

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОТИВОФИБРОЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ПЛОДОВ СЕМЕЙСТВА ВЕРЕСКОВЫЕ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ ЮГРЫ

Е.А.Кривых, Н.С.Кавушевская*, А.Е.Гуляев, Л.В.Коваленко***

MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EVALUATION OF THE ANTIFIBROTIC ACTIVITY OF THE HEATHER FAMILY BERRIES EXTRACTS GROWING IN YUGRA REGION

E.A.Krivykh, N.S.Kavushevskaya*, A.E.Guliaev, L.V.Kovalenko***

Ханты-Мансийская государственная медицинская академия, krivykhEA@hmgma.ru

**Сургутский государственный университет, natalya.kavushevskaya@mail.ru*

***National Laboratory Astana, г. Нур-Султан, Республика Казахстан*

Работа посвящена определению гепатопротекторных свойств полифенольных экстрактов плодов клюквы обыкновенной (*Vaccinium oxycoccus* L.), черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.), брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.) и голубики обыкновенной (*Vaccinium uliginosum* L.). Исследование проведено на 70 крысах-самцах линии Wistar 7-8 месяцев, массой тела 210-230 г. Фиброз печени был моделирован путем токсического поражения раствором четыреххлористого углерода (CCl₄) — 0,2 мл/100 г массы тела в рафинированном оливковом масле (1:1). Доказано, что полифенольные экстракты плодов черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.) (наиболее выражено), голубики обыкновенной (*Vaccinium uliginosum* L.), клюквы обыкновенной (*Vaccinium oxycoccus* L.) и брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.) (в наименьшей степени) могут уменьшать выраженность повреждений печени, вызываемых CCl₄. Полученные сведения позволяют предполагать возможность применения исследуемых экстрактов в качестве корректоров процесса фиброза.

Ключевые слова: фиброз печени, полифенолы, плоды клюквы обыкновенной (*Vaccinium oxycoccus* L.), плоды черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.), плоды брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.), плоды голубики обыкновенной (*Vaccinium uliginosum* L.)

Для цитирования: Кривых Е.А., Кавушевская Н.С., Гуляев А.Е., Коваленко Л.В. Морфологическая и биохимическая оценка противofiброзной активности экстрактов плодов семейства вересковые, произрастающих на территории Югры // Вестник НовГУ. Сер.: Медицинские науки. 2021. №3(124). С.82-89. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.3\(124\).82-89](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.3(124).82-89)

The focus of the paper is to determine hepatoprotective properties of polyphenolic extracts of the fruits of cranberry (*Vaccinium oxycoccus* L.), blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.), cranberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) and blueberry (*Vaccinium uliginosum* L.). The study was conducted on 70 male Wistar rats aged 7-8 months, weighing 210-230 g. Liver fibrosis was modeled by toxic damage with a solution of carbon tetrachloride (CCl₄) – 0.2 ml/100g of body weight in refined olive oil (1:1). It has been proven that polyphenolic extracts of blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) (most pronounced), blueberry (*Vaccinium uliginosum* L.), cranberry (*Vaccinium oxycoccus* L.) and cranberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) (least pronounced) can reduce the severity of liver damage caused by CCl₄. The obtained data suggest that the studied extracts can be used as correcting agents for fibrosis.

Keywords: liver fibrosis, polyphenols, fructus *Vaccinium oxycoccus*, fructus *Vaccinium myrtillus* L., fructus *Vaccinium vitis-idaea* L., fructus *Vaccinium uliginosum* L.

For citation: Krivykh E.A., Kavushevskaya N.S., Guliaev A.E., Kovalenko L.V. Morphological and biochemical evaluation of the antifibrotic activity of the heather family berries extracts growing in Yugra region // Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences. 2021. №3(124). P.82-89. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.3\(124\).82-89](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.3(124).82-89)

«Фиброз печени» — тип реактивного процесса, характеризующийся чрезмерным накоплением волокнистой соединительной ткани в печени [1]. Множество разнотипных экзогенных повреждений печени могут иметь своим исходом данный патологический процесс [2].

Многочисленные исследования *in vitro* и *in vivo* показали, что окислительный стресс опосредует начало и прогрессирование фиброза печени [3,4]. Избыточ-

ное накопление свободных радикалов разрушает макромолекулы мембран, вызывая ускорение апоптоза или некроз гепатоцитов, стимулирует выработку профиброгенных медиаторов и непосредственно активизирует звездчатые клетки печени, что приводит к иницированию процессов фиброобразования. Поэтому коррекция окислительного стресса может являться потенциальной терапевтической стратегией предупреждения развития или торможения фиброза печени [5].

Таблица 1

Экспериментальные группы животных

№ группы	Объект исследования
I	Интактные крысы
II	Контрольная патология (животные без лечения)
III	Животные с патологией, которым вводили экстракт клюквы обыкновенной
IV	Животные с патологией, которым вводили экстракт брусники обыкновенной
V	Животные с патологией, которым вводили экстракт черники обыкновенной
VI	Животные с патологией, которым вводили экстракт голубики обыкновенной
VII	Животные с патологией, которым лечение проводили референс-препаратом Силимарин ГЕКСАЛ®

Считается, что фармакотерапевтические возможности при завершённом фиброзе — циррозе — сводятся только к симптоматической коррекции [6]. Но согласно литературным данным, ранние стадии процесса могут иметь обратимый характер при своевременном воздействии на ведущие звенья патогенеза [7]. На этом фоне природные антиоксиданты, полифенолы плодов клюквы обыкновенной (*Vaccinium oxycoccos* L.), черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.), брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.) и голубики обыкновенной (*Vaccinium uliginosum* L.) привлекают все большее внимание как потенциальные корректоры фиброзирования [8]. Но к настоящему времени в литературных источниках имеются данные экспериментальных исследований фармакологических свойств экстрактов плодов черники обыкновенной [9]. Относительно других плодов семейства Вересковые сведения носят фрагментарный характер, а эффекты на моделях повреждения печени не описаны.

Цель работы: определение гепатопротекторных свойств полифенольных экстрактов плодов клюквы обыкновенной (*Vaccinium oxycoccos* L.), черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.), брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.) и голубики обыкновенной (*Vaccinium uliginosum* L.) на модели токсического повреждения печени CCl_4 .

Материал и методы исследования

Плоды клюквы обыкновенной (*Vaccinium oxycoccos* L.), черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.), брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.) и голубики обыкновенной (*Vaccinium uliginosum* L.) были собраны в летне-осенний период 2018 г. в Сургутском районе Ханты-Мансийского автономного округа — Югры.

Полученные экстракты плодов концентрировали в вакуумном испарителе до уровня полифенолов 10 мг/мл.

Для количественного определения полифенолов в полученных экстрактах использовали коммерческий набор «Polyphenols folin-ciocalteu (ENOLOGY line by BioSytms. Spain)», в перерасчете на галловую кислоту.

Референс-препаратом был выбран Силимарин ГЕКСАЛ® (Silymarin HEXAL®) (сухой экстракт расторопши пятнистой 172 мг в капсуле), вводили внутрь через желудочный зонд в дозе 200 мг/кг, предварительно суспендировали в крахмальной взвеси (вводимый объем — 0,2-0,3 мл).

Исследование проведено на 70 крысах-самцах линии Wistar 7-8 месяцев, массой тела 210-230 г. Животные содержались в клетках при комнатной температуре (22±2)°C с 12-часовым циклом свет/темнота и минимальной относительной влажностью 40%. Кормили стандартным гранулированным кормом, доступ к воде был свободным, *ad libitum* [10].

Животные были разделены на семь групп по 10 особей. Распределение по группам представлено в табл.1.

К концу эксперимента 6 крыс погибли (4 — в группе II, по одной — в группах III и VI).

Фиброз печени был моделирован путем токсического поражения раствором четыреххлористого углерода (CCl_4) — 0,2 мл/100 г массы тела в рафинированном оливковом масле (1:1).

Ежедневно в течение 14 дней вводили внутривентриально через зонд животным групп I-II по 0,2 мл физиологического раствора, групп III-VII — исследуемые экстракты (из расчета 10 мг/кг) и референс-препарат (вводимый объем 0,2-0,3 мл).

Через 3 часа после первого внутривентриального введения в группе I внутрибрюшинно была выполнена инъекция физиологического раствора, а в группах II-VII — инъекция раствора четыреххлористого углерода (CCl_4 , 0,2 мл/100г массы тела в рафинированном оливковом масле (1:1)) для моделирования токсического повреждения печени. Далее, два раза в неделю (понедельник — четверг) на протяжении 2 недель повторяли введение CCl_4 в соответствии с протоколом, предложенным Constandinou et al. [11].

Животных выводили из эксперимента через сутки после последнего введения CCl_4 под раужно-наркозом. Кровь собирали и центрифугировали при 2200 g 15 мин. Образцы плазмы хранили при -20°C для биохимического анализа AST, ALT, общего билирубина и триглицеридов. Исследования проводили на автоматическом биохимическом анализаторе XL100 (Erba Lachema, Чехия) в соответствии с инструкциями производителя.

Печень была выделена, промыта и взвешена. Также до извлечения печени была определена масса крысы. Индекс печени в соответствии с рекомендациями Yang et al [12] рассчитывали по формуле: (масса печени / масса крысы) × 100%.

Для гистологического исследования были взяты образцы ткани поперечного сечения цен-

тральной части правой доли печени крысы, которые фиксировали в 10% формалине при 4°C не менее 24 часов. Через двадцать четыре часа образцы ткани печени промывали водой и проводили в спиртах возрастающей концентрации (70, 90, 96 и 100%), затем погружали в ксилол и заливали в парафиновые блоки. Срезы тканей толщиной 5 мкм делали на санном микротоме «Leica SM 2000R». Срезы сначала депарафинировали в ксилоле, а затем гидратировали в серии снижающихся концентраций спирта (100, 96 и 70%).

Для гистологической оценки степени тяжести фиброза печени окрашивали коллагеновые волокна по Ван Гизону, используя следующую процедуру: депарафинизированные и гидратированные срезы погружали в 70% этанол, содержащий 1% хлористого водорода, инкубировали в растворе резорцин-фуксин в течение 60 мин и промывали в 100% этаноле и в воде с последующим окрашиванием раствором Ван Гизона (насыщенная пикриновая кислота, содержащая 0,09% кислого фуксина) в течение 5 мин.

Гистопатологический и морфометрический анализы были выполнены на поперечном сечении печени, индивидуально, путем случайной выборки для каждого животного в каждой группе, используя 10 полей зрения. Полуколичественный подсчет был выполнен с применением системы, адаптированной из METAVIR, дифференцируя стадии (F-оценки) от F0 до F4. Крысы были разделены на пять групп: F0 — нет фиброза, F1 — легкий фиброз (портальный фиброз без септ), F2 — умеренный фиброз (мало септ), F3 — тяжелый фиброз (многочисленные септы без цирроза) и F4 — цирроз. У крыс контрольной группы фиброз не воспроизводили. F2, F3 и F4 были определены как значительный фиброз. Кроме того, дополнительно все срезы печени были оценены по шкале ISHAK. Гистологическое исследование материала по отношению к клиническим данным проводилось вслепую.

Гистоморфометрический анализ проводился на специализированном аппаратно-компьютеризованном комплексе фирмы «Leica microsystems» на микроскопе «Leica DM 1000».

Обращение с животными соответствовало «Правилам надлежащей лабораторной практики», утвержденных приказом Министерства здравоохранения РФ №199н от 01.04.2016, и Межгосударственным стандартам ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными», соответствующими Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях (ETS N 123, Страсбург, 18 марта 1986 г. с приложением от 15.06.2006 г). Исследования одобрены комиссией по этике медицинского института Сургутского государственного университета.

Результаты

Количественный состав полифенольных соединений в экстрактах плодов семейства Вересковые показан в табл.2.

Таблица 2

Уровень концентрации основных полифенольных соединений в экстрактах плодов семейства Вересковые

Исследуемые экстракты плодов	Содержание полифенолов mgGAE /ml
Клюквы обыкновенной	14,6 ± 0,9
Брусники обыкновенной	16,3 ± 1,7
Черники обыкновенной	29,1 ± 1,4
Голубики обыкновенной	25,5 ± 0,9

Примечание: результаты представлены как $M \pm m$ при $n = 3$

Как видно, исследуемые экстракты плодов характеризуются относительно высоким уровнем полифенольных соединений, наибольшее содержание отмечается у черники обыкновенной и голубики обыкновенной.

Введение крысам экстрактов плодов семейства Вересковые на фоне субхронической CCl_4 интоксикации существенно отразилось на исследованных в условиях данного эксперимента лабораторных показателях, представленных в табл.3.

Таблица 3

Влияние экстрактов плодов семейства Вересковые на индекс печени у крыс при экспериментальном фиброзе

Группы	Масса тела	Масса печени	Индекс печени
I ($n = 10$)	232,9 ± 8,42	9,7 ± 1,22	4,16 ± 0,51#
II ($n = 6$)	185,5 ± 6,15*	11,0 ± 0,92	5,93 ± 0,26*
III ($n = 9$)	198,6 ± 9,14	10,5 ± 0,73	5,29 ± 0,38*
IV ($n = 10$)	218,4 ± 7,11	11,6 ± 0,97	5,31 ± 0,63*
V ($n = 10$)	233,2 ± 9,08	10,3 ± 1,24	4,42 ± 0,44#
VI ($n = 9$)	229,4 ± 5,12	12,1 ± 1,98	5,27 ± 0,60*
VII ($n = 10$)	236,3 ± 5,48	10,9 ± 1,10	4,61 ± 0,45#

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с интактными крысами; # — $p < 0,05$ при сравнении с контролем (модель фиброза).

Как показано в табл.3, средняя масса тела у крыс группы II была ниже, чем у интактных животных группы I ($p < 0,05$), а индекс печени был выше, чем у крыс I группы, что можно считать типичным для модели фиброза печени. Индексы печени у крыс III, IV, VI группы достоверно не отличались по этому показателю от крыс в контрольной группе II. Но индексы печени в группе V и VII снижались по сравнению с контролем и незначительно отличались от интактных крыс группы I.

Уровень концентрации цитолитических ферментов аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ), а также содержание триглицеридов (ТГ) и общего холестерина (ОХ) показан в табл.4.

Таблица 4

Биохимические показатели сыворотки крови крыс в сыворотке крови крыс

Группы	АСТ (U/L)	АЛТ (U/L)	ТГ (mg/dL)	ОХ (mg/dL)
I (n = 10)	12,4 ± 1,17	5,4 ± 0,87	5260,2 ± 94,20	114,7 ± 9,44
II* (n = 6)	149,8 ± 12,60*	28,9 ± 2,17 *	14386,5 ± 104,37*	535,3 ± 22,18 *
III# (n = 9)	97,4 ± 5,73*	17,3 ± 2,04 *#	10534,7 ± 122,60 #	398,5 ± 29,46 #
IV (n = 10)	104,9 ± 11,62*	16,9 ± 1,65*#	11053,2 ± 144,62 #	480,4 ± 29,80#
V (n = 10)	58,3 ± 4,82 *#	11,2 ± 2,05 *#	8060,0 ± 207,16 #	240,8 ± 16,70#
VI (n = 9)	73,5 ± 4,88*#	16,8 ± 1,91*#	9110,8 ± 99,38#	278,5 ± 30,27#
VII (n = 10)	53,2 ± 6,73* #	10,6 ± 1,76 *#	9763,4 ± 160,45 #	490,7 ± 20,44

* — $p < 0,05$ при сравнении с нормой; # — $p < 0,05$ при сравнении с контролем (модель фиброза).

Таблица 5

Гистоморфометрическая оценка эффективности экстрактов плодов семейства Вересковые при экспериментальном фиброзе

Группы	F0	F1	F2	F3	F4	p—value ¹	p—value ²
I (n = 10)	100%(10/10)	—	—	—	—	—	0,001
II* (n = 6)	—	16,7% (1/6)	16,7% (1/6)	50,0% (3/6)	16,7% (1/6)	0,001	—
III# (n = 9)	55,5%(5/9)	33,3%(3/9)	11,1%(1/9)	—	—	0,113	0,003
IV* (n = 10)	20%(2/10)	30%(3/10)	20%(2/10)	30%(3/10)	—	0,002	0,118
V# (n = 10)	50%(5/10)	40%(4/10)	10%(1/10)	—	—	0,063	0,003
VI# (n = 9)	56%(5/9)	33%(3/9)	11%(1/9)	—	—	0,113	0,003
VII# (n = 10)	60%(6/10)	20%(2/10)	10%(1/10)	10%(1/10)	—	0,143	0,016

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с нормой; # — $p < 0,05$ при сравнении с контролем (модель фиброза).

В сыворотке крови крыс с контрольной патологией II группы отмечено повышенное содержание АСТ и АЛТ, что свидетельствует о цитолитических процессах. Увеличение показателей ТГ и ОХ свидетельствует о нарушении липидного обмена. Оба феномена типичны для токсического повреждения печени, вызываемого четыреххлористым углеродом. Референс-препарат Силимарин ГЕКСАЛ® (группа VII) обеспечивает снижение АСТ и АЛТ, ТГ, но не ОХ. Как видно из табл.4, все экстракты плодов (группы III-VI) в условиях данного эксперимента подобно референс-препарату препятствуют подъему АЛТ, а также увеличению концентрации ТГ и ОХ в крови крыс. Экстракты клюквы обыкновенной и брусники

обыкновенной (группы III и IV) не снижали достоверно уровень концентрации АСТ в сравнении с группой II в отличие от экстрактов черники обыкновенной и голубики обыкновенной (группы V и VI).

Результаты гистоморфометрического исследования влияния экстрактов исследуемых плодов на формирование фиброза печени при введении CCl_4 описаны в табл.5.

Статистический анализ данных проводился с использованием непараметрических U-критериев Крускала—Уоллиса и Манна—Уитни, поскольку полученные данные не соответствовали нормальному распределению, а дисперсия не была однородной. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

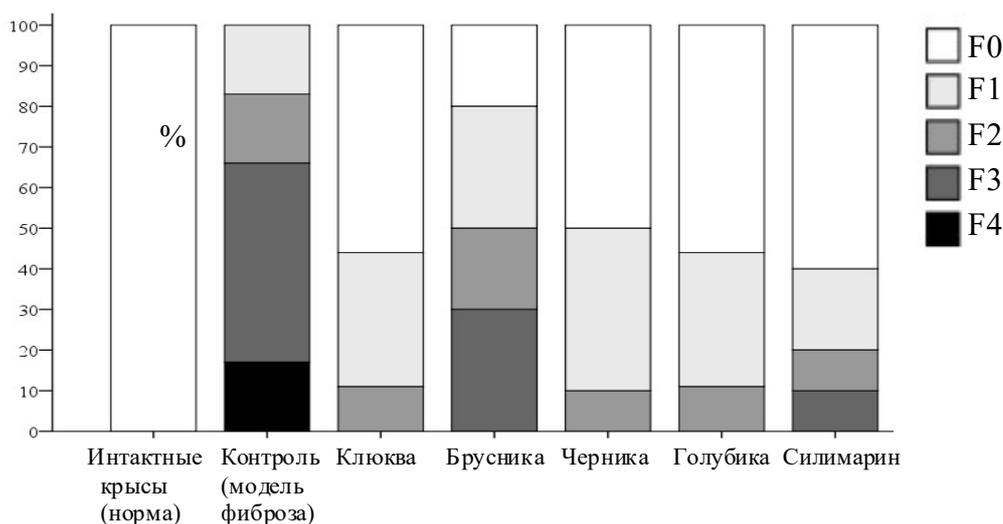


Рис.1. Гистоморфометрическая оценка воздействия экстрактов плодов семейства Вересковые на фиброз печени крыс

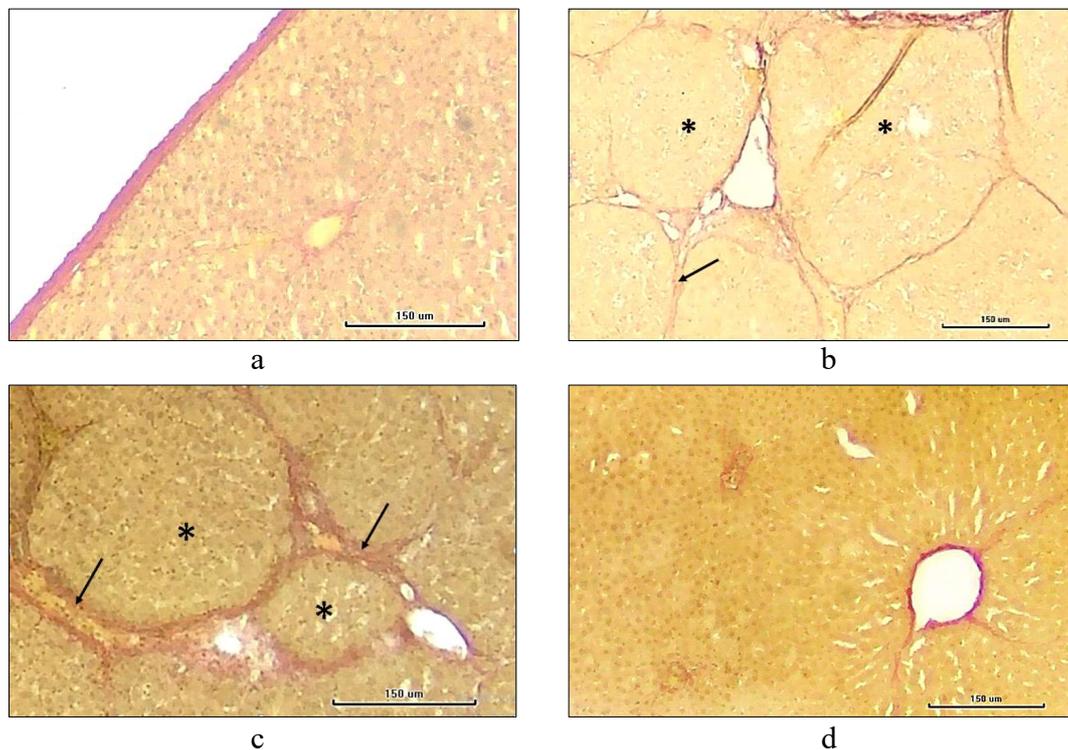


Рис.2. Микрофотографии ткани печени крыс: а — интактная группа, гистологически нормальное строение, нативные волокна коллагена были обнаружены в портальных трактах и печеночных венах, фиброза нет (F0); б, с — контрольная группа, разрастание коллагеновых волокон с образованием фиброзных септ, нарушающих структуру печеночной ткани (стрелка) и образующих ложные дольки (звездочка), в части гистологических срезов — без центральных вен, окруженных тонкопетлистой соединительнотканной сетью (F3); д — экстракт клюквы обыкновенной, нативные волокна коллагена были обнаружены в портальных трактах и печеночных венах, фиброза нет (F0), окраска: Ван Гизон, ув. $\times 100$ (а-с); $\times 200$ (д)

Как видно из табл.5 и рис.1, гистологическое строение ткани печени крыс интактной группы в 100% случаев соответствовало норме (F0). В группе II без гистологических признаков фиброза печени не выявлено, в одном случае (16,7%) обнаружен фиброз без образования септ (F1), в остальных случаях определялось разрастание коллагеновых волокон в области портальной вены с образованием фиброзных септ, как единичных, так и множественных, объединяющихся между собой с образованием ложных долек, что характеризуется как значительный фиброз (стадии F2-F4) (рис.2б, 2с). Сходная гистологическая картина наблюдалась в группе IV, получавшей экстракт плодов брусники обыкновенной ($p < 0,05$). В группах III, получавших экстракты клюквы обыкновенной, V — черники обыкновенной, VI — голубики обыкновенной и VII — Силимарин ГЕКСАЛ[®], в 80% случаев образование коллагена обнаружено в минимальном количестве, преимущественно в области портальной вены, с распространением в небольшом количестве в некоторые портальные тракты, в единичных случаях — с образованием коротких фиброзных септ, что соответствует стадиям F0 и F1 по METAVIR и незначительно отличается от группы I ($p > 0,05$). Антифибротические эффекты концентратов полифенолов плодов клюквы обыкновенной, черники обыкновенной, голубики обыкновенной и Силимарина ГЕКСАЛ[®] показали отсутствие статистически значимых отличий между группами ($p > 0,05$).

На рис.2 представлена корреляционная взаимосвязь между биохимическими показателями сыворотки крови и стадией фиброза (METAVIR). В сыво-

ротке крови крыс I группы повышения биохимических маркеров не выявлено. В сыворотке крови крыс II группы обнаружено повышенное содержание АЛТ, АСТ, ТГ и ОХ, маркирующее цитолитическое повреждение печени и нарушения липидного обмена, сопровождающееся повышением степени фиброза.

С повышением уровня биохимических маркеров при гистологическом исследовании отмечалось увеличение разрастания коллагеновых волокон с образованием фиброзных септ, нарушающих структуру печеночной ткани и образующих ложные дольки (рис.2б, 2с). В группе II в 83,3% случаев обнаружены мостовидные фиброзы, связывающие сосудистые структуры, что является отличительным признаком прогрессирующего фиброза (F2-F4). Портальный цирроз формируется вследствие вклинивания в дольки фиброзных септ из расширенных и склерозированных портальных и перипортальных полей, что ведет к соединению центральных вен с портальными сосудами и появлению мелких (монолобулярных) ложных долек разной величины и формы, в части гистологических срезов — без центральных вен, окруженных тонкопетлистой соединительнотканной сетью (рис.2с).

Подобная гистологическая картина выраженного фиброза ассоциировалась с более высокими показателями биохимических маркеров (рис.4). В группах III-VI отмечались более низкие значения биохимических маркеров, ассоциирующиеся с отсутствием гистологических признаков фиброза печени (рис.2д, 3f-h), что свидетельствует об антифибротическом и гепатопротекторном действии исследуемых экстрактов плодов семейства Вересковые.

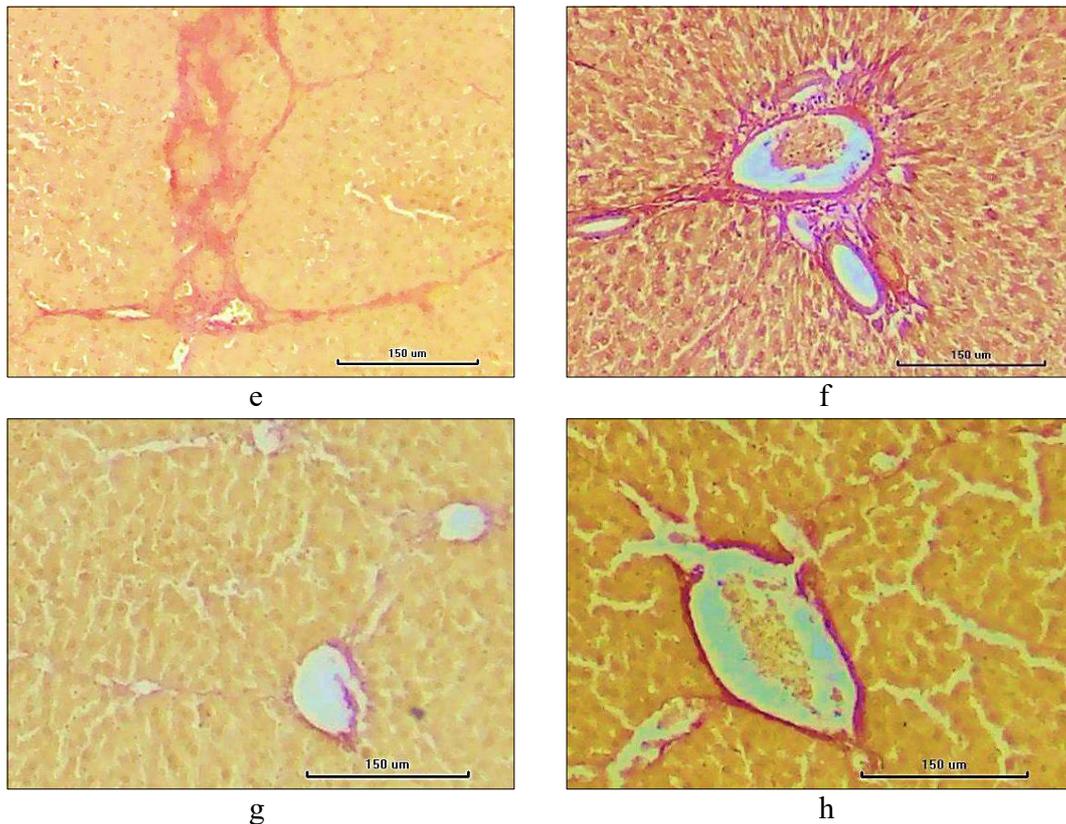


Рис.3. Микрофотографии ткани печени крыс: е — экстракт брусники обыкновенной, разрастание коллагеновых волокон с образованием единичных (F2) и множественных (F3) фиброзных септ. f — экстракт черники обыкновенной, нативное периваскулярное разрастание коллагеновых волокон, периваскулярный фиброз без образования септ (F1). g — экстракт голубики обыкновенной, фиброза нет (F0). h — Силимарин ГЕКСАЛ®, фиброза нет, нативное периваскулярное разрастание коллагеновых волокон (F0); окраска: Ван Гизон. ув. $\times 100$ (e); $\times 200$ (f-h)

Обсуждение

Введение крысам CCl_4 на протяжении 2-х недель в группе II привело к формированию картины повреждения ткани печени, которая сопровождалась снижением массы тела, увеличением массы печени и повышением индекса печени. При этом в сыворотке крови возрастала концентрация АСТ, АЛТ, ТГ и ОХ.

Морфологически это выражалось появлением признаков фиброза в группе II: при окрашивании по Ван Гизону коллагеновые волокна вокруг центральной вены и портальной области демонстрировали выраженную пролиферацию с образованием фиброзных септ, нарушающих структуру печеночной ткани и образующих ложные долики.

В качестве референс-препарата был выбран Силимарин ГЕКСАЛ® гепатопротекторного действия, состоящий из смеси флавонолигандов — силибина, силидианина и силикрестина, получаемые из плодов расторопши пятнистой (*Silybum marianum*) [13]. Разные авторы описывают его противовоспалительное и проапоптотическое действие, антиоксидантный эффект, в целом эти свойства гипотетически могут противодействовать возникновению и развитию механизмов повреждения, которые ответственны за развитие фиброза [14,15].

В условиях эксперимента у крыс при воспроизведении патологии действие Силимарина ГЕКСАЛ® проявлялось снижением печеночного индекса, уменьшением, в сравнении с контролем, концентрации АСТ, АЛТ и ТГ, но не в отношении ОХ. Гистологически у животных группы VII в 8 случаях (80%) образование

коллагена было невыраженным, преимущественно в области портальной вены, с распространением в небольшом количестве в некоторые портальные тракты, в единичных случаях — с образованием коротких фиброзных септ, что соответствует стадиям F0 и F1 по METAVIR. У 10% животных выявлен незначительный фиброз с единичными септами (F2), еще у 10% — фиброз с множественными септами без цирроза (F3).

Введение крысам экстракта плодов черники обыкновенной (группа V) на фоне воспроизведенной патологии печени проявлялось снижением печеночного индекса за счет снижения массы печени и отсутствием торможения прироста массы тела в сравнении с контролем. Экстракты других плодов клюквы обыкновенной, брусники обыкновенной и голубики обыкновенной развитие гепатомегалии не предотвращали.

Экстракты черники обыкновенной и голубики обыкновенной в условиях данного эксперимента подобно референс-препарату препятствовали подъему уровня цитолитических ферментов АСТ и АЛТ под действием CCl_4 , а экстракты клюквы обыкновенной и брусники обыкновенной проявляли эффект в отношении только АЛТ. Торможение роста в крови АСТ и АЛТ под влиянием экстрактов плодов мы более всего склонны связывать с ограничением процесса повреждения клеток CCl_4 . Эту способность экстракта черники обыкновенной отмечают и другие исследователи на экспериментальных моделях фиброза печени под действием CCl_4 [16]. Видимо, можно считать, что этот эффект вообще типичен для полифенольных экстрактов.

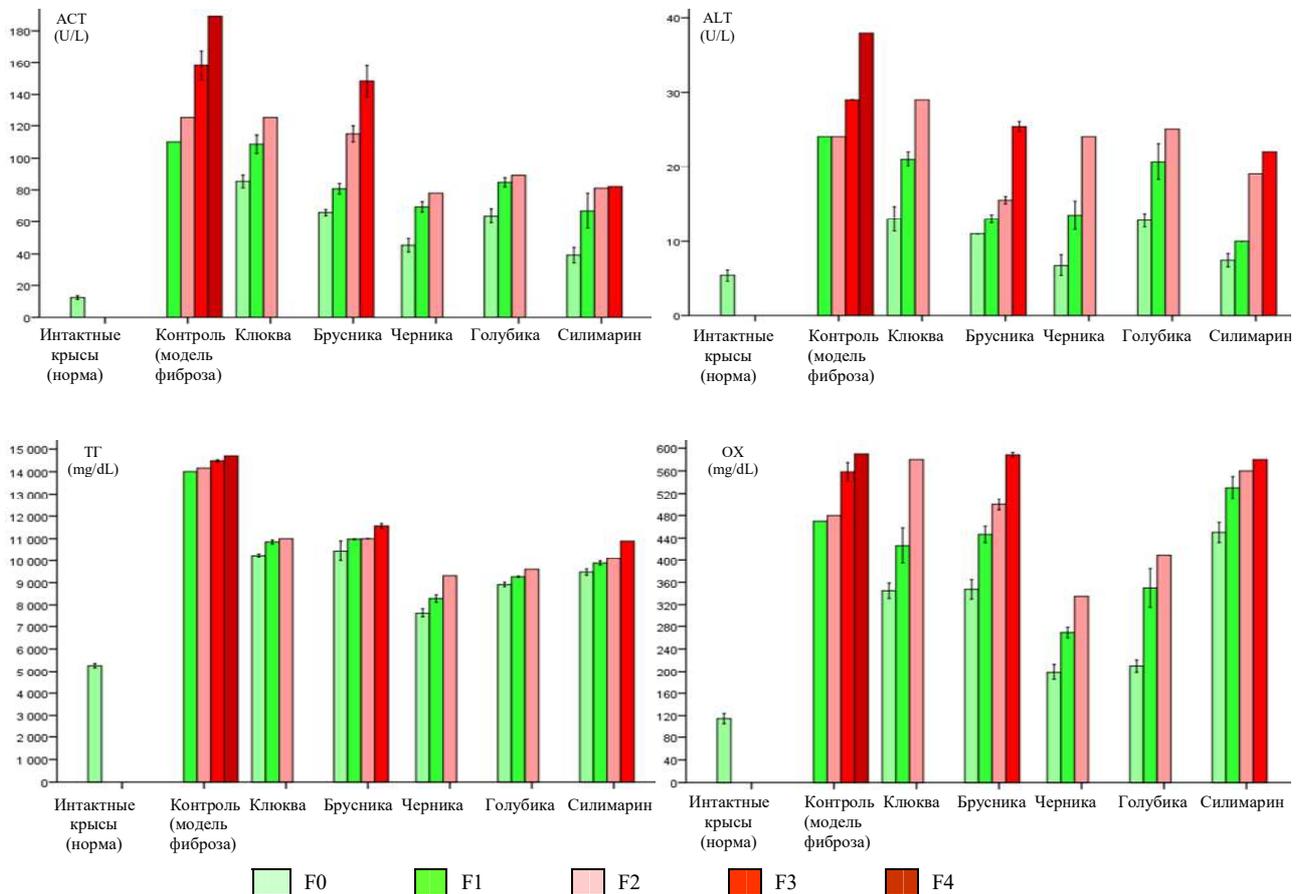


Рис.4. Анализ корреляционной связи между степенью фиброза и биохимическими показателями сыворотки крови как проявление антифибротических и гепатопротекторных свойств экстрактов плодов семейства Вересковые

Положительное действие исследуемых экстрактов на липидный обмен проявлялось снижением по сравнению с контролем концентрации ТГ и ОХ в крови крыс. Тенденция к нормализации показателей липидного обмена также является часто регистрируемым эффектом полифенольных экстрактов черники обыкновенной [17].

Таким образом, действие экстрактов плодов клюквы обыкновенной, брусники обыкновенной, черники обыкновенной и голубики обыкновенной, выражающееся в ограничении цитолитического эффекта, препятствии нарушению липидного обмена, торможении провоспалительного эффекта, снижении уровня оксидативного стресса при интоксикации крыс CCl_4 . Косвенным свидетельством этого можно считать факт большей активности во всех проявлениях экстракта черники обыкновенной, содержание полифенольных соединений в котором превосходит остальные экстракты плодов.

Разница в гистологической степени фиброза между интактной и контрольной группой была статистически значима ($p < 0,05$), что свидетельствует о том, что модель фиброза печени была успешно воспроизведена. Разница в гистологической степени фиброза печени между группой контроля и группами, принимавшими концентраты полифенолов плодов клюквы обыкновенной, черники обыкновенной, голубики обыкновенной была статистически значимой ($p < 0,05$), что свидетельствует об антифибротиче-

ском действии экстрактов данных плодов на печень в условиях экспериментальной патологии.

В данной работе получены доказательства того, что полифенольные экстракты плодов черники обыкновенной (*Vaccinium myrtillus* L.) (наиболее выражено), голубики обыкновенной (*Vaccinium uliginosum* L.), клюквы обыкновенной (*Vaccinium oxycoccus* L.) и брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea* L.) (в наименьшей степени) могут уменьшать выраженность повреждений печени, вызываемые CCl_4 и в перспективе являться корректорами процесса развития фиброза.

1. Yoon S., Kang G., Eom G.H. HDAC Inhibitors: Therapeutic Potential in Fibrosis-Associated Human Diseases. *Int J Mol Sci.*, 2019, no.20(6), p. E1329. DOI: 10.3390/ijms20061329.
2. Wynn, T.A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J. Pathol.*, 2008, vol.214, pp.199–210.
3. Wu D.D., Wang D.Y., Li H.M., et al. Hydrogen Sulfide as a Novel Regulatory Factor in Liver Health and Disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2019 Jan 20;2019:3831713. DOI: 10.1155/2019/3831713
4. Ore A., Akinloye O.A. Oxidative Stress and Antioxidant Biomarkers in Clinical and Experimental Models of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Medicina (Kaunas)*, 2019, vol.55(2), p.E26. DOI: 10.3390/medicina55020026
5. Lin L., Zhou F., Shen S., et al. Fighting Liver Fibrosis with Naturally Occurring Antioxidants. *Planta Med.*, 2018, vol.84(18), pp.1318-1333.
6. Kockerling D., Nathwani R., Forlano R., et al. Current and future pharmacological therapies for managing cirrhosis and its complications. *World J Gastroenterol.*, 2019, vol.25(8), pp.888-908.

7. Ebrahimi H., Naderian M., Sohrabpour A.A. New Concepts on Reversibility and Targeting of Liver Fibrosis; A Review Article. *Middle East J Dig Dis.*, 2018, vol.10(3), pp.133-148.
8. Li S., Tan H.Y., Wang N., et al. The Potential and Action Mechanism of Polyphenols in the Treatment of Liver Diseases. *Oxid Med Cell Longev.*, 2018, vol.2018, pp.18394818. DOI: 10.1155/2018/8394818
9. Sun J., Wu Y., Long C., et al. Anthocyanins isolated from blueberry ameliorates CCl₄ induced liver fibrosis by modulation of oxidative stress, inflammation and stellate cell activation in mice. *Food Chem Toxicol.*, 2018, vol.120, pp.491-499.
10. Barthold S.W., Bayne K.A., Davis M.A. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington: National Academy Press; 2011., Applied Research Ethics National Association (ARENA) and Office of Laboratory Animal Welfare (OLAW) Bethesda: National government publication; 2002. Institutional animal care and use committee guidebook.
11. Constandinou C., Henderson N., Iredale J. P. Modeling liver fibrosis in rodents. *Methods in Molecular Medicine*, 2005; vol.117, pp.237–250.
12. Yang Q., Xie R.J., Geng X.X. Effect of Danshao Huaxian capsule on expression of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in fibrotic liver of rats. *World J Gastroenterol*, 2005, vol.11, pp.4953-4956.
13. Kim N.C., Graf T.N., Sparacino C.M., et al. Complete isolation and characterization of silybins and isosilybins from milk thistle (*Silybum marianum*). *Org Biomol Chem.*, 2003, vol.1(10), pp.1684-9.
14. Loguercio C., Festi D. Silybin and the liver: From basic research to clinical practice. *World J. Gastroenterol.*, 2011, vol.17, pp.2288–2301. Sokar S.S., El-Sayad M.E., Ghoneim M.E., et al. Combination of Sitagliptin and Silymarin ameliorates liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *Biomed Pharmacother.*, 2017, vol.89, pp.98-107.
15. Kheiripour N., Karimi J., Khodadadi I., et al. Hepatoprotective Effects of Silymarin on Liver Injury via Irisin Upregulation and Oxidative Stress Reduction in Rats with Type 2 Diabetes. *Iran J Med Sci.*, 2019, vol.44(2), pp.108-117.
16. Cásedas G., Les F., Gómez-Serranillos M.P., et al. Anthocyanin profile, antioxidant activity and enzyme inhibiting properties of blueberry and cranberry juices: a comparative study. *Food Funct.*, 2017, vol.8(11), pp.4187-4193.