

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования

«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ЗООЛОГИИ И ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ

Направление подготовки 06.04.01 Биология

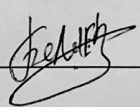
Магистерская программа «Биоресурсы и биоразнообразие»

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

БЕЛЯЕВА ГРИГОРИЯ ПАВЛОВИЧА

**СРАВНЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО И ПРОЛИФЕРАТИВНОГО
ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА "КСИМЕДОН", L-АСКОРБИНОВОЙ
КИСЛОТЫ И КОНЬЮГАТА ПРЕПАРАТА "КСИМЕДОН" С L-
АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ**

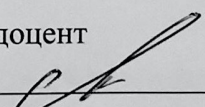
Работа завершена:

« 9 » 06 2020 г.  (Г. П. Беляев)

Работа допущена к защите:

Научные руководители

Кандидат биологических наук, доцент

« 9 » 06 2020 г.  (А. Г. Порфирьев)

Доктор биологических наук, с.н.с.

ИОФХ им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН

« ___ » _____ 2020 г. _____ (А. Б. Выштакалюк)

Заведующий кафедрой

Кандидат биологических наук, доцент

« 10 » 06 2020 г.  (Р. М. Сабиров)

Казань – 2020

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Гистологическое строение печени	7
1.1.1 Особенности клеточного состава ткани печени	9
1.2 Патологические состояния печени и механизмы их возникновения	11
1.2.1 Основные гепатотоксины	13
1.2.2 Виды токсического поражения печени	15
1.2.3 Значение и механизмы апоптоза в жизни клетки	19
1.2.4 Изменения структуры печени, вызванные действием четыреххлористого углерода	24
1.3 Гепатопротекторы	26
1.3.1 Механизмы действия некоторых групп гепатопротекторных препаратов	29
1.3.2 Препарат «Ксимедон»	32
1.3.3 Механизмы пролиферации и восстановления ткани печени	35
II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	38
2.1 Схема опыта по исследованию гепатопротекторной активности разных моделей введения препаратов конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой, «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты	40
2.2 Приготовление гистологических препаратов	41
2.3 Морфометрия и статистическая обработка данных	44
2.4 Иммунофлуоресцентное исследование	45
III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	47
3.1 Исследование гепатопротекторной активности разных моделей	

введения препаратов конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой, «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты	47
3.1.1 Эксперимент по пероральному введению препаратов	50
3.1.2 Эксперимент по внутрибрюшинному введению препаратов	55
3.2 Иммунофлуоресцентное исследование влияния конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой, «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты на апоптоз клеток печени при в/б введении	61
3.3 Иммунофлуоресцентное исследование пролиферативной активности конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой, «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты при в/б введении	66
3.4 Исследование соединительнотканного перерождения ткани печени после токсического поражения четыреххлористым углеродом	70
3.5 Исследование жировой дистрофии (стеатоза) печени крысы после токсического поражения четыреххлористым углеродом	73
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	76
ВЫВОДЫ	77
БЛАГОДАРНОСТИ	79
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	80
ПРИЛОЖЕНИЕ	92

РЕФЕРАТ

В работе проведены эксперименты на 55-и белых беспородных крысах линии Sprague Dawley согласно следующей схеме:

- 1) индуцирование токсического гепатита в течение 5 дней,
- 2) затем терапевтическое введение исследуемых препаратов в течение 5 дней, в контрольной группе физиологический раствор,
- 3) на 11 день эксперимента производился забор материала для гистологического исследования и последующего анализа.

Подготовка биологического материала для гистологических исследований осуществлялась по стандартным методикам с использованием специализированного оборудования, срезы печени окрашивались гематоксилином и эозином, суданом черным и по методу Ван-Гизона.

В эксперименте установлена целесообразность применения в качестве гепатопротекторов конъюгированной формы «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой по сравнению со смесью или отдельным введением «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты. Пероральное введение исследуемых препаратов оказалось менее эффективным по сравнению с внутривенным.

При изучении апоптоза и пролиферации гепатоцитов с помощью иммунофлуоресцентного метода показано восстановление ткани печени при применении препарата «Ксимедон» и конъюгированной формы «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой.

Установлена противомембранная и антистеатозная активность препарата «Ксимедон» и конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой.

ВВЕДЕНИЕ

На здоровье и качество жизни человека большое влияние оказывают стрессы, экологическая обстановка, неправильное питание, малоподвижный образ жизни. Основной удар пагубного влияния данных факторов принимает на себя печень, что приводит к различным заболеваниям. Заболевания печени имеют различную природу – это могут быть токсические повреждения печени (например, алкоголем), нарушение обмена веществ, инфекционные заболевания, рак, определенный образ жизни. Именно поэтому исследование новых способов защиты главного органа детоксикации нашего организма, является актуальной задачей.

В мире существуют различные препараты (общее название – гепатопротекторы), которые направлены на защиту и восстановление печени. В настоящее время перед нами стоит задача по созданию недорогих и действительно эффективных отечественных гепатопротекторов.

Проблемой создания новых лекарственных препаратов активно занимается Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова (г. Казань), где был создан препарат «Ксимедон» (по химической структуре представляет собой производное пиримидина), который обладает репаративной активностью и используется в клинической практике при лечении трофических язв, ожогов, остеомиелита (Измайлов, 2001).

В 2013 году была выявлена гепатопротекторная активность препарата «Ксимедон» (Выштакалюк и др., 2013) и с этого момента ведутся поиски новых производных данного пиримидина, которые будут способны эффективно восстанавливать ткани печени.

Таким образом, **целью** нашей работы является исследование гепатопротекторного действия «Ксимедона», конъюгата «Ксимедона» с L-аскорбиновой кислотой и аскорбиновой кислоты на модели токсического поражения четыреххлористым углеродом (CCl₄) печени крыс. В связи с поставленной целью, необходимо было решить следующие **задачи**:

- 1) Сравнить эффективность воздействия на восстановление ткани печени различных моделей введения (перорального и внутривентриального) конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой, «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты при лечении CCl₄-индуцированного токсического гепатита у крыс.
- 2) Исследовать целесообразность применения в качестве гепатопротектора конъюгированной формы «Ксимедона» с биогенной кислотой (аскорбиновой кислотой).
- 3) Изучить влияние конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой, препарата «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты на апоптоз клеток печени крыс при токсическом поражении четыреххлористым углеродом.
- 4) Выявить влияние конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой, «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты на пролиферацию клеток печени крыс при CCl₄-индуцированном токсическом гепатите.
- 5) Исследовать влияние внутривентриального введения конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой, «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты на развитие фиброза печени крыс при токсическом гепатите.
- 6) Изучить воздействие внутривентриального введения конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой, «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты на развитие стеатоза в печени крыс при токсическом гепатите.

ВЫВОДЫ

- Выявлено, что при пероральном введении конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой, «Ксимедона» и смеси «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой достоверно снижается площадь повреждения печени, при этом конъюгат «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой оказывает чуть больший положительный эффект.
- Показано, что гепатопротекторный эффект при внутрибрюшинном введении аскорбиновой кислоты, конъюгата «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой, «Ксимедон» и смеси «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой в целом выше, чем при пероральном введении. Среди них вещество лидер конъюгат «Ксимедона» с аскорбиновой кислотой.
- Выяснено, что раздельное внутрибрюшинное введение «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты не оказывает положительного эффекта, что свидетельствует о том, что химически синтезированный конъюгат «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты имеет лучший эффект, чем смесь или отдельное введение «Ксимедона» и аскорбиновой кислоты.
- При иммунофлуоресцентном исследовании апоптоза, показан противоапоптотический эффект препарата «Ксимедон» и конъюгата «Ксимедона» с L-аскорбиновой кислотой, при этом конъюгат оказывает чуть лучший эффект.
- Выяснено, что «Ксимедон» и конъюгат «Ксимедона» с L-аскорбиновой кислотой увеличивают пролиферативную активность ткани печени при индуцированном токсическом гепатите крыс.
- Показан противofiброзный эффект препарата «Ксимедон» и конъюгата «Ксимедона» с L-аскорбиновой кислотой. Выявлено уменьшение признаков фиброгенеза по сравнению с контрольной группой.