

**ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ КОМПЕНСАЦИИ
ДИФФУЗНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ
ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТОГО УГЛЕРОДА И
ПОЛИГЕКСАМЕТИЛЕНГУАНИДИНГИДРОХЛОРИДА**

Медведева С.Ю., Сенцов В.Г., Гетте И.Ф., Данилова И.Г.

*Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург;
ГБОУ ВПО Уральский Медицинский университет(УГМУ) Минздрава России
620049, г. Екатеринбург, Первомайская 106; 8(343) 374 00 70; e-mail:ig-danilova@
yandex.ru*

Резюме

В эксперименте на животных дана сравнительная оценка повреждения печени при действии двух ядов четыреххлористого углерода (CCl_4) и полигексагуанидин гидрохлорида (ПГМГ). Установлено, что в отличие от прямого гепатотропного действия CCl_4 , токсическое действие ПГМГ на гепатоциты является вторичным, обусловленным развивающейся тканевой гипоксией на фоне нарушения кровообращения в органе.

Ключевые слова: токсическое повреждение, гепатоцит, альтерация, воспаление, пролиферация.

Peculiarities of regulatory mechanisms of compensation of diffusive liver lesion brought about by toxic impact of carbon tetrachloride and polyhexamethyleneguanidine hydrochloride

Medvedeva S.U.

*Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
Ekaterinburg;*

SEI HPE Ural Medical University (UGMU) Russian Ministry of Health

Abstract. The outcome of an experiment, executed on animals, enables to comparatively assess the pancreas injure caused by two toxic substances - carbon tetrachloride (CCl_4) and poly hexamethyleneguanidine hydrochloride (PGMG). It has been established that unlike in case of direct hepatotrophic effect of (CCl_4), the toxic effect of (PGMG) on hepatocytes has a secondary nature, conditioned by progressing tissue hypoxia, at the background of blood circulation failure in the organ.

Key words: toxic lesion, hepatocyte, alteration, inflammation, proliferation.

Введение

Одним из наиболее хорошо изученных гепатотропных ядов является четыреххлористый углерод (CCl_4). Отравление экспериментальных животных CCl_4 по биохимическим показателям и морфологической характеристике близки к острым поражениям печени различной этиологии наблюдаемых у человека. Препарат вводят внутривентриально, подкожно, внутримышечно или внутривентриально. Характер поражения печени в этом случае зависит от количества и концентрации вводимого CCl_4 . Гепатотоксический эффект в данном случае обусловлен аутокаталитическим перекислением микросомальных липидов, возникающем вследствие воздействия свободных радикалов, образуемых при метаболизме этого соединения в эндоплазматическом ретикулеуме гепатоцитов. Процесс окисления липидов ведет к распаду внутриклеточных мембран митохондрий, лизосом, высвобождению активных ферментов, денатурации белков с последующей гибелью клетки [1, 2].

В последние годы участились случаи токсического гепатита, связанные с употреблением спиртосодержащих жидкостей в состав которых входят токсические вещества, такие как например полигесамителенгуанидин гидрохлорид (ПГМГ).

Отравления в этом случае протекают крайне тяжело с поражением печени, при этом отмечается высокая летальность пациентов [3,4,5]. Поскольку механизм токсического действия ПГМГ недостаточно изучен, поэтому представляется крайне интересным сравнить в экспериментальных моделях на животных гепатотоксический эффект ПГМГ с действием классического гепатотропного яда CCl_4 .

Целью настоящей работы явилось дать оценку механизмов компенсации структурных нарушений в печени при действии ПГМГ и CCl_4 .

Материалы и методы

Эксперимент проведен на 50 самцах белых беспородных крыс массой 200-300 г. Условия содержания и обращения с используемыми в эксперименте животными соответствовали Директиве ЕС 2010/63/EU. Для создания экспериментальной модели использовали водный раствор ПГМГ и масляный раствор CCl_4 . Оба препарата вводили внутривентриально в дозе 50 мг/100г. Поскольку смертность от однократного введения ПГМГ была около 70%, препарат вводили дробно (по 17 мг/100г) в течение суток. Все животные были разделены на три экспериментальные группы:

1 группа – интактные животные, 2 группа – отравление CCl_4 , 3 группа – отравление ПГМГ. Экспериментальных крыс выводили из эксперимента на 3, 7 сутки после введения токсикантов. Биохимические исследования крови включали определение показателей цитолитического и холестатического синдромов, почечной недостаточности, эндогенной интоксикации, свободнорадикального окисления (СРО) и содержания метгемоглобина. В качестве показателей цитолитического синдрома в плазме крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АЛТ, 2.6.1.2), аспартатаминотрансферазы (АСТ, 2.6.1.1) и гамма-глутамилтранспептидазы (ГТП, 2.3.2.2).

Для оценки тяжести эндогенной интоксикации определяли содержание молекул средней и низкой молекулярной массы (МСМ) в плазме крови и эритроцитах и проницаемость эритроцитарных мембран (ПЭМ) по мочевиному гемолизу при возрастающих концентрациях мочевины [6, 7].

Все биохимические исследования (кроме показателей эндогенной интоксикации) проводили с использованием стандартных наборов реактивов фирмы Витал Диагностика (Санкт-Петербург) на приборе DU 800 Beckman Coulter и биохимическом анализаторе Cobas Integra 400 plus (производитель Roche).

Для оценки свободнорадикального окисления измеряли индуцированную биохемилюминесценцию (БХЛ) плазмы крови по реакции Фентона на приборе Luminoscan TL Plus (Labsystems), результат выражали в квантах света.

Общий анализ периферической крови из хвостовой вены проводился на автоматическом гематологическом анализаторе Celly 70 Biocode Nysel, предназначенном для ветеринарных исследований.

Подготовку образцов ткани печени и почек для гистологического исследования осуществляли на автоматическом процессоре Leica EG 1160 с последующей заливкой в парафин. Срезы толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, что является общепринятой методикой окрашивания гистологических срезов для оценки структурных изменений в органах. Микроскопическое исследование производили на микроскопе Leica DM 2500, анализ изображений выполняли в программе ВидеоТест «Морфология» 5.0. Морфометрические исследования включали: определение индекса альтерации (количество гепатоцитов, ‰), определение митотического индекса ‰, определение количества двуядерных клеток, ‰.

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование печени лабораторных животных осуществлялось с использованием Autostainer DAKO на формалин-фиксированных, цинк-фиксированных, парафиновых срезах с предварительной термической обработкой срезов в Pascal DAKO. Применяли моноклональные антитела purified mouse anti –human Ki 67, anti –rat CD3 clone G 4.18 , CD45 clone OX -1 CD45 RA , clone OX -33 (BD Bioscience Pharmigen), которые в рабочем разведении (1:30) инкубировали в течение 60 минут при комнатной температуре, а затем наносили вторичные антитела biotin goat anti-mouse (multiple adsorption) в разведении 1:50 (BD Bioscience Pharmigen). Для визуализации антигенреактивных клеток использовали тест-систему Novolink™ Polymer Detection System (Novocastra Lab.,Ltd). Антигенреактивные клетки контрастировали хромогенным субстратом (3,3-диаминобензидин в буферном растворе). DAB-позитивные клетки идентифицировали по коричневому гранулярному окрашиванию цитоплазмы клеток. Проводили постановку негативного и изотипического контроля. В срезах оценивали количество клеток с различной интенсивностью положительной ИГХ реакции.

Проводили подсчет количества синусоидальных клеток в единице площади в 10-ти полях зрения при увеличении микроскопа x400.

Вычисления и статистическая обработка результатов исследования выполнены с помощью программного пакета Microsoft Excel 7.0 для Windows 95. Определяли средние арифметические значения в группах, ошибки средних арифметических. Результаты

анализировали с использованием однофакторного дисперсионного анализа, считали различия между группами достоверными при $P < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

В печени крыс при введении CCl_4 на третьи сутки развивались признаки острого токсического гепатита, которые проявлялись очаговыми некрозами гепатоцитов с перифокальной лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией. Определялась выраженная вакуольная дистрофия гепатоцитов. Обнаруживались нарушения со стороны микроциркуляторного русла в виде полнокровия сосудов и капилляростаза (рис. 1).

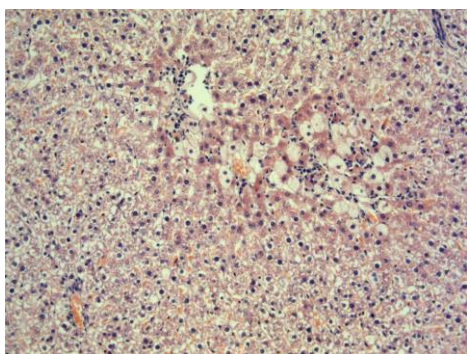


Рис. 1. Очаговая вакуольная дистрофия гепатоцитов с перифокальной лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией на третьи сутки после введения CCl_4 . Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$.

На 7-е сутки по сравнению с предыдущим сроком исследования после введения CCl_4 признаки острого токсического поражения печени уменьшались. В паренхиме органа сохранялись очаговые некрозы гепатоцитов с умеренной перифокальной инфильтрацией лимфоцитами. Обнаруживалась очаговая крупно-капельная дистрофия гепатоцитов (рис. 2).

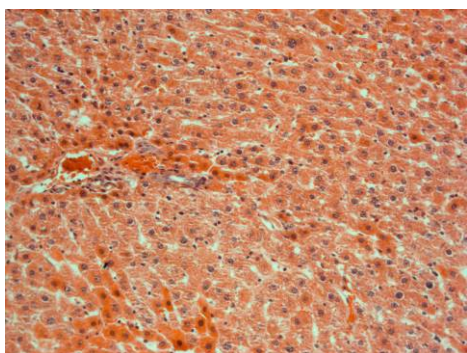


Рис. 2. Очаговые некрозы гепатоцитов с умеренной перифокальной инфильтрацией лимфоцитами на седьмые сутки после введения CCl_4 . Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$.

При введении ПГМГ на третьи сутки эксперимента в печени крысы отмечалось диффузное полнокровие синусоидальных капилляров, полнокровие центральных вен и вен портальных трактов с образованием «сладж» комплексов. В части вен портальных трактов определялись признаки тромбообразования. По периферии печеночных долек – некрозы гепатоцитов без клеточной реакции (рис. 3).

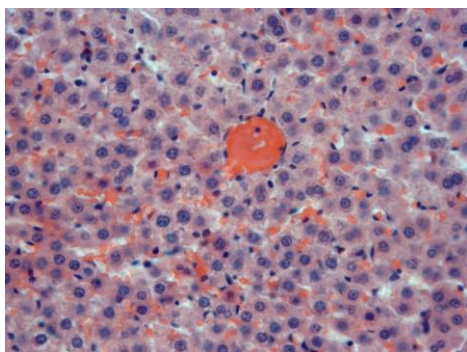


Рис. 3. Полнокровие синусоидальных пространств, признаки тромбообразования в просвете центральной вены на третьи сутки после введения ПГМГ. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400.

На седьмые сутки после воздействия ПГМГ в печени экспериментальных животных сохранялось полнокровие сосудов венозного коллектора в виде капилляростаза портальных вен и синусоидальных пространств. Сохранялись единичные некрозы гепатоцитов без перифокальной клеточной реакции (рис. 4).

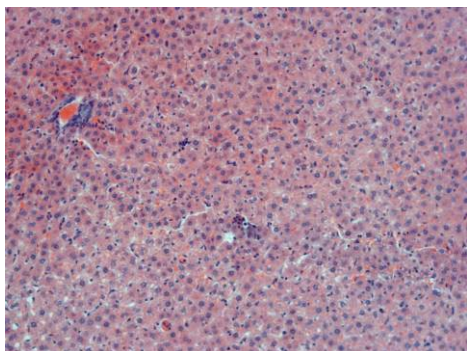


Рис. 4. Полнокровие сосудов венозного коллектора и очаговые некрозы гепатоцитов периферии дольки без выраженной клеточной реакции. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 200.

Изучение митотического индекса гепатоцитов на третьи сутки после введения CCl_4 показало, что его величина значительно возрастает по сравнению с группой интактных животных, а на 7-е сутки эксперимента этот показатель уменьшается по сравнению с предыдущим сроком, но остается выше, чем у здоровых животных. Такая же направленность наблюдается и при иммуногистохимическом определении Ki- 67

позитивных клеток. Количество двуядерных гепатоцитов на ранние сроки эксперимента возрастает по сравнению с интактными животными, а к 7 м суткам этот показатель не меняется. Определение индекса альтерации показало значительное увеличение его на 3 и 7-е сутки после введения токсиканта по сравнению с интактными животными (таблица 1).

Таблица 1. Влияние токсического действия CCl_4 на показатели клеточной и внутриклеточной регенерации гепатоцитов.

Показатели	Интактные	CCl_4 – 3 суток	CCl_4 – 7 суток
Митотический индекс, ‰	$0,52 \pm 0,33$	$43,75 \pm 0,23^*$	$28,62 \pm 0,118^{*.*}$
Ki-67 позитивные клетки	$14,3 \pm 1,5$	$47,6 \pm 10,9^*$	$14,3 \pm 2,6^{**}$
Двуядерные клетки, ‰	$15,4 \pm 1,43$	$51,80 \pm 0,34^*$	$51,52 \pm 0,15^*$
Индекс альтерации, ‰	$21,87 \pm 1.8$	$333,20 \pm 27,62^*$	$421,52 \pm 0,15^{*.*}$

Примечание : * – различия с интактными значимы ($p < 0,05$); ** – различия с 3 сутками значимы ($p < 0,05$).

Митотический индекс на 3 и 7-е сутки после введения ПГМГ был достоверно выше соответствующих значений интактных животных, однако при иммуногистохимическом исследовании количество Ki-67 позитивных клеток не изменялось на ранний срок эксперимента и резко возрастало к 7 суткам наблюдений. Подсчет содержания двуядерных клеток выявил противоположную тенденцию – рост их числа на 3-и сутки и снижение на 7-е. Индекс альтерации гепатоцитов после введения ПГМГ резко возрастал к 7-ым суткам эксперимента (таблица 2).

Таблица 2. Влияние токсического действия ПГМГ на показатели клеточной и внутриклеточной регенерации гепатоцитов.

Показатели	Интактные	ПГМГ – 3 суток	ПГМГ – 7 суток
Митотический индекс, ‰	$0,52 \pm 0,33$	$39,68 \pm 0,22^*$	$40,26 \pm 0,16^*$
Ki-67 позитивные клетки	$14,3 \pm 1,5$	$5,85 \pm 2,5^*$	$32,0 \pm 9,2^{*.*}$
Двуядерные клетки, ‰	$15,4 \pm 1,43$	$96,93 \pm 0,33^*$	$76,82 \pm 0,18^{*.*}$
Индекс альтерации, ‰	$21,87 \pm 1.8$	$77,28 \pm 0,62^*$	$315,46 \pm 0,44^{*.*}$

Примечание: * – различия с интактными значимы ($p < 0,05$); ** – различия с 3 сутками значимы ($p < 0,05$).

Данные, полученные при гистологическом и морфометрическом исследовании печени, подтверждаются иммуногистохимическим анализом. Воспалительная реакция сопровождает острый токсический гепатит, вызванный введением CCl_4 . Количество CD45 позитивных клеток резко увеличивается периваскулярно и в паренхиме органа, что соответствует экссудативной фазе воспаления. При введении ПГМГ на 3-и сутки

признаки лейкодипедеза незначительны (количество CD45+ клеток меньше по сравнению с экспериментальной группой 2), что отражает отсутствие прямого действия токсиканта на гепатоциты. На 7-е сутки после воздействия токсикантов экссудативная фаза воспаления переходит в пролиферативную, что сопровождается снижением лейкоцитарной инфильтрации в органе (таблица 3). Иммунофенотипирование Т- и В-лимфоцитов показало, что на 3-и и 7-е сутки эксперимента, количество их меняется незначительно. Это свидетельствует об их небольшом вкладе в процессы компенсации структурных нарушений в органе в ранние сроки исследования.

Таблица 3. Количество лимфоцитов с разным иммунофенотипом в печени крыс в динамике течения токсического гепатита при введении CCl₄ и ПГМГ (в 1мм² среза).

Группы	1	2	3	4	5
	Интактные	CCl ₄ 3 сутки	ПГМГ 3 сутки	CCl ₄ 7 сутки	ПГМГ 7 сутки
CD45+ клетки (лейкоциты)					
Паренхима	13,89±1,39	187,98±8,58*	38,7±6,4*	71,89±6,22*	14,35±1,56
Периваскулярно	17,83±2,31	367,62±16,40*	73,66±4,8*	17,4±5,16*	30,1±6,5
CD3+ клетки (Т-лимфоциты)					
Паренхима	0,80±0,20	12,04±0,4*	5,89±1,14*	13,89±1,3*	2,45±0,81*
Периваскулярно	0,87±0,26	28,7±0,63*	7,15±1,3*	17,83±2,31*	4,89±1,21*
CD45RA+ клетки (В-лимфоциты)					
Паренхима	5,85±1,27	0,55±0,12*	12,04±1,7*	0,66±0,04*	15,3±0,37

Примечание: * – различия с интактными значимы (p<0,05).

Подсчет количества синусоидальных клеток показал достоверное их увеличение в ранние сроки эксперимента по сравнению с интактными животными при введении обоих токсикантов и снижении их количества к 7 суткам.

Печень относится к органам, в которых физиологические и репаративные процессы протекают как в форме клеточной, так и внутриклеточной регенерации. Развитие регенераторных процессов в поврежденном органе подчиняется этапности. Условно выделяют три основных периода: фаза деструктивно-реактивных изменений клеток; пролиферативная фаза; фаза адаптации клеток регенирирующего органа к новому функциональному режиму [9].

В результате исследования установлено, что наиболее выраженные структурные изменения в печени после введения гепатотропного яда CCl₄ развиваются на третьи сутки эксперимента, что соответствует деструктивно-реактивным изменениям клеток. В ответ на это повреждение запускаются механизмы клеточной и внутриклеточной регенерации. Об этом свидетельствуют достоверное повышение показателей митотического индекса

гепатоцитов, числа Ki-67 позитивных клеток и количества двуядерных клеток. К седьмым суткам эксперимента по оценке патоморфологической картины снижаются признаки альтеративно-экссудативной фазы воспаления в органе в ответ на повреждение, но индекс альтерации остается высоким, что, по-видимому, обусловлено тропностью яда к гепатоцитам. При этом показатели клеточной регенерации также снижаются, но число двуядерных гепатоцитов существенно не изменяется, что отражает фазу адаптации клеток регенерирующего органа к новому функциональному режиму.

При действии ПГМГ меняется фазность развития регенераторных процессов в печени. На третьи сутки степень повреждения гепатоцитов выражена слабее по сравнению с токсическим воздействием CCl_4 , а при оценке патоморфологической картины обнаружены изменения со стороны микроциркуляторного русла, которые приводят к некрозу гепатоцитов периферических отделов печеночной доли. Эти изменения нарастают к седьмым суткам эксперимента, что, по-видимому, обусловлено вторичным повреждением функциональных клеток органа в результате развивающейся тканевой гипоксии. Причем в ответ на ишемическое повреждение разворачиваются механизмы внутриклеточной регенерации, о чем свидетельствует достоверное повышение числа двуядерных клеток на третьи и седьмые сутки. Показатели клеточной регенерации достоверно повышаются к седьмым суткам на фоне возрастающего индекса альтерации.

Воспалительная реакция сопровождает острый токсический гепатит, вызванный введением CCl_4 [8]. Количество CD45^+ позитивных клеток резко увеличивается периваскулярно и в паренхиме органа. Что соответствует экссудативной фазе воспаления. При введении ПГМГ на третьи сутки признаки лейкодиapedеза незначительны (количество CD45^+ клеток в органе в 5 раз меньше по сравнению с экспериментальной группой 2), что отражает отсутствие прямого действия токсиканта на гепатоциты. На 7-е сутки после воздействия токсикантов экссудативная фаза воспаления переходит в пролиферативную. Что сопровождается снижением лейкоцитарной инфильтрации в органе.

Подсчет количества синусоидальных клеток показал достоверное их увеличение в ранние сроки эксперимента по сравнению с интактными животными при введении обоих токсикантов и снижении их количества к 7 суткам. По-видимому, пик их функциональной активности приходится на ранние сроки после воздействия.

Структурные изменения печени при воздействии токсикантов сопровождались значительными изменениями биохимических показателей крови (таблица 4).

Таблица 4. Влияние токсического действия CCl_4 и ПГМГ на биохимические показатели крови.

Показатель	Интактные	CCl_4 3 сутки	ПГМГ 3 сутки	CCl_4 7 сутки	ПГМГ 7сутки
АСТ, U/L	101,3 $\pm$ 3,6	133,1 $\pm$ 7,1	173,2 $\pm$ 22,1*	103,8 $\pm$ 0,85	162,7 $\pm$ 0,13*
АЛТ, U/L	81,6 $\pm$ 12,24	100,4 $\pm$ 4,1*	74,4 $\pm$ 7,7*	136, 0 $\pm$ 10,74*	65,10 $\pm$ 1,8
АСТ/АЛТ	1,45 $\pm$ 0,06	1,37 $\pm$ 0,01*	2,35 $\pm$ 0,18 *	0,76 $\pm$ 0,08*	2,49 $\pm$ 0,072*
ГТП, U/L	25,4 $\pm$ 3,5	27,5 $\pm$ 3,4	24,4 $\pm$ 2,3	22,2 $\pm$ 1,32	55,42 $\pm$ 17,78*

Примечание: * – различия с интактными значимы ($p < 0,05$).

Так, отмечалось усиление цитолиза (повышение активности АЛТ и АСТ) у крыс 2 группы по сравнению с интактными животными. ПГМГ в отличие от CCl_4 вызывает значительное увеличение преимущественно активности АСТ крови. Коэффициент Де Ритиса (АСТ/АЛТ) при введении ПГМГ, выше, чем у интактных крыс и животных группы 2. Поскольку известно, что АСТ широко представлена помимо печени в других органах и тканях, то можно предположить, что ПГМГ оказывает токсическое действие в целом на весь организм в отличие от CCl_4 , обладающего, прежде всего, гепатотропным действием даже при внутрибрюшинном введении. Следует отметить, что гепатотропное действие ПГМГ нарастает по мере увеличения срока эксперимента и активность цитолитических ферментов крови также увеличивается. Однократное введение обоих токсикантов не влияет на состояние дуктального эпителия, поскольку активность ГТП крови не изменяется во всех экспериментальных группах.

Количество продуктов эндогенной интоксикации (таблица 5) возрастало в процессе развития токсического гепатита, вызванного введением CCl_4 , поскольку отмечался рост уровня МСМ, поглощающих при длине волны 280 нм, как в плазме крови, так и на мембране эритроцитов относительно уровня интактных животных. Накопление МСМ после введения CCl_4 сопровождалось увеличением проницаемости эритроцитарных мембран, спровоцированной мочевиным гемолизом при возрастающих концентрациях мочевины (ПЭМ при разведениях 2, 3, 4), только на ранние сроки эксперимента.

Через 7 суток после введения тетрахлорметана проницаемость мембран эритроцитов становится даже ниже, чем у интактных животных. Данный факт, по видимому, связан с накоплением продуктов эндогенной интоксикации и осаждению их на клеточных мембранах эритроцитов.

Таблица 5. Влияние токсического действия CCl_4 и ПГМГ на показатели эндогенной интоксикации.

Показатель	Интактные	CCl ₄ 3 сутки	ПГМГ 3 сутки	CCl ₄ 7 сутки	ПГМГ 7сутки
БХЛ, кванты	210,0±2,0	277,0±30,0*	186,0±7,0 *	287,2±17,17*	171±18*
МСМ, плазма, у.е 280нм	0,137±0,004	0,196±0,012*	0,182±0,009*	0,191±0,014*	0,163±0,01*
МСМ, эритроциты, у.е 280нм	0,247±0,003	0,272±0,009*	0,279±0,013*	0,30±0,01*	0,267±0,008 *
Проницаемость эритроцитарных мембран, % гемолизированных эритроцитов					
Мочевина: NaCl 40 : 60	8,3±1,6	12,7±2,9	7,8±1,9	4,6±0,76*	12,8±6,8
Мочевина: NaCl 50:50	39,2±3,6	54,8±4,8*	26,8±11,6	22,58±5,23*	35,9±13,2
Мочевина: NaCl 55 : 45	71,5±3,3	83,2±3,4	78,8±5,0	71,42±4,16	51,6±16,9
Мочевина: NaCl 60 : 40	88,3±1,1	95,8±1,1	91,5±0,9	93,84±1,54	64,6±11,9*

Примечание: * – различия с интактными значимы (p<0,05).

Увеличение ПЭМ в группе 2 относительно интактных животных, вероятно, связано не только с сорбцией эритроцитами продуктов эндогенной интоксикации, но также и с активацией свободнорадикального окисления, так как БХЛ плазмы крови возрастала на 32% -36 % соответственно срокам эксперимента (p <0,05).

У крыс группы 3 после действия ПГМГ увеличилось количество МСМ, поглощающих при 280 нм в плазме крови и особенно в эритроцитах только на 7 сутки по мере нарастания токсического действия яда. Биохемилюминесценция, отражающая интенсивность перекисного окисления липидов, и проницаемость эритроцитарных мембран в данной группе достоверно не возрастала.

Источником накопления продуктов эндогенной интоксикации – МСМ и причиной свободнорадикального окисления могут быть процессы воспаления, поэтому полученные данные подтверждают менее выраженные процессы воспаления при действии ПГМГ по сравнению с CCl₄, что согласуется с результатами, полученными другими методами исследования.

При введении CCl₄ не обнаружено изменений основных показателей красной крови в оба срока исследования (таблица 6).

Таблица 6. Показатели периферической крови крыс на 3 и 7 сутки после введения четыреххлористого углерода.

Показатель	Интактные	CCl ₄ – 3сутки	CCl ₄ – 7сутки
Гематокритный показатель, %	44,46±1,01	43,6±1,2	42,7±0,6 8
Гемоглобин, г/л	145,2±0,16	151,8±0,44*	138,75±3,6***
Эритроциты, Т/л	8,85±0,24	7,98±0,29	8,7±0,21
Средний объем эритроцитов, фл	50,24±0,44	54,56±0,76*	49,86±0,55
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	16,42±0,34	19,0±0,25*	16,20±0,28**
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/дл	32,7±0,53	34,86±0,25	34,46±0,35*
Лейкоциты, Г/л	13,38±0,84	14,32±1,94	19,40±2,07*
Лимфоциты, Г/л	10,64±0,73	9,7±0,44	14,43±1,40***
Лимфоциты, %	79,6±1,33	73,75±2,29	72,80±1,87
Средние клетки, Г/л	1,66±0,11	2,94±1,49	3,93±0,51*
Средние клетки, %	12,8±1,16	15,75±2,28	19,6±1,5*
Тромбоцитный показатель, %	0,45±0,02	0,36±0,06*	0,27±0,05*
Тромбоциты, Г/л	663,8±35,07	589,0±83,36	363,00±67,4*

Примечания: * – различия с интактными значимы ($p<0,05$); ** – различия с 3 сутками значимы ($p<0,05$).

Однако на третьи сутки эксперимента изменяются качественные характеристики эритроцитов, выражающиеся в увеличении среднего объема, содержании и концентрации в них гемоглобина, которые приходят в норму к седьмым суткам. Со стороны клеток белой крови, наиболее выраженные изменения отмечаются на седьмые сутки исследования, когда увеличивается количество лимфоцитов и средних клеток. Это отражает пролиферативную фазу, направленную на фагоцитоз деструктивно-измененных гепатоцитов печени. Снижение тромбоцитов в периферической крови на седьмые сутки после введения CCl₄ связано, по-видимому, со снижением функциональной активности мало дифференцированных гепатоцитов.

Таблица 7. Показатели периферической крови крыс на 3 и 7 сутки после введения ПГМГ.

Показатель	Интактные	ПГМГ – 3сутки	ПГМГ – 7сутки
Гематокритный показатель, %	44,46±1,01	43,075±1,32	41,3±0,54*
Гемоглобин, г/л	145,2±0,16	151,66±5,4	136,2±2,77***
Эритроциты, Т/л	8,85±0,24	8,105±0,21	8,05±0,14
Средний объем эритроцитов, фл	50,24±0,44	53,175±0,70*	51,34±0,79
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	16,42±0,34	17,925±0,49*	16,92±0,36**
Средняя концентрация	32,7±0,53	33,58±0,20	32,98±0,38

гемоглобина в эритроците, г/дл			
Лейкоциты, Г/л	13,38±0,84	13,375±1,58	18,82±2,02*
Лимфоциты, Г/л	10,68±0,73	8,1±1,13	10,78±1,34
Лимфоциты, %	79,6±1,33	65,75±5,12	57,4±3,16*
Средние клетки, Г/л	1,66±0,11	2,25±0,64	5,46±0,81
Средние клетки, %	12,8±1,16	15,75±2,28	19,6±1,5***
Тромбокритный показатель, %	0,45±0,02	0,50±0,05	0,52±0,08
Тромбоциты, Г/л	663,8±35,07	754,33±94,00	500,33±128,12

Примечания: * – различия с интактными значимы ($p<0,05$); ** – различия с 3 сутками значимы ($p<0,05$).

1. При введении ПГМГ в отличие от CCl_4 меняются не только качественные, но и количественные показатели эритропоэза: снижается гематокритный показатель, концентрация гемоглобина и содержание эритроцитов к седьмым суткам исследования (таблица 7). Данный факт связан с нарастанием тканевой гипоксии, которая приводит к некрозу и апоптозу клеток [11].

Со стороны клеток белой крови наиболее выраженные изменения отмечаются также к седьмым суткам исследования, когда в периферической крови увеличивается количество гепатоцитов и средних клеток, что отражает экссудативную фазу воспаления в ответ на повреждение функциональных клеток в органе.

Выводы

1. Токсическое повреждение печени при введении двух токсикантов различно по механизму действия. CCl_4 обладает прямым действием на гепатоциты, ПГМГ-опосредованным на фоне нарастающей тканевой гипоксии в результате нарушения кровообращения в органе.
2. При введении двух токсикантов меняется фазность развития регенераторных процессов в печени: при введении CCl_4 на третьи сутки развивается острый токсический гепатит, соответствующий фазе деструктивно-реактивных изменений клеток, которая сменяется пролиферативной фазой и фазой адаптации клеток к новому функциональному режиму.
3. При введении ПГМГ в ранние сроки развивается фаза адаптации и пролиферации, которая завершается фазой деструктивно-реактивных изменений клеток.
4. Токсическое действие CCl_4 развивается на фоне усиления эндогенной интоксикации, показателей свободно-радикального окисления, цитолитического синдрома в ранние сроки эксперимента, что соответствует деструктивно-реактивной фазе.

5. Нарастание симптомов эндогенной интоксикации и увеличение и показателей свободно-радикального окисления при введении ПГМГ отражает деструктивно-реактивную фазу изменения гепатоцитов только к седьмым суткам.

Литература

2. Метью Дж. Элленхорн. Медицинская токсикология: диагностика и лечение отравлений у человека. Т.1. –М.: Медицина.– 2003.–С. 183-185.
3. Сенцов В.Г, Данилова И.Г, Медведева с.Ю., Гетте И.Ф., Крохина Н.Б. Влияние макрофагального звена иммунной системы на морфо-функциональное состояние печени на ранних этапах формирования токсического гепатита у крыс // Вестник Уральской медицинской академической науки.-2009.-Т.25.-№2.-С.300-302
4. Бонитенко Е.Ю., Петров А.Н., Шевчук М.К. Влияние полигексаметиленгуанидин гидрохлорида на токсичность этилового спирта//Проблемы стандартизации и внедрения современных диагностических и лечебных технологий в практической токсикологической помощи пострадавшим от острых химических воздействий: Тез.Росс.науч.конф./Под ред. В.Г.Сенцова (Екатеринбург, 25-26 сентября 2008 г.). – Изд. ГОУ ВПО УГМА Росздрава. 2008.- С. 103-105.
5. Вальтер В.Э., Буханцева Н.В., Вранович О.А., Гладченко Ю.Л. Особенности клинической картины и лечения острых отравлений суррогатами алкоголя//Проблемы стандартизации и внедрения современных диагностических и лечебных технологий в практической токсикологической помощи пострадавшим от острых химических воздействий: Тез.Росс.науч.конф./Под ред. В.Г.Сенцова (Екатеринбург, 25-26 сентября 2008 г.). – Изд. ГОУ ВПО УГМА Росздрава. 2008.- С. 88–90.
6. Новикова О.В. Острые отравления полигексаметиленгуанидин гидрохлоридом. Есть ли отдаленные последствия? //Проблемы стандартизации и внедрения современных диагностических и лечебных технологий в практической токсикологической помощи пострадавшим от острых химических воздействий: Тез.Росс.науч.конф./Под ред. В.Г.Сенцова (Екатеринбург, 25-26 сентября 2008 г.). – Изд. ГОУ ВПО УГМА Росздрава. 2008.- С. 115-116.
7. Пестряева Л.А. Разработка информативных лабораторных критериев в оценке степени тяжести эндогенной интоксикации при патологически протекающей беременности / Автореф. дис...канд. биолог. наук / Институт физико-химической медицины. Москва.2002. 26 с.

8. Колмаков В.Н., Радченко В.Г. Значение определения проницаемости эритроцитарных мембран (ПЭМ) в диагностике хронических заболеваний печени // Терапевтический архив. №5. 1982. С. 59 – 62.
9. Сенцов В.Г., Данилова И.Г.Медведева С.Ю., Абидов, М.Т., Юшков Б.Г., Гетте И.Ф. Роль макрофагов в патогенезе токсического гепатита у крыс // Уральский медицинский журнал.–2010.–№ 9.–С.127-131
10. Романова Л.К. Регуляция восстановительных процессов .-М: Издательство МГУ, 1984.-209 с.
- 11.Медведева С.Ю., Гетте И.Ф., Данилова И.Г., Сенцов В.Г. Оценка токсического действия полигексаметиленгуанидин гидрохлорида// Токсикологический вестник.– 2012.– 2(113).– С. 52-55.