
РАДИОЛОГИЯ И РАДИОБИОЛОГИЯ, РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

RADIOLOGY AND RADIOBIOLOGY, RADIATION SAFETY

УДК 582.28:[54:614.876]

ЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА ВОДНО-ЭТАНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА *HERICIUM ERINACEUS* ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ХИМИЧЕСКИ-РАДИАЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Образец цитирования:

Вейалкина НН, Кадукова ЕМ, Надыров ЭА, Шаховская ОВ, Трухоновец ВВ, Дворник ЮВ, Цуканова ЕВ, Медведева ЕА. Защитные свойства водно-этанольного экстракта *Hericium erinaceus* при комбинированном химически-радиационном поражении в эксперименте. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2020;4:30–38. <https://doi.org/10.46646/2521-683X/2020-4-30-38>

For citation:

Veyalkina NN, Kadukova AM, Nadyrov EA, Shachovskaya OV, Truchanovets VV, Dvornik YuV, Tsukanova EV, Miadzvedzeva AA. Protective properties of water-ethanol extract *Hericium erinaceus* in combined chemical-radiation injury in experiment. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2020;4:30–38. Russian. <https://doi.org/10.46646/2521-683X/2020-4-30-38>

Авторы:

Наталья Николаевна Вейалкина – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией экспериментальных биологических моделей.

Елена Михайловна Кадукова – старший научный сотрудник отдела устойчивости биологических систем.

Эльдар Аркадьевич Надыров – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии.

Ольга Владимировна Шаховская – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальных биологических моделей.

Вячеслав Ветиславович Трухоновец – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры лесохозяйственных дисциплин.

Юлия Викторовна Дворник – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальных биологических моделей.

Елена Владимировна Цуканова – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальных биологических моделей.

Елена Анатольевна Медведева – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальных биологических моделей.

Authors:

Nataliya N. Veyalkina, PhD (biology); head of the laboratory of experimental biological models.

veyalkina@mail.ru

Alena M. Kadukova, senior researcher at the department of stability of biological systems.

helena.kad@mail.ru

Eldar A. Nadyrov, PhD (medicine); associate professor at the department of histology, cytology and embryology.

nadyrov2006@rambler.ru

Volha V. Shakhovskaya, junior researcher of the laboratory of experimental biological models.

s.o.v.94@mail.ru

Vyacheslav V. Trukhanovets, PhD (agriculture); associate professor at the department of forestry disciplines of the educational establishment.

vtrukhonovets@mail.ru

Yuliya V. Dvornik, junior researcher of the laboratory of experimental biological models.

negorodskaya@yandex.by

Alena V. Tsukanova, junior researcher of the laboratory of experimental biological models.

elenatsukanova14@gmail.com

Alena A. Miadzvedzeva, junior researcher of the laboratory of experimental biological models.

irb-2013@yandex.by

*Н. Н. ВЕЯЛКИНА*¹⁾, *Е. М. КАДУКОВА*¹⁾, *Э. А. НАДЫРОВ*²⁾, *О. В. ШАХОВСКАЯ*¹⁾,
*В. В. ТРУХОНОВЕЦ*³⁾, *Ю. В. ДВОРНИК*¹⁾, *Е. В. ЦУКАНОВА*¹⁾, *Е. А. МЕДВЕДЕВА*¹⁾

¹⁾*Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси,
ул. Федюнинского, 4, 246007, г. Гомель, Беларусь*

²⁾*Гомельский государственный медицинский университет,
ул. Ланге, 5, 246050, г. Гомель, Беларусь*

³⁾*Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины,
ул. Советская, 104, 246019, г. Гомель, Беларусь*

В клинической практике терапии заболеваний печени нередко используются препараты – гепатопротекторы, действие которых направлено на уменьшение активности воспалительных процессов и повышение устойчивости печени к патологическим воздействиям. Перспективными гепатопротекторами являются средства природного происхождения. Плодовые тела *H. erinaceus* богаты белками, жирами, целлюлозой, полисахаридами и различными аминокислотами, что обуславливает их биологическую активность.

Цель исследования – изучение защитных свойств водно-этанольного экстракта плодовых тел *H. erinaceus*, полученных при искусственном культивировании, в эксперименте на крысах линии Wistar, которых подвергали комбинированному воздействию тетрахлорметана (ТХМ) и общего однократного γ -облучения в дозе 3 Гр.

После химически-радиационного воздействия животные получали водно-этанольный экстракт *H. erinaceus* в дозах 0,5, 1,5 и 4,5 мл/кг и препарат сравнения «Хофитол» в дозе 1,5 мл/кг ежедневно в течение месяца. В крови крыс, получавших водно-спиртовой экстракт плодовых тел *H. erinaceus* в дозах 1,5 и 4,5 мл/кг, отмечено восстановление активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы. Исследуемый экстракт способствовал восстановлению гистологического строения печени крыс, которое характеризовалось снижением выраженности жировой дистрофии гепатоцитов и восстановлением структуры долек печени.

Ключевые слова: тетрахлорметан; ионизирующее излучение; *H. Erinaceus*; водно-спиртовой экстракт; гепатопротекторные эффекты.

PROTECTIVE PROPERTIES OF WATER-ETHANOL EXTRACT *HERICIUM ERINACEUS* IN COMBINED CHEMICAL-RADIATION INJURY IN EXPERIMENT

N. N. VEYALKINA^a, *A. M. KADUKOVA*^a, *E. A. NADYROV*^b, *O. V. SHACHOVSKAYA*^a,
V. V. TRUCHANOVETS^c, *Yu. V. DVORNIK*^a, *E. V. TSUKANOVA*^a, *A. A. MIADZVEDZEVA*^a

^a*Institute of Radiobiology, National Academy of Sciences of Belarus,
4 Fiadziuminskaya Street, 246007 Gomel, Belarus*

^b*Gomel State Medical University,
5 Lange Street, 246050 Gomel, Belarus*

^c*Francisk Skorina Gomel State University,
104 Saveckaja Street, 246019 Gomel, Belarus*

Corresponding author: N. N. Veyalkina (veyalkina@mail.ru)

In the clinical practice of treating liver diseases, drugs are often used - hepatoprotectors, the action of which is aimed at reducing the activity of inflammatory processes and increasing the liver's resistance to pathological influences. Funds of natural origin are promising hepatoprotectors. The fruit bodies of *H. erinaceus* are rich in proteins, fats, cellulose, polysaccharides and various amino acids, which determines their biological activity.

The aim of this work was to study the protective properties of a water-ethanol extract of *H. erinaceus* fruit bodies obtained by artificial cultivation in an experiment on Wistar rats, which were subjected to a combined effect of carbon tetrachloride and total single γ -irradiation at a dose of 3 Gy. After chemical and radiation exposure, the animals received a water-ethanol extract of *H. erinaceus* at doses of 0.5, 1.5 and 4.5 ml/kg and a comparison drug "Hofitol" at a dose of 1.5 ml/kg daily for a month. In the blood of rats receiving an aqueous-alcoholic extract of *H. erinaceus* fruiting bodies at doses of 1.5, and 4.5 ml/kg, the activity of alanineaminotransferase and aspartateaminotransferase was restored. It was found that the studied extract promotes restoration of the histological structure of rat liver, which is characterized by a decrease in the severity of fatty degeneration of hepatocytes and restoration of the structure of the liver lobules.

Keywords: carbon tetrachloride; ionizing radiation; *H. erinaceus*; water-ethanol extract; hepatoprotective effects.

Введение

Печень – это основной орган, участвующий в биотрансформации компонентов пищи, лекарственных средств и ксенобиотиков в организме [1]. Рост уровня заболеваний печени не вирусной этиологии, отмечающийся в мире по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), связывают как с высокими темпами развития химической и фармацевтической промышленности, так и с образом жизни современного человека [2].

В клинической практике терапии заболеваний печени нередко используются препараты, действие которых направлено на уменьшение активности воспалительных процессов и повышение устойчивости печени к патологическим воздействиям [3]. Подобные препараты относят к группе гепатопротекторов, лекарственных средств, чье воздействие направлено на восстановление гомеостаза в гепатоцитах, способствующих повышению устойчивости органа к влиянию патогенных факторов, нормализации функциональной активности и стимуляции репаративно-регенераторных процессов в печени [4].

Перспективными гепатопротекторами являются средства природного происхождения, имеющие преимущества перед синтетическими препаратами: разнообразие биологически активных веществ, малая частота наступления побочных эффектов, мягкое биологическое действие, возможность применения для профилактики. Благодаря своему гепатопротекторному действию они предотвращают и/или нормализуют функциональные нарушения функционирования печени и способствуют ее структурной сохранности, обладая при этом высокой безопасностью даже при длительном систематическом применении [4].

Базидиальные грибы являются продуцентами широкого спектра биологически активных соединений с иммуномодулирующим, адаптогенным, антиоксидантным действием, которые связаны с наличием в их составе полисахаридов, фенольных соединений, флавоноидов, терпенов, стероидов [5; 6].

Hericium erinaceus (Bull.) Pers. крупный съедобный и лекарственным гриб, который принадлежит к семействам *Aphyllphorales*, *Hydnaeaceae* и *Hericium* [7]. В последние годы *H. erinaceus* активно используется в традиционной народной медицине, а также как биологически активная добавка. Плодовые тела *H. erinaceus* богаты белками, жирами, целлюлозой, полисахаридами и различными аминокислотами. Полисахариды *H. erinaceus* являются одним из основных биологически активных ингредиентов и обладают широким спектром таких фармакологических и биологических активностей, как иммуномодулирующая, противоопухолевая, антиоксидантная, гепатопротекторная, гипогликемическая и гиполипидемическая [7; 8].

Цель исследования – изучение защитных свойств водно-этанольного экстракта плодовых тел *H. erinaceus*, полученных при искусственном культивировании, в эксперименте на крысах линии Wistar, которых подвергали комбинированному воздействию тетрахлорметана (ТХМ) и общего однократного γ -облучения в дозе 3 Гр.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на крысах линии Wistar обоего пола в возрасте 2–2,5 мес. по 5 особей каждого пола в группе, всего 10 животных в группе. Животные содержались в условиях стационарного вивария на полноценном стандартном пищевом рационе.

Использование животных в эксперименте проводилось с соблюдением норм, регламентированных международными рекомендациями и правилами Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях от 22 сентября 2010 г. [9].

Плодовые тела гриба *H. erinaceus* выращивались на базе УО ГГУ им. Скорины и были предоставлены для исследований в высушенном и измельченном до состояния порошка виде. Водно-спиртовой экстракт *H. erinaceus* готовили путем настаивания на водяной бане порошка из высушенных плодовых тел в дистиллированной воде (1 г/3 мл) в течение 30 мин при 80 °С, после остывания добавляли 96 % этиловый спирт (76 мл); настаивание продолжалось в плотно-закрытой колбе при комнатной температуре в течение 5 дней без доступа солнечного света. Готовый экстракт фильтровали и хранили при температуре 4 °С.

Крысам экспериментальных групп вводили ТХМ в виде 50 % раствора на оливковом масле в дозе 2 мл/кг подкожно в 1-е и 3-и сутки эксперимента. На 4-е сутки эксперимента проводилось общее однократное облучение животных в дозе 3Гр на гамма-установке «ИГУР» (^{137}Cs , 0,62Гр/мин.). Были сформированы следующие группы животных: 1) «Контроль» – животные, получавшие инъекции растворителя (оливковое масло); 2) «ТХМ + облучение 3 Гр» – животные, получавшие инъекции тетрахлорметана с последующим облучением; 3) «ТХМ + 3Гр + Хофитол» – животные, получавшие инъекции ТХМ с облучением и с последующим введением препарата сравнения Хофитол (Chophytol, Laboratoires Rosa-Phytopharma, Франция) в виде спиртового раствора в суточной дозе 1,5 мл/кг; 4) «ТХМ + 3 Гр + Экстракт Д1»; 5) «ТХМ + 3 Гр + Экстракт Д2» и 6) «ТХМ + 3 Гр + Экстракт Д3» – животные, которые после соответствующих воздействий получали водно-этанольный экстракт *H. erinaceus* в дозах 0,5, 1,5 и 4,5 мл/кг соответственно.

Препарат сравнения и исследуемые экстракты вводились ежедневно в течение месяца до вывода животных из эксперимента путем свободного выпаивания, проводился ежедневный контроль потребляемой воды каждой группой животных, на основании которого рассчитывалась доза на группу.

Наблюдение за клиническим состоянием животных вели на протяжении всего экспериментального периода, еженедельно определяли динамику массы тела. Животных выводили из эксперимента на 30-е сутки после облучения путем декапитации на фоне глубокого эфирного наркоза. Проводили забор крови, вскрытие, выделение и взвешивание печени и селезенки. В сыворотке крови определяли активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), концентрацию общего белка и альбумина и липидов, общепринятыми методами.

Мазки крови изготавливали сразу при взятии материала, после фиксации окрашивали по методу Романовского – Гимзы. Лейкоциты подсчитывали в камере Горяева. Относительное содержание лейкоцитов определяли путем цитологического исследования мазков крови.

Из кусочков печени, сразу после некропсии, проводили выделение гепатоцитов путем ферментативной диссоциации. Определение уровня запрограммированной гибели клеток печени проводили методом проточной цитометрии (цитофлюориметр Cytomics FC 500, Beckman Coulter, США) при длине волны 488 нм, используя Annexin-V/PI-тест, как было описано [10]

При некропсии кусочки печени фиксировали в 10 % формалине. Для гистологического анализа фиксированный материал проводили по стандартному протоколу и заливали в парафин. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятой методике и изучали под световым микроскопом.

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики с использованием параметрических (Стьюдента) и непараметрических (Манна–Уитни) критериев при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Введение крысам ТХМ и последующее облучение вызывали интоксикацию организма животных, которая проявлялась снижением двигательной активности и незначительным снижением прироста массы тела на 7-е сутки после облучения. Далее в течение всего эксперимента отмечалась положительная динамика в массы тела во всех группах животных (табл. 1).

Таблица 1

Изменение прироста массы тела крыс линии Wistar в контрольных группах, после химически-радиационного воздействия и в группах, получавших водно-спиртовые экстракты *H. erinaceus* и препарат сравнения

Table 1

Changes in the body weight gain of Wistar rats in the control groups, after chemical-radiation exposure and in the groups receiving aqueous-alcoholic extracts of *H. erinaceus* and the reference drug, %

Наименование группы	Сутки от начала эксперимента			
	7	14	21	30
Контроль	3,97±2,45	9,93±4,29	15,91±3,71	19,93±5,47
ТХМ + 3 Гр	2,047±0,94	8,62±2,21	11,74±4,76	16,40±3,62
ТХМ+3Гр+Хофитол 1,5мл/кг	3,30±1,36	10,56±2,23	14,39±4,05	18,96±4,84
ТХМ+3Гр+экстракт 0,5мл/кг	3,22±1,33	9,44±4,09	12,92±5,25	17,70±4,73
ТХМ+3Гр+экстракт 1,5 мл/кг	4,81±3,54	10,92±3,45	15,85±6,20	20,97±5,49
ТХМ+3Гр+экстракт 4,5 мл/кг	3,67±1,87	8,88±2,20	13,58±3,63	19,08±5,17

При некропсии животных на 30-е сутки после введения ТХМ и облучения макроскопические изменения в печени животных с химически-радиационным поражением без коррекции были слабо выражены, печень выделялась несколько более светлой окраской и более рыхлой структурой, но значимо отличалась относительная масса печени у животных этой группы по сравнению с контролем (табл. 2).

В группах крыс, получавших водно-спиртовые экстракты плодовых тел гриба *H. erinaceus* в дозе 4,5 мл/кг и препарат сравнения, изменений макроскопической структуры не отмечено, а значения относительной массы были снижены по сравнению с группой «Контроль ТХМ+3Гр».

В группах животных после химически-радиационного воздействия на 30-е сутки отмечалось повышение индекса массы селезенки, тогда как при введении исследуемого экстракта гриба и препарата «Хофитол» данный показатель снижался до контрольного уровня.

Таблица 2

Относительная масса печени и селезенки крыс линии Wistar в контрольных группах, после химически-радиационного воздействия и в группах, получавших водно-спиртовой экстракт *H. erinaceus* и препарат сравнения, %.

Table 2

The relative weight of the liver and spleen of Wistar rats in the control groups, after chemical-radiation exposure and in the groups that received the aqueous-alcoholic extract of *H. erinaceus* and the reference drug, %.

Наименование группы животных	Относительная масса органов	
	Печень	Селезенка
Контроль	2,84±0,24	0,18±0,04
ТХМ+3Гр	3,37±0,22*	0,23±0,12*
ТХМ+3Гр+Хофитол 1,5мл/кг	2,85±0,16^	0,18±0,03^
ТХМ+3Гр+экстракт 0,5мл/кг	2,99±0,28	0,19±0,03^
ТХМ+3Гр+экстракт 1,5 мл/кг	2,87±0,15^	0,19±0,01^
ТХМ+3Гр+экстракт 4,5 мл/кг	2,79±0,07^	0,17±0,01^

* – различия статистически значимы при $p < 0,05$ по сравнению со значением в группе «Контроль»;

^ – различия статистически значимы при $p < 0,05$ по сравнению с значением в группе «ТХМ + 3 Гр».

В качестве биохимических маркеров поражения печени использовали значения активности печеночных ферментов аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови экспериментальных животных.

В сыворотке крови животных, которым был введен тетрахлорметан с последующим облучением в дозе 3 Гр через 30 суток, уровень активности АлАТ и АсАТ был повышен по сравнению с контрольной группой. В группе с радиационно-токсическим повреждением данные показатели составили 121,6±12,5 Ед/л АсАТ и 97,2±17,8 Ед/л АлАТ при контрольных уровнях 83,9±11,51 Ед/л и 65,4±7,19 Ед/л соответственно. Также в сыворотке крови животных группы без лечения была повышена активность ЩФ – 322,7±81,76 Ед/л по сравнению с контрольной группой – 247,3±56,7 Ед/л.

При введении крысам экстракта *H. erinaceus* статистически значимое снижение ферментативной активности АлАТ и АсАТ наблюдалось в группах животных, получавших экстракт дозах 1,5 и 4,5 мл/кг и препарат сравнения (табл. 3).

Таблица 3

Показатели ферментативной активности в сыворотке крови крыс линии Wistar в контрольных группах, после химически-радиационного воздействия и в группах, получавших водно-спиртовой экстракт *H. erinaceus* и препарат сравнения

Table 3

Indices of enzymatic activity in the blood serum of Wistar rats in the control groups, after chemical-radiation exposure and in the groups receiving the aqueous-alcoholic extract of *H. erinaceus* and the reference drug

Наименование группы, пол животных	ЩФ, Ед/л	АсАТ, Ед/л	АлАТ, Ед/л
Контроль	247,3±56,7	83,9±11,51	65,4±7,19
ТХМ+3Гр	322,7±81,76*	121,6±12,5*	97,2±17,8*
ТХМ+3Гр+Хофитол 1,5мл/кг	255,4±52,84^	89,4±16,41	67,3±6,24^
ТХМ+3Гр+экстракт 0,5мл/кг	309,2±103,14	104,4±14,17	79,5±7,48
ТХМ+3Гр+экстракт 1,5 мл/кг	307,6±97,5	87,3±8,02^	71,4±5,56^
ТХМ+3Гр+экстракт 4,5 мл/кг	264,1±74,8^	86,5±8,62^	70,7±8,81^

* - различия статистически значимы при $p < 0,05$ по сравнению со значением в группе «Контроль»;

^ - различия статистически значимы при $p < 0,05$ по сравнению с значением в группе «ТХМ + 3 Гр».

Уровень активности щелочной фосфатазы значимо снижался в сыворотке крови животных, получавших препарат сравнения и исследуемый экстракт в дозе 4,5 мл/кг и препарат сравнения Хофитол в дозе 1,5 мл/кг.

На 30-е сутки после радиационно-химического повреждения не отмечено значимых отклонений от контрольных уровней показателей белкового и жирового обмена в сыворотке крови животных, получавших исследуемый экстракт и препарат сравнения и животных группы негативного контроля.

Количество лейкоцитов на 30-е сутки после воздействия ТХМ и облучения в дозе 3,0 Гр было снижено на 25,4 % по сравнению с уровнем контроля ($p < 0,05$), аналогичная реакция наблюдалась и в группе, которая принимала препарат сравнения – «Хофитол» (табл. 4).

Таблица 4

Влияние водно-спиртового экстракта *Hericium erinaceus* на изменения содержания лейкоцитов в крови и лейкоцитарной формулы крыс с токсическим гепатитом, подвергнутых острому облучению в дозе 3,0 Гр

Table 4

The effect of the aqueous-alcoholic extract of *Hericium erinaceus* on changes in the content of leukocytes in the blood and the leukocyte formula of rats with toxic hepatitis exposed to acute irradiation at a dose of 3.0 Gy

Эксперимент. группа	Количество клеток $\times 10^3/\text{мкл}$	Пал. %	Сегм. %	Эоз. %	Лимф. %	Мон. %
Контроль	6,7 \pm 0,8	3,8 \pm 1,1	35,8 \pm 12,3	5,0 \pm 1,6	52,0 \pm 10,9	3,4 \pm 1,9
ТХМ+3Гр	5,0 \pm 0,8*	2,2 \pm 0,4*	20,4 \pm 8,4	4,0 \pm 1,2	69,2 \pm 6,1*	4,6 \pm 2,1
ТХМ+3Гр+Хофитол 1,5мл/кг	5,0 \pm 0,8*	2,8 \pm 0,4	22,4 \pm 5,5	3,0 \pm 1,9	68,0 \pm 6,9*	3,8 \pm 1,9
ТХМ+3Гр+экстракт 0,5мл/кг	8,2 \pm 1,9^	2,2 \pm 1,1*	21,6 \pm 1,3	3,8 \pm 1,5	69,4 \pm 1,1*	3,2 \pm 1,5
ТХМ+3Гр+экстракт 1,5 мл/кг	7,3 \pm 1,8^	2,0 \pm 0,7*	25,8 \pm 4,1^	4,0 \pm 0,7	65,2 \pm 2,8*	3,0 \pm 1,4
ТХМ+3Гр+экстракт 4,5 мл/кг	5,9 \pm 0,8	2,0 \pm 0,7*	27,8 \pm 4,5^	4,2 \pm 2,2	66,7 \pm 7,4*	3,3 \pm 2,2

* – различия статистически значимы при $p < 0,05$ по сравнению со значением в группе «Контроль»;

^ – различия статистически значимы при $p < 0,05$ по сравнению с значением в группе «ТХМ + 3 Гр».

На фоне введения водно-спиртового экстракта *H. erinaceus* количество лейкоцитов в крови крыс восстанавливалось по сравнению с уровнем контроля, а в группах крыс, получавших исследуемый экстракт в дозах 0,5 мл/кг и 1,5 мл/кг, превышало количество лейкоцитов в крови у крыс группы «ТХМ + 3,0 Гр» на 64,0 и на 46 % соответственно. Наблюдаемый рост количества лейкоцитов в крови может свидетельствовать об активации лейкоцитоза в данных группах животных.

После радиационно-химического воздействия на 30-е сутки качественный состав лейкоцитарной формулы крови крыс отличался от уровня интактного контроля. В частности, отмечалась тенденция к повышению процентного содержания лимфоцитов и снижению содержания сегментоядерных нейтрофилов. После приема водно-этанольных экстрактов гриба процентное содержание лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов имело тенденцию к восстановлению.

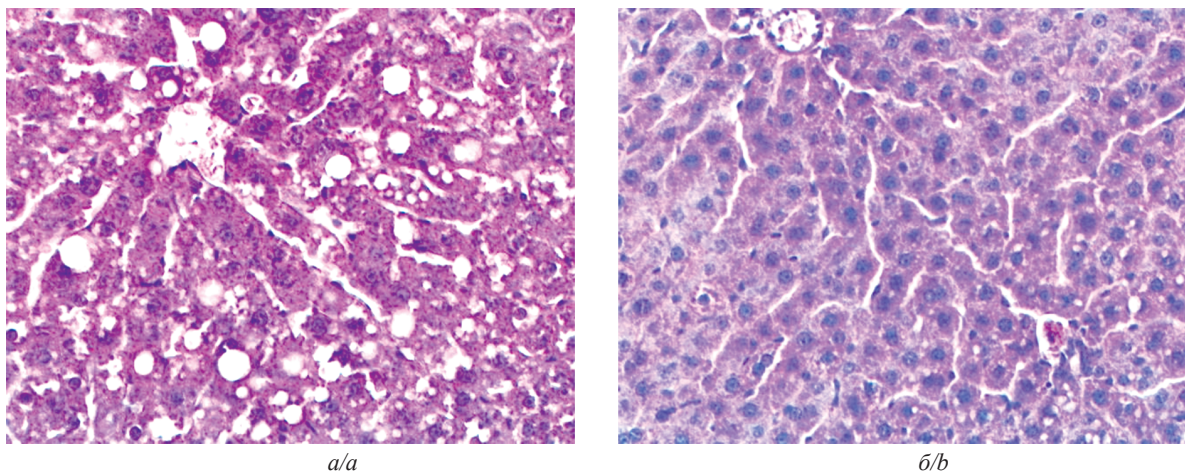


Рис. 1. Микроскопическая картина печени крыс Wistar. Окраска: гематоксилин-эозин:
а – на 14-е сутки после введения тетрахлорметана и облучения в дозе 3 Гр, увеличение $\times 400$;
б – на 30-е сутки после введения тетрахлорметана и облучения в дозе 3 Гр, увеличение $\times 600$.

Fig. 1. Microscopic picture of the liver of Wistar rats. Coloring: hematoxylin-eosin:
a – on the 14th day after the introduction of carbon tetrachloride and irradiation at a dose of 3 Gy, magnification $\times 400$;
b – on the 30th day after the introduction of carbon tetrachloride and irradiation at a dose of 3 Gy, magnification $\times 600$.

При гистологическом исследовании в микропрепаратах печени крыс на 14-е сутки после химически-радиационного воздействия отмечались множественные проявления нарушения структуры ткани печени – отдельные участки нарушения балочного строения в перипортальных зонах печеночных долек, жировая дистрофия гепатоцитов, полнокровие центральных вен и синусоидных гемокапилляров (рис. 1а).

На 30-е сутки после токсического воздействия и облучения в ткани печени крыс уменьшалась жировая дистрофия, которая определялась в гепатоцитах, расположенных только по периферии долек. В гепатоцитах, расположенных центральнобулярно и в промежуточной зоне определялась слабовыраженная гидропическая дистрофия. В перипортальных зонах отдельных печеночных долек определялись участки нарушения балочного строения (рис. 1б).

В группах животных, получавших водно-спиртовой экстракт плодовых тел *H. erinaceus*, после токсического воздействия и облучения на 30-е сутки отмечено значительное дозозависимое снижение выраженности структурных нарушений ткани печени. Нормальное балочное строение печени полностью восстанавливалось. Жировая дистрофия гепатоцитов практически не определялась, в отдельных гепатоцитах сохранялась слабовыраженная гидропическая дистрофия (рис. 2).

При исследовании влияния водно-спиртового экстракта культивируемых грибов *H. erinaceus* на уровень клеточной гибели гепатоцитов лабораторных крыс показано, что на 30-е сутки после введения ТХМ и дополнительного облучения в печени животных сохранялся повышенный уровень апоптоза клеток печени, до $5,62 \pm 0,23$ % на стадии раннего апоптоза и до $2,44 \pm 0,38$ % на стадии позднего апоптоза, от $3,34 \pm 0,87$ и $1,48 \pm 0,19$ % соответственно в контроле. При этом уровень клеток печени в состоянии некроза значительно не увеличивался на данном сроке наблюдения.

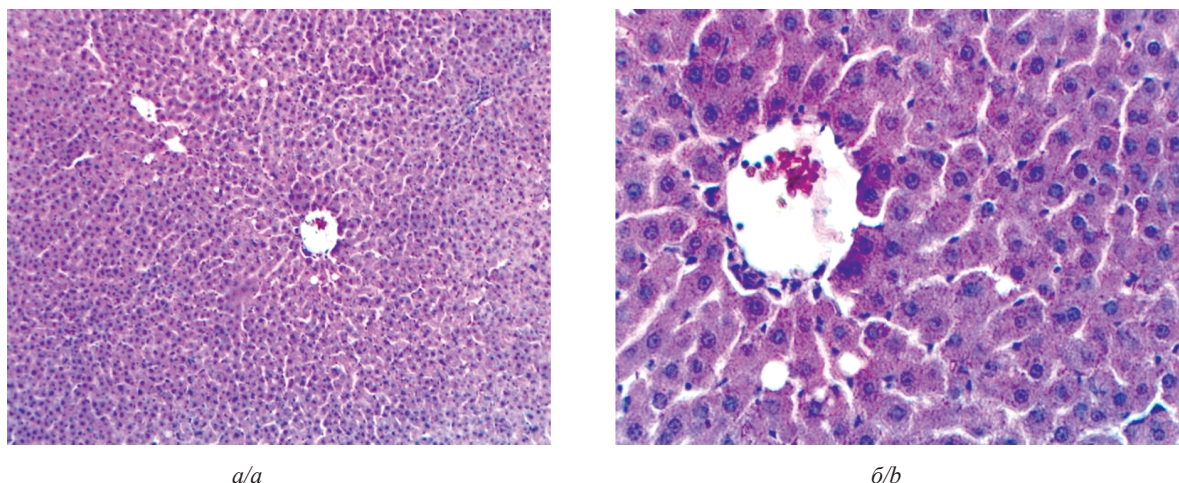


Рис. 2. Микроскопическая картина печени крыс Wistar, получавших в течение 30-ти суток водно-спиртовой экстракт и *H. erinaceus* в дозе 4,5 мл/кг, после введения тетрахлорметана и облучения в дозе 3 Гр. Окраска: гематоксилин-эозин: а – увеличение $\times 100$; б – увеличение $\times 600$.

Fig. 2. Microscopic picture of the liver of Wistar rats treated with aqueous-alcoholic extract and *H. erinaceus* at a dose of 4.5 ml / kg for 30 days after administration of carbon tetrachloride and irradiation at a dose of 3 Gy. Color: hematoxylin-eosin: a – magnification $\times 100$; b – magnification $\times 600$.

В группах животных, получавших водно-спиртовой экстракт *H. erinaceus* после химически-радиационного воздействия значимое снижение клеточной гибели гепатоцитов отмечено в дозах 1,5 и 4,5 мл/кг (рис. 3). При этом снижалось количество клеток как на стадии раннего, так и на стадии позднего апоптоза.

Модель острого токсического поражения печени, индуцированного ТХМ, приводит к нарушению многих функций печени: синтетической, детоксикационной, нарушению прооксидантно-антиоксидантного равновесия [11; 12].

Механизмы гепатотоксичности галогенизированных углеводородов, в том числе и ТХМ, связывают с мембраноповреждающим эффектом, который приводит к расстройству функционирования каскада митохондриальных и микросомальных ферментов, участвующих в поддержании гомеостаза клетки, ее репарации и элиминации ксенобиотиков или их метаболитов [12].

Печень, которая в покое обладает небольшой пролиферативной активностью, традиционно относится к радиорезистентным органам, однако многочисленные исследования с использованием различных видов ионизирующих излучений в широком диапазоне доз показали не только чувствительность печени к лучевому воздействию, но и значительные нарушения регенерационных процессов при радиационном воздействии [13; 14].

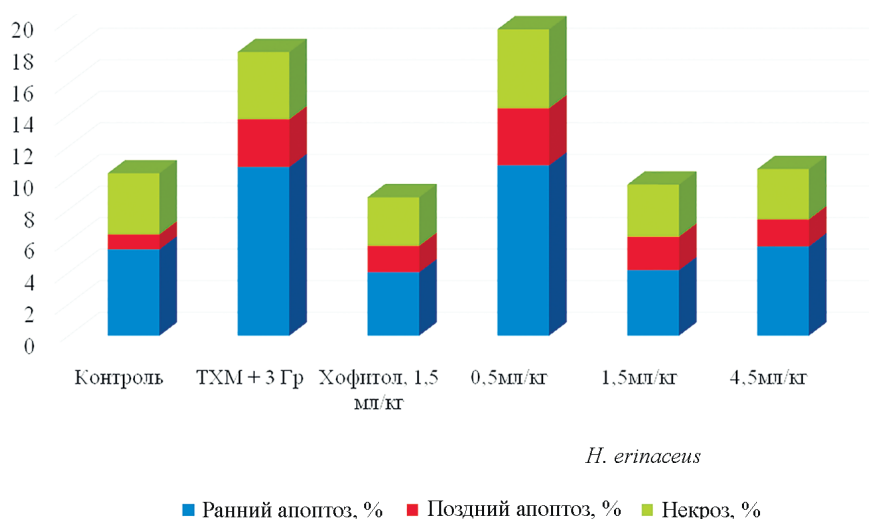


Рис. 3. Изменение показателей клеточной гибели в печени крыс линии Wistar, получавших водно-спиртовой экстракт *H. erinaceus*, после химически-радиационного воздействия

Fig. 3. Changes in the indicators of cell death in the liver of Wistar rats treated with an aqueous-alcoholic extract of *H. erinaceus* after chemical-radiation exposure

В данном эксперименте было показано, что на 30-е сутки после сочетанного химического (ТХМ) и радиационного (общее облучение в дозе 3Гр) воздействия сохраняются негативные изменения в печени крыс и повышенный уровень биохимических маркеров поражения печени. Это может свидетельствовать об увеличении восстановительного периода после токсического поражения печени крыс вследствие дополнительного острого облучения животных.

H. erinaceus известен как съедобный лекарственный гриб как потенциальный источник различных биологически-активных веществ. В связи с ухудшающейся экологической обстановкой все чаще в пищевых целях и как сырье для получения биологически-активных препаратов используются культивируемые (выращенные в искусственной среде) плодовые тела грибов.

Изучение влияния водно-спиртового экстракта культивируемых плодовых тел *H. erinaceus* на восстановление организма лабораторных крыс после химически-радиационного воздействия показало, что у животных, получавших исследуемый экстракт, улучшается общее состояние, восстанавливается прирост массы тела и показатели относительной массы печени и селезенки. Введение данного экстракта способствует количественному и процентному содержанию лейкоцитов в периферической крови.

Установлено, что уже в первые часы после введения ТХМ на начальных этапах гепатотоксичности происходит резкое нарастание активности ферментов АлАТ и АсАТ [15]. Повышение активности в крови этих ферментов, специфичных для гепатоцитов, рассматривается как проявление цитолитического синдрома. Введение крысам исследуемого экстракта вызывало снижение активности ферментов АлАТ и АсАТ в сыворотке крови.

Введение водно-спиртового экстракта плодовых тел *H. erinaceus* в дозах 0,5, 1,5 и 4,5 мл/кг после подкожного введения 50 % масляного раствора тетрахлорметана и облучения в дозе 3 Гр способствует восстановлению гистологического строения печени крыс, которое характеризуется снижением выраженности жировой и гидропической дистрофии гепатоцитов и восстановлением структуры долек печени, способствует усилению регенерационного потенциала гепатоцитов и снижению уровня апоптоза в клетках печени экспериментальных животных.

Заключение

Результаты исследования свидетельствуют, что внутрижелудочное введение водно-спиртовых экстрактов плодовых тел *H. erinaceus* в дозах 1,5 и 4,5 мл/кг в течение 30 суток после подкожного введения 50% масляного раствора тетрахлорметана и облучения в дозе 3 Гр снижает уровень трансаминаз в сыворотке крови лабораторных животных. Кроме того, определяется снижение уровня апоптоза в клетках печени экспериментальных животных. При этом гистологически происходит усиление восстановления нормальной структуры печени. Полученные результаты свидетельствуют об гепатопротекторной активности исследуемого экстракта и перспективности дальнейших научных исследований.

Библиографические ссылки

1. Pingili RB, Pawar AK, Challa SR, Kodali T, Koppula S, Toleti V. A comprehensive review on hepatoprotective and nephroprotective activities of chrysin against various drugs and toxic agents. *Chemico-biological interactions*. 2019;308:51–60. DOI:10.1016/j.cbi.2019.05.010.

2. Антоненко ОМ. Токсические поражения печени: пути фармакологической коррекции. *Медицинский совет*. 2013;6:4551. DOI: org/10.21518/2079-701X-2013-6-45-51.
3. Мубаракшина ОА. Гепатопротекторы: сравнительная характеристика и аспекты клинического использования. *Медицинский вестник*. 2008;34:51–55.
4. Бибик ЕЮ, Шипилова НВ, Кривоколыско БС, Семенидо ЕА, Бурдейная АА. Особенности фармакологических свойств современных гепатопротекторов. *Морфологический альманах имени В. Г. Ковешникова*. 2019;17(4):101–110.
5. Thekkuttuparambil AA, Janardhanan KK. Indian Medicinal Mushrooms as a Source of Antioxidant and Antitumor Agents. *Journal clinical biochemistry nutrition*. 2007;40(3):157–162. DOI: 10.3164/jcbn.40.157.
6. Альмяшева НР, Ярина МС, Гольшшин АВ, Джавахян БР, Краснопольская ЛМ. Антиоксидантные свойства водорастворимых полисахаридов и этанольных экстрактов мицелия ксилотрофных базидиальных грибов. *Антибиотики и химиотерапия*. 2017;62(7–8):8–12.
7. Thongbai B, Rapior S, Hyde KD, Wittstein K, Stadler M. *Herichium erinaceus*, an amazing medicinal mushroom. *Mycological Progress*. 2015;14:1–23. DOI: 10.1007/s11557-015-1105-4.
8. He X, Wang X, Fang J, Chang Y, Ning N, Guo H, Huang L, Huang X, Zhao Z. Structures, biological activities, and industrial applications of the polysaccharides from *Herichium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom: A review. *International journal of biological macromolecules*. 2017;97:228–237. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.01.040.
9. European Union. 2010. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010; L276/33.
10. Lee JI, Lee KS, Paik YH, Nyun Park Y, Han KH, Chon CY, Moon YM. Apoptosis of hepatic stellate cells in carbon tetrachloride induced acute liver injury of the rat: analysis of isolated hepatic stellate cells. *Journal of Hepatology*. 2003;39(6):960–966. DOI:10.1016/s0168-8278(03)00411-2.
11. Кантюков СА, Кривохижина ЛВ, Фархутдинов РР. Состояние процессов свободнорадикального окисления при остром поражении печени. *Вестник Южно-Уральского государственного университета*. 2011;39:107–112.
12. Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical Reviews in Toxicology*. 2003;33:105–136. DOI:10.1080/713611034.
13. Kim J, Jung Y. Radiation-induced liver disease: current understanding and future perspectives. *Experimental & Molecular Medicine*. 2017;49(7):e359. DOI: 10.1038/emm.2017.85.
14. Гурьев ДВ. Особенности регенерации печени крыс Wistar при радиационном воздействии. *Вестник Института биологии КНЦ УрО РАН*. 2002;53:11–13.
15. Заводник ИБ. Дисфункция митохондрий и компенсаторные механизмы в клетках печени при острой интоксикации крыс тетрахлометаном. *Биомедицинская химия*. 2015;61(6):731–736. DOI: 10.18097/PBMC20156106731.

References

1. Pingili RB, Pawar AK, Challa SR, Kodali T, Koppula S, Toleti V. A comprehensive review on hepatoprotective and nephroprotective activities of chrysin against various drugs and toxic agents. *Chemico-biological interactions*. 2019;308:51–60. DOI: 10.1016/j.cbi.2019.05.010.
2. Antonenko OM. Hepatotoxicity: options for pharmacological correction. *Meditsinskiy sovet* [Medical Council]. 2013;6:45–51. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2013-6-45-51>. Russian.
3. Mubarakshina OA. Hepatoprotectors: comparative characteristics and aspects of clinical use. *Meditsinskiy vestnik* [Medical Bulletin]. 2008;34:51–55. Russian.
4. Bibik EYu, Shipilova NV, Krivokolysko BS, Semeniido EA, Burdeynaya AA. Features of the pharmacological properties of modern hepatoprotectors. *Morfologicheskii almanakh imeni V. G. Koveshnikova* [Morphological almanac named after V. G. Koveshnikov]. 2019;17(4):101–110. Russian.
5. Thekkuttuparambil AA, Janardhanan KK. Indian Medicinal Mushrooms as a Source of Antioxidant and Antitumor Agents. *Journal clinical biochemistry nutrition*. 2007;40(3):157–162. DOI:10.3164/jcbn.40.157.
6. Almyasheva NR, Yarina MS, Golyshkin AV, Dzhavakhyan BR, Krasnopol'skaya LM. Antioxidant Properties of Water-Soluble Polysaccharides and Ethanolic Extracts of Xylotrophic Basidiomycetes Mycelium. *Antibiotiki i khimioterapiya* [Antibiotics and Chemotherapy]. 2017;62(7–8):8–12. Russian.
7. Thongbai B, Rapior S, Hyde KD, Wittstein K, Stadler M. *Herichium erinaceus*, an amazing medicinal mushroom. *Mycological Progress*. 2015;14:1–23. DOI: 10.1007/s11557-015-1105-4.
8. He X, Wang X, Fang J, Chang Y, Ning N, Guo H, Huang L, Huang X, Zhao Z. Structures, biological activities, and industrial applications of the polysaccharides from *Herichium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom: A review. *International journal of biological macromolecules*. 2017;97:228–237. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2017.01.040.
9. European Union. 2010. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010; L276/33.
10. Lee JI, Lee KS, Paik YH, Nyun Park Y, Han KH, Chon CY, Moon YM. Apoptosis of hepatic stellate cells in carbon tetrachloride induced acute liver injury of the rat: analysis of isolated hepatic stellate cells. *Journal of Hepatology*. 2003;39(6):960–966. DOI: 10.1016/s0168-8278(03)00411-2.
11. Kanyukov SA, Krivokhizhina LV, Farkhutdinov RR. The state of processes of free radical oxidation in acute liver damage. *Vestnik Yuzhno-Uralskogo gosudarstvennogo universiteta* [Bulletin of the South Ural State University]. 2011;39:107–112. Russian.
12. Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Critical Reviews in Toxicology*. 2003;33:105–136. DOI:10.1080/713611034.
13. Kim J, Jung Y. Radiation-induced liver disease: current understanding and future perspectives. *Experimental & Molecular Medicine*. 2017;49(7):e359. DOI: 10.1038/emm.2017.85.
14. Guryev DV. Peculiarities of liver regeneration in Wistar rats under radiation exposure. *Vestnik Instituta biologii KSC UB RAS*. 2002;53:11–13. Russian.
15. Zavadnik IB. Mitochondrial dysfunction and compensatory mechanisms in liver cells during acute carbon tetrachloride-induced rat intoxication. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2015;61(6):731–736. DOI: 10.18097/PBMC20156106731. Russian.