

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ИНГИБИТОРОВ ПРИ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА ЭКСТРАКТАМИ БЕРЕСТЫ

Сергеева Янина Сергеевна

студент Новосибирского государственного медицинского университета, РФ, г. Новосибирск

Серебрякова Марина Леонидовна

студент Новосибирского государственного медицинского университета, РФ, г. Новосибирск

Грек Олег Рувимович

научный руководитель, профессор Новосибирского государственного медицинского университета, РФ, г. Новосибирск

Шарапов Виктор Иванович

научный руководитель, профессор Новосибирского государственного медицинского университета, РФ, г. Новосибирск

Жураковский Игорь Павлович

научный руководитель, д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории Новосибирского государственного медицинского университета, РФ, г. Новосибирск

Токсический гепатит (ТГ) – это хроническое поражение печени, наступающее вследствие воздействия на орган гепатотропных токсинов: алкоголь, некоторые лекарственные средства, интоксикация промышленными ядами и др. В основе патогенеза ТГ лежит поражение всех структурных элементов печени, дистрофические и некробиотические изменения паренхимы, развитие фиброза, приводящие к функциональной недостаточности органа.

Неуклонно растущий процент заболеваемости ТГ определяет актуальность подбора оптимальных методов терапии, которые должны включать не только высокую эффективность действия, но и низкую токсичность. Данным критериям отвечают биологически активные вещества, полученные из растительных экстрактов. Примером растительного сырья с выраженным гепатопротекторным действием являются экстракты бересты: известно, что тритерпеновый спирт (бетулин), являющийся одним из главных компонентов экстракта бересты, способствует стабилизации митохондриальных мембран, тем самым предотвращая инициацию воспаления. Так же бетулин влияет на активацию цитохрома Р-450 и монооксигеназ, выполняющих функцию детоксикации. Доступность и высокая биологическая активность ставят тритерпеновые соединения лупановой группы в ряд ценных природных источников для синтеза новых биологически активных и лекарственных веществ [3–11].

Для интенсификации процессов переработки растительного сырья успешно используют различные способы активации, позволяющие облегчить экстракцию и повысить выход продуктов. Механические способы активации увеличивают степень извлечения сырья без изменения его химического состава. Благодаря мехобработке значительно возрастает поверхность контакта сырья с растворителем и ускоряются процессы диффузии при экстракции [18–20].

Таким образом, **цель** данной работы заключается в изучение экспрессии металлопротеиназы-2 (ММП-2) и тканевого ингибитора металлопротеиназ-2 (ТИМП-2) при экспериментальном токсическом гепатите, а также при его коррекции экстрактами нативной (ЭБН) и диспергированной бересты (ЭБД).

Материалы. Методы.

Эксперименты проведены на крысах-самцах Вистар массой 230-250 г. Животные были разделены на 5 групп: группа № 1 - интактные, группам № 2-5 моделировали токсический гепатит интраперитонеальным введением 50 % масляного раствора СС14 в дозе 0,2 мл/100 г массы животного 1 раз в неделю в течение 4-х недель. На фоне интоксикации СС14 ежедневно в течение 4-х недель группе № 3 вводили препарат сравнения карсил (в дозе 100 мг/кг), группе № 4 - ЭБН (в дозе 100 мг/кг), группе № 5 - ЭБД (в дозе 100 мг/кг).

Образцы печени фиксировались в 12 % формалине. Парафиновые срезы окрашивались пикрофуксином по ван Гизону. Экспрессию ММП-2 и ТИМП-2 выявляли двухэтапным иммуногистохимическим методом. Морфометрический анализ проводился с использованием программы для обработки микрофотографий "ImageJ 1.42g" (USA). Полученные данные обрабатывали с использованием статистической программы "SPSS for Windows 17.0", с вычислением медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1; Q3). Различия между группами оценивали с помощью критерия Крускала-Уоллиса с последующим межгрупповым сравнением с помощью критерия Манна-Уитни ($p < 0,05$).

Таблица 1.

Результаты

	Коллаген (%)	ММП - 2 (%)	ТИМП - 2 (%)	ММП
Интактные животные	10,75 (7,98-19,88)	13,85 (11,43-18,35)	8 (6,13-12,48)	1,72 (1,17; 2,58)
ТГ 4 недели	17,1 (8,77-26,15)	21,75 (16,63-31,65)	19 (13,23-33,5)	1,11 (0,86; 1,35)
ТГ + Карсил 4 недели	11,2 (8,98-19,98)	12,9 (10,9-16,23)	17,3 (14,08-22,5)	0,71 (0,6; 0,8)
ТГ + ЭБН 4 недели	15,2 (12,65-18,58)	27,65 (24,23-33,13)	25,6 (22-28,8)	1,11 (0,86; 1,35)
ТГ + ЭДБ 4 недели	16,8 (14,83-20,05)	18,95 (12,95-23,88)	22,55 (15,73-31,73)	0,93 (0,8; 1,06)

В результате исследования было выявлено, что показатели относительной площади коллагеновых волокон (17,1 % (8,77; 26,15)), относительной площади экспрессии ММП-2 (21,75 % (16,63; 31,65)) и ТИМП-2 (19,0 % (13,23; 33,5)) группы без лечения больше значений интактной группы (относительная площадь коллагеновых волокон 10,75 % (7,98; 19,88); относительная площадь экспрессии ММП-2 13,85 % (11,43; 18,35); относительная площадь экспрессии ТИМП-2 8,0 % (6,13; 12,48)), а показатель индекса соотношения экспрессии ММП-2 к экспрессии ТИМП-2 (1,11 (0,86; 1,35)) наоборот снижен (в интактной группе 1,7 (1,17; 2,58)), что свидетельствует о прогрессирующем развитии фиброза печени, не смотря на повышение активности ТИМП-2 в сравнении с интактными животными.

При оценке данных группы с применением карсила были получены следующие результаты: значения относительной плотности коллагеновых волокон (11,2 % (8,98; 13,98)) и относительной плотности экспрессии ММП-2 (12,9 % (10,9; 16,23)) значительно ниже, чем в группе без лечения (относительная площадь коллагеновых волокон (17,1 % (8,77; 26,15)), относительная площадь экспрессии ММП-2 (21,75 % (16,63; 31,65)) и сопоставимы с референтными значениями (относительная площадь коллагеновых волокон 10,75 % (7,98; 19,88); относительная площадь экспрессии ММП-2 13,85 % (11,43; 18,35)), в то время как показатели относительной плотности экспрессии ТИМП-2 (17,3 % (14,08; 22,5)) превышают значение интактной группы (8,00 % (6,13; 12,48)). Исходя из выше сказанного, можно сделать вывод, что карсил обладает высокой эффективностью в лечении ТГ.

При оценке результатов ЭБД и ЭБН были получены следующие данные: несмотря на то, что в группе с лечением ЭБД показатель площади коллагена (15,2 % (12,65; 18,58)) ниже показателя группы без лечения (17,1 % (8,77; 26,15)), значения площади экспрессии ММП-2 (27,65 % (24,23; 33,13)) и ТИМП-2 (25,6 % (22,0; 28,8)) высокие, а индекс их соотношения равен группе без лечения. Таким образом, можно утверждать, что ЭБД мало эффективен в лечении ОТГ.

Показатель площади коллагена в группе с ЭБН (16,8 % (14,83; 20,65)) так же снижен в сравнении с показателем группы без лечения (17,1 % (8,77; 26,15)), то же самое можно сказать и про показатель активности ММП-2 (в группе с применением ЭБН (18,95 % (12,95; 23,88)), в группе без лечения - (21,75 % (16,63; 31,65))). В это же время, значение относительной плотности экспрессии ТИМП-2 (22,55 % (15,73; 31,73)) повышено в сравнении с группой без лечения (19,0 % (13,23; 33,5)). Индекс соотношения ММП и ТИМП (0,99 (0,75; 1,02)) сопоставим таковому в группе с применением карсила (0,71 (0,57; 0,99)). Из этого следует вывод о том, что ЭБН способствует уменьшению фиброобразования в паренхиме печени и может быть использован для лечения ТГ.

Выводы:

Показатели ЭБД сопоставимы с показателями группы без лечения, что указывает на неэффективность экстракта в лечение ТГ. ЭБН способствует уменьшению фиброобразования в паренхиме печени и может быть использован для лечения ТГ.

Список литературы:

1. Hisashi Matsuda, Atsushi Ishikado, Norihisa Nishida et al. Hepatoprotective, superoxide scavenging and antioxidative activities of aromatic constituents from the bark of betula platyphylla var. japonica// Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.1998. V. 8. P. 2939-2944.
2. Marian Hajduch, Jan Sarek Patent // US 7041701. Triterpenoid derivatives. 09.04.2006.
3. Василенко Ю.К., Семенченко В.Ф., Фролова Л.М. и др. Фармакологические свойства тритерпеноидов коры березы // Эксперим. и клин. фармакол. 1993. Т. 56. № 4. С. 53-55.
4. Гланц С. Медико-биологическая статистика. - М., 1999. 459 с.
5. Кислицын А.Н. Экстрактивные вещества бересты: выделение, состав, свойства, применение // Химия древесины. 1994. № 3. С. 3-28.
6. Кузнецов Б.Н., Левданский В.А., Еськин А.П., Полежаева Н.И. Выделение бетулина и суберина из коры березы, активированной в условиях «взрывного автогидролиза» // Химия растительного сырья. 1998. № 1. С. 5-9. 1.
7. Похило Н.Д., Махнев А.К., Деменкова Л.И., Уварова Н.И. Состав тритерпеноидной фракции экстрактов внешней коры *Betula pendula* и *Betula pubescens* // Химия древесины. 1990. № 6. С. 74-77.
8. Похило Н.Д., Уварова Н.И. Изопреноиды различных видов рода *Betula* // Химия природных соединений. 1988. № 3. С. 325-341.
9. Сымон А.В., Веселова Н.Н., Каплун А.П. и др. Синтез циклопропановых производных бетулиновой и бетулоновой кислот и их противоопухолевая активность // Биоорганическая химия. 2005. Т. 31. № 3. С. 320-325.
10. Толстикова Г.А. Флехтер О.Б. Шульц Э.Э., Балтина Л.А., Толстикова А.Г. Бетулин и его производные. Химия и биологическая активность // Химия в интересах устойчивого развития. 2005. № 13. С. 1-30.
11. Флехтер О.Б., Бореко Е.И., Нигматуллина Л.Р. и др. Синтез и фармакологическая активность ацилированных оксимонов бетулоновой кислоты и 28-оксо-аллобетулона // Химико-фармацевтический журнал. 2004. Т. 38. № 3. С. 31-34.
12. Флехтер О.Б., Бореко Е.И., Нигматуллина Л.Р. и др. Синтез и противовирусные свойства производных лупановых тритерпеноидов // Химико-фармацевтический журнал. 2004. Т. 38. № 7. С. 10-14.
13. Флехтер О.Б., Бореко Е.И., Нигматуллина Л.Р. и др. Синтез и фармакологическая активность ацилированных оксимонов бетулоновой кислоты и 28-оксо-аллобетулона // Химико-фармацевтический журнал. 2004. Т. 38. № 3. С. 31-34.