

**ФГУН "Ростовский научно-исследовательский институт  
микробиологии и паразитологии" Роспотребнадзора РФ**

**"УТВЕРЖДАЮ"**

Директор ФГУН "Ростов НИИМП"  
Роспотребнадзора РФ

Твердохлебова Т.И.

«~~17~~» февраля 2011 г.



**ОТЧЕТ**

**по теме: "Изучение гепатопротективных свойств  
1,3-диэтилбензимидазолия йодида"**

Ростов-на-Дону

2011

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, за последние 20 лет во всем мире наметилась отчетливая тенденция к росту числа заболеваний печени. Только в странах СНГ ежегодно дополнительно регистрируется от 500 тысяч до 1 миллиона человек, болеющих той или иной печеночной патологией. По данным ВОЗ в мире насчитывается более 2 миллиардов человек, страдающих заболеваниями печени, что в 100 раз превышает распространенность ВИЧ-инфекции. Значимую долю в структуре печеночных патологий занимают хронические гепатиты, распространенность которых очень высокая и составляет около 5% взрослого населения планеты. В этой связи, поиск новых гепатопротекторных препаратов, обладающих восстанавливающим действием на ткань печени, представляется чрезвычайно актуальным. Одним из потенциальных препаратов, обладающим высоким регенерационным эффектом, является 1,3-диэтилбензимидазолия йодид. Поэтому, было проведено изучение гепатопротективных свойств этого препарата в экспериментальной модели прогрессирующего хронического гепатита, вызываемого многократным введением лабораторным животным четыреххлористого углерода ( $CCl_4$ ).

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В эксперименте были использованы 50 белых крыс массой 250 г.

Перед началом эксперимента декапитировали 5 крыс интактной группы (без воздействия токсиканта и препаратов), собирали оттекающую кровь, извлекали печень и фиксировали ее в 10 % растворе формалина.

Остальных крыс разделяли на 3 группы: контрольная и опытная группы, а также группа сравнения.

Крысам всех групп вводили однократно внутрибрюшинно раствор четыреххлористого углерода ( $CCl_4$ ) на оливковом масле (соотношение 1 : 1) в дозе 0,4 мл  $CCl_4$ /кг массы. В дальнейшем с 14-го дня эксперимента животным всех групп вводили подкожно на протяжении 3-х дней раствор четыреххлористого углерода ( $CCl_4$ ) на оливковом масле (1 : 1) в дозе 2,0 мл  $CCl_4$ /кг массы, что позволяло добиваться нарастающего поражения паренхимы печени.

Животные опытной группы получали за час до первого введения раствора  $CCl_4$ , а затем ежедневно интраперитонеально водный раствор 1,3-диэтилбензимидазола йодида в количестве 1,0 мл, что соответствует дозе

препарата 10 мг/кг. Животные группы сравнения получали за час до первого введения раствора  $CCl_4$ , а затем ежедневно интраперитонеально по 1 мл раствора препарата Гептрал (адеметионина 1,4-бутандисульфонат), что соответствует дозе 500 мг/кг.

Животные контрольной группы получали за час до первого введения раствора  $CCl_4$ , а затем ежедневно интраперитонеально по 1 мл воды для инъекций.

Животных всех групп по 5 крыс декапитировали на 3, 14 и 28 дни эксперимента. Собирали отекающую кровь в пробирки, извлекали печень и фиксировали ее в растворе формалина.

Проводили следующие исследования:

1. Изучение гистологического строения печени: проводили окраску микропрепаратов гематоксилин-эозином; для изучения структуры соединительной ткани препараты окрашивали по методу Ван Гизона; для определения содержания гликогена в срезах был использован метод Шабадаша (ШИК-реакция).
2. Изучение таких биохимических параметров крови, как активность аспартаттрансаминазы (АСТ) и аланинтрансаминазы (АЛТ) с вычислением индекса де Ритиса, представляющего собой отношение активности ферментов АСТ/АЛТ. Диагностическое значение индекса де Ритиса заключается в том, что по величине данного показателя можно судить о тяжести поражения печени.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Изучение гистологической картины показало, что в печени животных контрольной группы (без лечения) на 3 сутки после применения гепатотоксина  $CCl_4$  определялись очаги мелкокапельной жировой дистрофии печеночных клеток преимущественно перипортальных зон печеночных синусов с наличием одиночных жировых клеток – перерожденных гепатоцитов, а также очаги базофильной дегенерации и коагуляционного некроза печеночных клеток. Отмечалось значительное количество лизирующихся гепатоцитов. В перипортальной соединительной ткани имелись скопления полиморфноядерных лейкоцитов. Выявлено плотное содержание лимфо-макрофагальных клеток вокруг некротизированных печеночных клеток.

В печени крыс, леченных Гептралом, на 3 сутки после применения четыреххлористого углерода отмечались очаги мелкокапельной жировой дистрофии печеночных клеток, которые локализовались преимущественно в центральной части дольки, выявлены очаги базофильной дегенерации и коагуляционного некроза гепатоцитов, обнаружено много лизирующихся печеночных клеток. Были отмечены двухъядерные и полиплоидные гепатоциты.

У группы животных, леченных 1,3-диэтилбензимидазолия йодидом, на третьи сутки эксперимента наблюдали следующую морфологическую картину: по сравнению с контрольными животными была лучше сохранена дольковая и балочная структура печени, в меньшей степени был выражен некроз гепатоцитов. При меньшей выраженности некроза печени следует считать более результативным компенсаторно-адаптивные и регенераторные изменения, отмеченные в печени, о чем свидетельствовало наличие двухъядерных гепатоцитов, а также полиплоидных ядер с крупными ядрышками.

На третьи сутки эксперимента у животных всех групп было отмечено значительное снижение такого биохимического показателя, как индекс де Ритиса ниже значения, характерного для интактных животных, что также, как и данные морфологических исследований, свидетельствует о развитии у животных контрольной, опытной групп и группы сравнения острого гепатита (табл.).

На 14 сутки после введения животным  $CCl_4$  у крыс контрольной группы нарастала выраженность жировой дистрофии с увеличением количества жировых клеток, увеличивалось число некротизированных гепатоцитов вплоть до гибели отдельных печеночных долек, нарастало количество и объем внутривольковых и перипортальных, преимущественно моноклеарных инфильтратов, резко снижалось содержание гликогена. В то же время, несколько повышалась компенсаторно-адаптивная и регенераторная активность печеночной ткани, что проявлялось в незначительном очаговом увеличении количества двухъядерных и полиплоидных гепатоцитов.

На 28 сутки эксперимента (через 14 дней после повторной интоксикации животных) в печени крыс контрольной группы значительно увеличивалось количество жировых клеток, формировались мультилобулярные некрозы, гликоген определялся в виде «следов» или отсутствовал, расширялась площадь воспалительных моноклеарных инфильтратов. Количество двухъядерных и полиплоидных гепатоцитов увеличивалось незначительно и очагово.

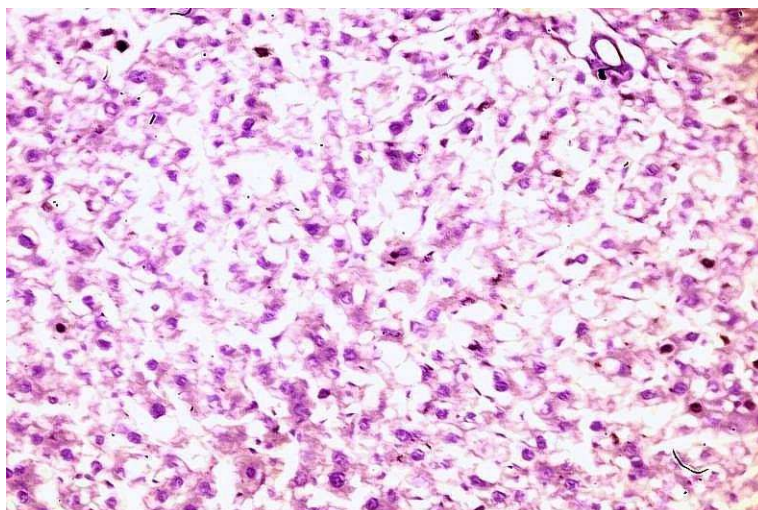
Таким образом, у животных контрольной группы животных в динамике эксперимента отмечается острое цитотоксическое поражение печени с развитием дистрофических изменений, некроза и воспалительной реакции, степень выраженности которых нарастает после повторной интоксикации и не компенсируется слабо повышающейся адаптационно-регенераторной активностью сохранившихся гепатоцитов (рис. 1, 2).

В группе животных, леченных Гептралом, в течение эксперимента отмечалось улучшение сохранности гепатоцитов к 28 суткам, развитие компенсаторно-адаптивной и регенерационной активности печеночных клеток, сопровождающееся увеличением количества двухядерных клеток и гепатоцитов с полиплоидными ядрами, было выявлено снижение плотности очагов некроза. Отмечено появление гранул гликогена, практически отсутствующих у контрольных животных. В то же время, наблюдалось и увеличение количества гепатоцитов с признаками жировой дистрофии (рис. 1, 2). Таким образом, проведенное гистологическое исследование позволяет констатировать наличие протективного действия у препарата Гептрал на печеночную ткань при цитотоксическом поражении печени четыреххлористым углеродом.

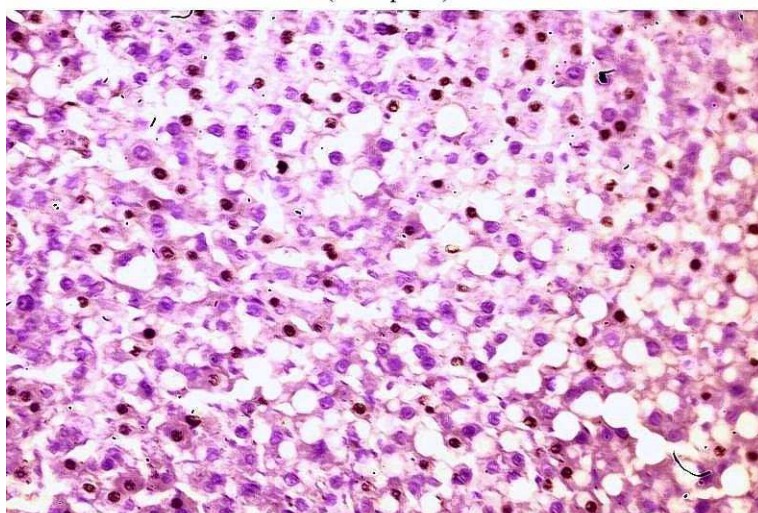
Исследование ткани печени животных, получавших 1,3-диэтилбензимидазолия йодид, на 14-е сутки после их интоксикации  $CCl_4$  в сравнении с контролем отмечается улучшение сохранности гепатоцитов, уменьшение выраженности жировой дистрофии, высокое содержание двухядерных печеночных клеток и полиплоидных гепатоцитов, что свидетельствует о стимуляции репаративной активности. Выявлено также снижение выраженности периваскулярной и мелкоочаговой внутريدольковой инфильтрации.

На 28 сутки эксперимента у животных, леченных 1,3-диэтилбензимидазолия йодидом, в сравнении с контролем отмечена лучшая сохранность гепатоцитов, снижение плотности очагов некроза, очаговая пролиферация клеток желчных протоков, увеличение количества клеток с полиплоидными ядрами и двух-, а также трехядерных гепатоцитов (рис. 1, 2). Количество гранул гликогена значительно увеличивалось и превосходило этот показатель, отмеченный у животных, леченных Гептралом.

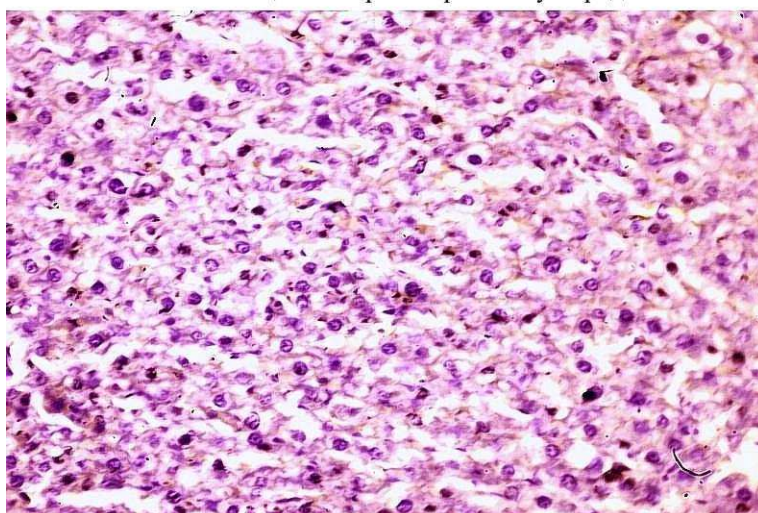




Воздействие четыреххлористого углерода без лечения  
(Контроль)



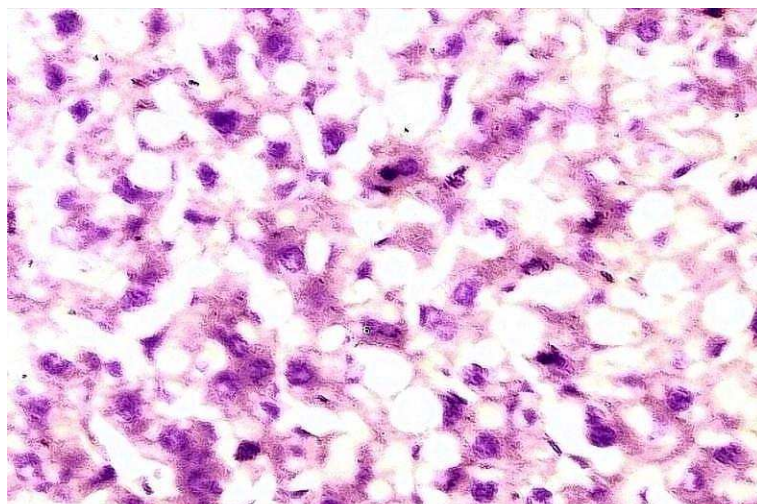
Лечение Гептралом (500 мг/кг, в/б) на фоне  
интоксикации четыреххлористым углеродом



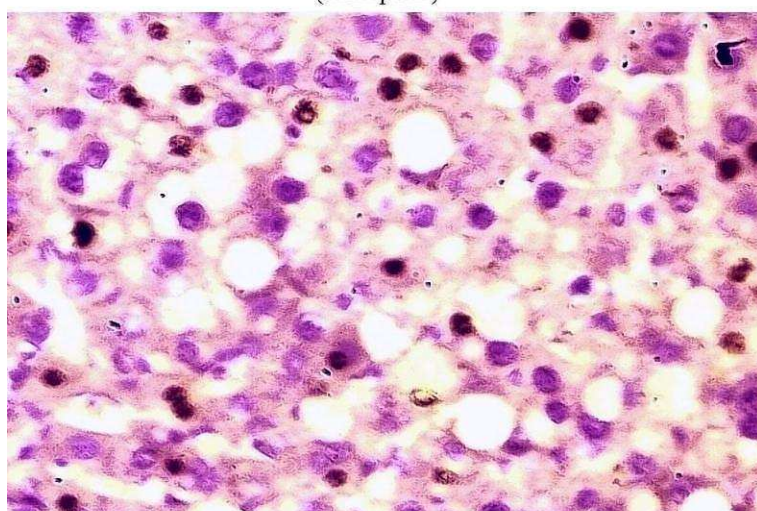
Лечение 1,3-диэтилбензимидазолия йодидом (10 мг/кг, в/б)  
на фоне интоксикации четыреххлористым углеродом

Рис. 1. Фотография ткани печени крыс.  
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x 200.

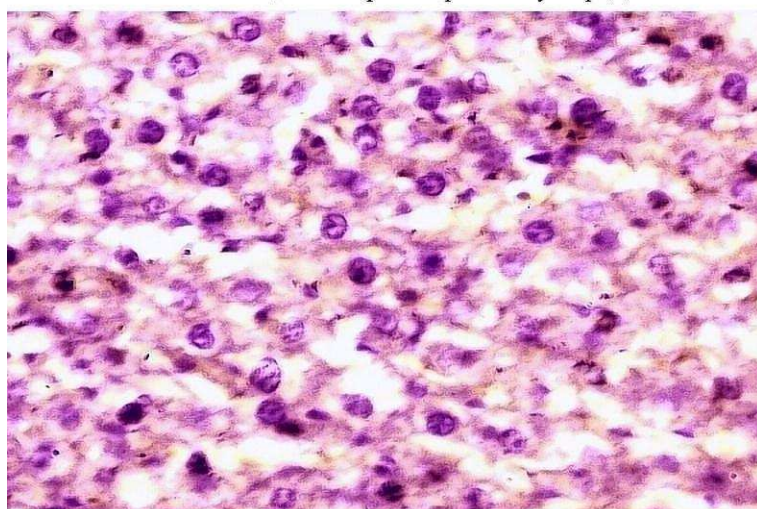




Воздействие четыреххлористого углерода без лечения  
(Контроль)



Лечение Гептралом (500 мг/кг, в/б) на фоне  
интоксикации четыреххлористым углеродом



Лечение 1,3-диэтилбензимидазолия йодидом (10 мг/кг, в/б)  
на фоне интоксикации четыреххлористым углеродом

Рис. 2. Фотография ткани печени крыс.  
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. x 400.

Таким образом, необходимо заключить, что применение 1,3-диэтилбензимидазолия йодида оказывало гепатопротективное действие, выражающееся в нормализации морфологической картины ткани печени в условиях экспериментального гепатита, превосходящее по выраженности эффекты Гептрала.

Биохимические исследования, проводимые параллельно с морфологическим изучением печеночной ткани, показали, что на 28 день эксперимента значение коэффициента де Ритиса, определяемое при введении крысам 1,3-диэтилбензимидазолия йодида, было достоверно выше значений контрольной группы и соответствовало показателю интактных животных (табл.), что указывало на активизацию центрального звена метаболизма, увеличение поступления субстратов в цикл Кребса и более эффективный энергетический обмен.

Таблица.

**Значение индекса де Ритиса (АСТ/АЛТ) при моделировании экспериментального гепатита (ССl<sub>4</sub>)**

	Сутки эксперимента		
	0 (интактные)	3	28
Контроль (вода для инъекций) – 1,0 мл		0,96±0,10	1,02±0,13
1,3-диэтилбензимидазолия йодид – 10 мг/кг	1,29±0,07	1,03±0,12	1,31±0,07*
Гептрал – 500 мг/кг		0,93±0,09	1,18±0,15

\* - достоверное изменение по сравнению с контролем (P < 0,05).

Применение Гептрала в условиях экспериментального гепатита показало, что к 28 дню курсового применения этого препарата отмечается некоторое увеличение значения индекса де Ритиса по сравнению с контрольной группой. Однако величина этого диагностического показателя уступала показателям животных группы, получавших 1,3-диэтилбензимидазолия йодид.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные гистологические и биохимические исследования позволяют констатировать наличие гепатопротективного действия у препарата 1,3-диэтилбензимидазолия йодид, снижающего интенсивность жировой дистрофии (стеатоза) и некроза гепатоцитов у животных в модели экспериментального токсического гепатита, вызываемого четыреххлористым углеродом, а также нормализующего биохимические показатели функционального состояния печени. Причем выявлено, что протективные эффекты 1,3-диэтилбензимидазолия йодида несколько превосходят по выраженности аналогичные свойства препарата Гептрал (адеметионина 1,4-бутандисульфоната).