: mishchoksana@gmail.com