

## МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНАХ У МЫШЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ МИЛДРОНАТА

Вишняков А.В.<sup>1</sup>, Горелов Е.Н.<sup>1</sup>, Валов С.Л.<sup>1</sup>, Саляхутдинов Р.Р.<sup>1</sup>,  
Чонтян Д.А.<sup>1</sup>, Окулова И.И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кировский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Киров

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт охотничьего хозяйства и звероводства имени профессора Б.М. Житкова" г. Киров

**Ключевые слова:** нефроны, почечные клубочки, печень, гепатоциты.

**Резюме:** в работе рассмотрены изменения морфометрических показателей почек и печени мышей под влиянием милдроната. Показано, что милдронат не оказывает патологического влияния на исследуемые показатели. Было отмечено, что препарат улучшает метаболизм тканей и способствует выведению накопленных токсинов из клеток, оказывает тонизирующее влияние и защищает клетки от повреждения.

**Resume:** the research considers changes in the morphometric parameters of the kidneys and liver in mice under the influence of mildronate. Mildronate was shown to have no pathological effect on the studied parameters. It was noted that the drug improves tissue metabolism and helps to remove accumulated toxins from cells, has a tonic effect and protects cells from damage.

**Актуальность.** Милдронат – синтетический препарат, улучшающий энергообеспечение и метаболизм тканей. Действующее вещество милдроната улучшает метаболизм, способствует выведению накопленных токсинов из клеток, оказывает тонизирующее влияние и защищает клетки от повреждения. Систематическое название 2- (2-карбоксилатоэтил) -1,1,1-триметилгидразини [7].

В результате применения милдроната возрастает способность выдерживать нагрузки и быстро восстанавливаться после них. Благодаря этим свойствам препарат применяют для улучшения кровоснабжения мозга и лечения различных нарушений деятельности сердечно-сосудистой системы, а также повышения работоспособности. Действие препарата основано на угнетении деятельности некоторых ферментов, в результате которого, доставка длинноцепочечных жирных кислот через мембраны клеток приостанавливается, тем самым предотвращается накопление токсических производных, не окисленных жирных кислот в клетках. Большие физические нагрузки требуют значительных энергетических затрат, при которых в клетках здорового организма снижается содержание жирных кислот. При уменьшении нагрузок жирные кислоты в клетках снова накапливаются. При использовании милдроната клетки тренируются, приспособляются к процессу и становятся жизнеспособными, в отличие от нетренированных клеток, которые погибают от недостатка кислорода, например, при ишемической болезни сердца [4]. Милдронат обладает кардиопротективным, антиангинальным, антигипоксическим действием. Также препарат эффективен при значительных физических нагрузках, повышает работоспособность. Милдронат является одним из представителей группы препаратов для улучшения

обмена веществ и энергоснабжения тканей [1, 3]. Препарат обладает антигипоксическим действием, способствует вазодилатации, утилизации продуктов неполного метаболизма глюкозы и т.д. [7,8,9].

Согласно публикации в журнале DrugTestingandAnalysis за декабрь 2015 года, по данным ряда исследований мельдоний при приёме во время периода тренировок повышает результаты атлетов, выносливость, улучшает восстановление после выступления, защищает от стресса и активизирует функции центральной нервной системы. В результате мельдоний добавлен в класс S4 (Гормоны и модуляторы метаболизма). Изобретатель препарата, латвийский биохимик ИварсКалвиньш, выразил своё недоумение и несогласие по этому поводу, назвав происходящее абсурдом и заявив, что, с его точки зрения, рассматривать мельдоний как допинг неправомерно, назвал включение препарата в список допингов глупостью, вероятно, мотивированной политически или коммерчески. По мнению разработчика мельдония, запрет его употребления неминуемо приведёт к увеличению смертности среди спортсменов [1,2]. В литературных источниках мы не нашли данных изучения влияния милдроната на морфологические и морфометрические показатели в почках и печени, поэтому наша работа является актуальной.

**Цель:** провести морфометрические исследования почек и печени у белых беспородных мышей под влиянием милдроната.

**Задачи:** 1. Провести морфометрический анализ почек и печени у мышей под влиянием милдроната. 2. Сравнить морфометрические показатели почек и печени контрольной и опытной групп.

**Материалы и методы.** В работе использовали милдронат, который выпускается известной Прибалтийской фармацевтической фирмой АО «Гриндекс». Он может быть в капсулах или в виде сиропа для приема внутрь и в растворе для инъекций. Для проведения эксперимента использовали белых беспородных мышей, самки весом около 16 граммов. Для изучения влияния милдроната на органы, были сформированы группы: контрольная и опытная по 10 мышей в каждой группе. Мышам опытной группы дополнительно в рацион добавляли милдронат из расчета 0.0078 мг., на грамм веса мышки в день с H<sup>2</sup>O в течении 3-месяцев, с перерывом 7 дней. Мыши контрольной группы препарат не получали. Корм для мышей был «Вака» и гранулированный. Для гистологических исследований после убоя были взяты кусочки почек и почек от 10 мышей опытной и 10 - мышей контрольной групп, которые фиксировали в 10% нейтральном формалине. Изготовление парафиновых гистологических срезов толщиной 5-7 мкм проводили на санном микротоме МС-2 по Меркулову Г.А. [5]. Срезы окрашивали гематоксилином Майера и эозином. Была проведена морфометрия почечных телец и сосудистых клубочков в 3 слоях: суперфициальной, кортикальной и медуллярной зонах, площадь мочевого пространства в каждой из названных зон, как в контрольной так и в опытной группах. В каждой зоне измеряли по 10 клубочков (всего проведено 180 измерений). На основе полученных данных вычислялась площадь мочевого пространства. Проводили морфометрию площади и периметра центральных и поддольковых вен, площадь гепатоцита и диаметр его ядра, площадь и периметр синусоидного пространства. Рассчитывалось среднее арифметическое значение (М): площади и периметра центральных и поддольковых вен, площадь гепатоцита и диаметр его ядра, площадь и периметр синусоидного пространства.

соидного пространства. Статистический анализ полученных цифровых данных проводился с помощью программы MicrosoftOfficeExcel. Рассчитывалось среднее арифметическое значение (M): площади почечных телец, клубочков в них и площади мочевого пространства. Для всех средних рассчитывались сигмальное отклонение ( $\sigma$ ) и стандартная ошибка среднего значения (m). Затем, с помощью полученных данных о средних показателях всех измерений, а также критерия Стьюдента, вычислялась значимость различий между контрольной и опытной группой при  $p=0.05$  и  $p=0.01$  путем сравнения значения критерия, полученного в ходе эксперимента (t-эмпирическое), с табличным значением (t-критическое). t-критерий Стьюдента направлен на оценку различий величин средних значений двух выборок, которые распределены по нормальному закону. Фотографии и морфометрические измерения сделаны с использованием системы VisionBio (Epi 2014г.) с автоматической обработкой сигнала и выводением на дисплей.

Эксперименты на животных проводили в соответствии с основами опытного дела в животноводстве, методическими указаниями по постановке научно-хозяйственных опытов по кормлению на пушных зверях. Работа выполнена с соблюдением международных принципов Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным, принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского сообщества (86/609/ЕС), «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных»[6].

**Результаты и их обсуждение.** При вскрытии у животных обеих групп выявлено, что печень и почки темно-бардового цвета, на разрезе без видимых изменений, капсула снимается легко.

При проведении морфометрических измерений почек, были получены следующие результаты: В опытной группе мышей, получавшие милдронат в дозе 0.0078 мг., на 1 грамм веса мышки в течение трех месяцев с перерывом 7 дней, средняя площадь почечных телец в суперцифальной зоне по сравнению с контрольной группой была выше на 15, 8 %, сосудистого клубочка – на 3,9%, мочевого пространства - на 29,2 % ( $p \leq 0.01$ ). В кортикальной зоне площадь почечного тельца в опытной группе достоверно больше на 21%, сосудистого клубочка – на 8,6%, мочевого пространства –на 40% по сравнению с контролем ( $p \leq 0.01$ ). В медуллярной зоне площадь почечного клубочка в опытной группе мышей была на 18%, сосудистого клубочка –на 2,5 % и мочевого пространства – на 49% ( $p \leq 0.01$ ) по сравнению с контролем.(таблица.1).

**Табл.1-**Морфометрические показатели в почках у белых мышей опытной и контрольной групп под действием милдроната

Нефроны	Почечное тельце, мкм <sup>2</sup>	Сосудистый клубочек, мкм <sup>2</sup>	Мочевое пространство, мкм <sup>2</sup>
Суперфициальная зона опыт (10)	3139,48±156,97	1618,1±80.91	1521,38±76.07
контроль(10)	2733,87±136,69	1556,38±77,82	1177,49±58,87
Тэмп	1,6	0,4	2,2
Т крит	2,10* 2,88**	2,10* 2,88**	2,10* 2,88**
Вывод	Незначительно	Незначительно	Незначительно
Кортикальная зо-	3168,32±158.42	1728,86±86.44	1439,45±71.97

на опыт (10)			
контроль (10)	2616,16±130,81	1591,87±79,59	1024,29±51,21
Тэмп	3	1,1	3,3
Т крит	2,10* 2,88**	2,10* 2,88**	2,10* 2,88**
Вывод	Значительно	Незначительно	Значительно
Медуллярная зона опыт (10)	2775,21±138.76	1571,27±78.56	1203,94±60.2
контроль (10)	2340,15±117,01	1532,72±76,64	807,44±40,37
Тэмп	1	0,1	1,9
Т крит	2,10* 2,88**	2,10* 2,88**	2,10* 2,88**
Вывод	Незначительно	Незначительно	Незначительно

Примечание :\*-  $p \leq 0.05$  \*\* -  $p \leq 0.01$

При морфометрическом исследовании печени, нами было установлено, что площадь поддольковой вены в опытной группе была достоверно увеличена на 44% по сравнению с контролем, а площадь центральной вены уменьшена на 34%, площадь синусоидного пространства уменьшена в 2,4 раза. Соотношение площади поддольковой вены к центральной в экспериментальной группе составляет 19,95 против 6,23 (в контроле), в опытной группе соотношение в 1,5 раза больше, чем в контроле, что свидетельствует об улучшении микроциркуляции в тканях печени. Возможно это связано с повышением содержания гамма-бутиробетаина, который обладает вазодилатирующими свойствами. (таблица 2).

**Табл.2** - Морфометрические показатели в печени у белых мышей при добавлении милдронга

Показатель	Контрольная группа	Экспериментальная группа
Поддольковая вена, S (мкм <sup>2</sup> )	4696,17±234,80	6763,25±338,16**
Центральная вена, S (мкм <sup>2</sup> )	754,28±37,71***	399,84±19,99
Поддольковая вена, P (мкм)	401,17±20,12	348,59±17,69
Центральная вена, P (мкм)	120,98±7,13**	81,89±4,83
Поддольковая вена, D (мкм)	25,95±1,29	35,29±1,76
Центральная вена, D (мкм)	20,87±1,04	14,07±0,7
Гепатоциты, S(мкм <sup>2</sup> )	485,47±24,32	305,96±15,29
Ядроклетки, S (мкм <sup>2</sup> )	67,72±3,13***	47,22±2,36
Синусоидное пространство, S (мкм <sup>2</sup> )	276,08±13,80***	113,78±6,68
Синусоидное пространство, P(мкм)	116,39±6,51	137,67±7,06***

Статистическая значимость:  $P \geq 0,05$ \*\* и  $P \geq 0,01$ \*\*\*

**Выводы:** таким образом, установлено, что в опытной группе мышей наблюдается увеличение площади мочевого пространства по сравнению с контролем. При этом среднее значение одинаковых участков контрольных и опытных мышей с помощью t-критерия Стьюдента показало, что значимых различий между ними не наблюдается: как мы видим, лишь в паре сравнений из 9 t эмп. было выше t крит., причем эта разница была лишь при  $p=0.05$ , а при  $p=0.01$  эта разница аннигилировалась, из чего следует вывод, что данные результаты были актуальны только в рамках нашего опыта. Также Мельдоний (он же милдронат) активизирует гликолиз, способ-

ствует более эффективному транспорту АТФ и оптимизации потребления клетками кислорода. Милдронат не оказывает существенного воздействия на почки и печень, морфометрических отклонений, чем подтверждает свою безопасность для них.

### Литература

1. «Этот препарат спас тысячи жизней» Интервью академика Ивара Калвиньша, создателя милдроната // <https://meduza.io/> URL: <https://vk.com/away.php?utf=1&to=https://meduza.i.> (дата обращения: 30.05.2019).

2. Мельдоний // <https://ru.wikipedia.org/> URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Мельдоний> (дата обращения: 30.05.2019).

3. ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МОРФОФИЗИОЛОГИЮ ПЕЧЕНИ. Горелов Е., Окулова И.И., Валов С.Л., Сунцова Н.А., Буфетова А.М., Тетерина А.Д., Санникова Н.Р., Часовских О.В. Сборник трудов четвертой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. Под редакцией М.П. Разина. 2019 С. 76-81. <https://elibrary.ru/> URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=37530498> (дата обращения: 30.05.2019).

4. Верткин А.Л., Ховасова Н.О., Пшеничникова В.В., Алексеев М.А., Абдулаева А.У. Мельдоний: Эффективные точки применения // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2013. Т.12. №2. С. 94-97

5. Меркулов Г.А. Курс патолого-гистологической техники. Л.: Медицина, 1969. С. 3

6. Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных. [Приложение к Приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977].

7. Романенко А.А. Влияние милдроната «мельдония» на восстановительный процесс после физической нагрузки // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 11-4. С. 763-765;

8. Available at: URL: <http://attuale. /meldonij-dejstvieniayrganizmi-cheloveka-instruktsiyaprimeneniyu/> (accessed 12.04.2019)

9. Modern nutrition in health and disease th /E. Shils M.E., Olson J.A., Shike M. Williams Wilkins, 1994. 1636