

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ СОКІВ НОНІ

В. Пасюга*, В. Гусакова, Є. Мамотюк

ДУ «Інститут медичної радіології імені С.П. Григор'єва НАМН України»
вул. Пушкінська, 82, Харків 61024, Україна
e-mail: vpasiuga@gmail.com

Було досліджено дію соків Табарі та Гавайського Ноні на стан тимусу, селезінки і печінки. Показано, що довготривале введення (10–15 діб) соків Табарі та Гавайського Ноні у дозі 2,5 мл/кг не впливає негативно на досліджувані органи і приводить до активації захисних систем організму. Підвищення щодобової дози соку Табарі Ноні до 5 мл/кг викликає появу в тканинах органів елементів токсикозу.

Ключові слова: сік Ноні, тимус, селезінка, печінка.

Morinda citrifolia добре відома як Індійська Шовковиця, або Ноні – чагарник, що розповсюджений у тропіках. Плоди Ноні широко використовували в народній медицині для лікування різних захворювань [17, 20]. І на сьогодні прийом фітопрепаратів, приготовлених на основі соку Ноні, не втратив своєї актуальності, вони знайшли широке застосування в сучасній медицині [17].

За останні кілька років було досліджено багато властивостей соку Ноні. Сік Ноні має антибактеріальний [22], протизапальний [9] ефекти, виявлена імуностимулююча дія соку Ноні [13].

У низці робіт було показано, що використання соку Ноні є абсолютно безпечним [15, 16, 19], однак є свідчення і про те, що сік Ноні у великих дозах може викликати токсичний гепатит [14, 21].

Після проведення широкого спектра наукових і клінічних досліджень соку Ноні Науковим комітетом Європейського союзу з харчових продуктів було прийнято рішення допустити сік Ноні до вживання на території Європейського союзу як харчову добавку [11]. Хоча рослина й не вирощується на території України, але входження країни до СОТ сприяє проникненню та поширенню цієї харчової добавки.

Наведені дані свідчать про актуальність досліджень, спрямованих на більш детальне вивчення ефектів від використання соку Ноні. Усе це обумовлює важливість дослідження впливу соку Ноні на різні системи організму.

Метою даної роботи було визначити дозу і термін введення соку Ноні, що не викликають патологічних процесів у внутрішніх органах щурів.

Матеріали та методи

В експериментах була досліджена профілактично-терапевтична дія соку Ноні (*Morinda citrifolia*). Для порівняння були взяті два зразка соку Ноні, виготовлені різними фірмами виробниками:

1. 100% сік «Табарі Ноні» (виробництво «JOY PRODUCTS, S.A.», Коста-Рика) введення *per os* протягом 15 діб у дозі 2,5 та 5,0 мл/кг (ТН₁₅);
2. 96% сік «Гавайський Ноні» (Authentic Hawaiian Noni) з додаванням концентрату натурального соку малини і чорниці (виробник «NEWAYS» USA) – введення *per os* протягом 10 діб у дозі 2,5 мл/кг (ТН₁₀);

Експерименти проводили на безпородних білих щурах-самках, масою 180–200 г. Щурів забивали під ефірним наркозом на 3, 7 добу після закінчення введення соку Гавайського Ноні та 15 добу після закінчення введення соку Табарі Ноні. Усю роботу з тваринами проводили під контролем комісії з біоетики інституту згідно з внутрішніми протоколами, які (у свою чергу) узгоджені з положеннями «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших дослідних цілях» (Страсбург, Франція, 1986). Отримані при розтині тварин шматочки тканин щурів (тимус, селезінка та печінка) фіксували у 10% розчині формаліну. Здійснювали стандартну гістологічну провідку матеріалу, котрий заливали у парафін та отримували тонкі зрізи завтовшки 10 мкм. Препарати фарбували гематоксилін-еозином за стандартною методикою [6, 7]. Фотографування препаратів виконували з використанням електронного окуляра «Electronic Eyepiece MD 130» (Taiwan) на мікроскопі «Zeiss Axiolab 94D 2601» (West Germany) при збільшенні $\times 200$, $\times 400$ та $\times 2000$ (масляна імерсія).

У роботі визначали такі морфометричні показники: відношення площин кіркової та мозкової речовини тимусу, а також білої та червоної пульпи тканини селезінки (у 15 полях зору для кожного скельця); кількість лімфоцитів у кірковій та мозковій речовині тимусу та білій і червоній пульпі селезінки на площі 2500 мкм² (у 15 полях зору мікроскопа для кожного скельця) з подальшим перерахуванням на 1 мм²; діаметр ядра гепатоцита (для 30 клітин для кожного скельця); відсоток двоядерних гепатоцитів (на 500 клітин для кожного скельця). Всі параметри визначали за допомогою програми InkScape 0.48.0:r9654 for Linux Ubuntu 10.10. Для калібрування програми використовували об'єкт мікрометр ОМП (ціна поділу 0,01 мм ДСТ 7513-55).

На кожен термін дослідження використовували по 3 тварини, на кожного щура робили по 3 гістологічних препарати кожного досліджуваного органа.

Для визначення відносної площі кіркової та мозкової речовини тимусу, білої та червоної пульпи тканини селезінки використовували метод лінійного інтегрування [1]. Метод полягає у тому, що через зорове поле проводять на однаковій відстані одна від одної кілька паралельних ліній (8 ліній). Відношення сумарної довжини відрізків, що потрапили на площу об'єкта, до загальної довжини лінії дорівнює відносній площі об'єкта. Площа поля зору – 0,9605 мм². Досліджували 15 полів зору на кожному склі. Дані представлені в частках від загальної площі поля зору. Аналіз проводили при збільшенні $\times 200$.

Кількість лімфоцитів у кірковій та мозковій речовині тимусу та білій і червоній пульпі тканини селезінки визначали при збільшенні $\times 400$ на шматочку тканини площею 2500 мкм² з подальшим перерахуванням на 1 мм². Дані кількості лімфоцитів на 1 мм² представлені у таблицях. На кожному склі досліджували 15 полів зору [1, 3].

Діаметр ядра гепатоцитів визначали усередненням показника з 30 значень для кожного скла. Відсоток двоядерних гепатоцитів визначали на 100 клітин, підрахунки повторювали 5 разів для кожного скла. Вимірювання здійснювали при збільшенні $\times 2000$ [2].

Для мікроскопічних досліджень тимусу та селезінки розраховували відповідні коефіцієнти: для тимусу – коефіцієнт співвідношення відносних площ кіркової та мозкової речовини ($K_{\text{к/м площ}}$) за формулою

$$K_{\text{к/м площ}} = \frac{S_1}{S_2}, \quad (1)$$

де S_1 – відносна площа кіркового шару з 0,9605 мм²; S_2 – відносна площа мозкового шару з 0,9605 мм²; та коефіцієнт співвідношення заселеності лімфоцитами кіркової та мозкової речовини у 2500 мкм² площі тканини тимусу ($K_{\text{к/м засел}}$) за формулою

$$K_{\text{к/м засел}} = \frac{n_1}{n_2}, \quad (2)$$

де n_1 – кількість лімфоцитів у кірковому шарі, шт.; n_2 – кількість лімфоцитів у мозковому шарі, шт.; для селезінки – коефіцієнт співвідношення відносних площ білої та червоної пульпи ($K_{\text{б/ч площ}}$) за формулою

$$K_{\text{б/ч площ}} = \frac{S_1}{S_2}, \quad (3)$$

де S_1 – відносна площа білої пульпи з 0,9605 мм²; S_2 – відносна площа червоної пульпи з 0,9605 мм²; та коефіцієнт співвідношення заселеності лімфоцитами білої та червоної пульпи у 2500 мкм² площі тканини селезінки ($K_{\text{б/ч засел}}$) за формулою

$$K_{\text{б/ч засел}} = \frac{n_1}{n_2}, \quad (4)$$

де n_1 – кількість лімфоцитів у білій пульпі, шт.; n_2 – кількість лімфоцитів у червоній пульпі, шт.

Отримані числові дані оброблено статистично з використанням t-критерію Стьюдента за допомогою пакета програм для ЕОМ «STATISTICA v.6.0». У роботі прийнятий рівень достовірності $p < 0,05$.

Результати і їхнє обговорення

У тимусах тварин із групи біологічного контролю (БК) часточки були помірного розміру, з чітким поділом на кіркову та мозкову речовину. Сполучнотканинні прошарки між часточками тонкі. У корі чітко диференціюється субкапсулярна та внутрішня зони. Кора та медула тимусу помірно заселені лімфоцитами. Кількість лімфоцитів у корі – $(20,11 \pm 0,03) \times 10^3$ клітин на площі 1 мм². Кількість лімфоцитів у медулі дещо менша, ніж у корі – $(12,35 \pm 0,02) \times 10^3$ клітин на площі 1 мм². Коефіцієнт заселеності тимусу $K_{\text{к/м засел}} = 1,628$. Мозкова речовина переважала за об'ємом кору тимусу, що відповідає нормальній будові тимусу (рис. 1) [4, 8]. Коефіцієнт співвідношення площини кори та медули $K_{\text{к/м площ}} = 0,968$.

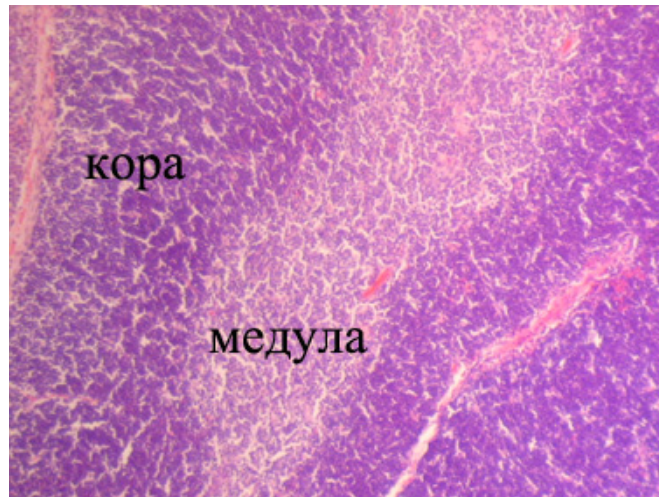


Рис. 1. Тимус щура з групи біологічного контролю (Гематоксилін-еозин, x 100).

У групі щурів, що одержувала сік Табарі Ноні у дозі 2,5 мл/кг, на 15 добу після закінчення введення соку розмір площі кори переважав такий у мозковій речовині, коефіцієнт для площі $K_{\text{к/м площ}}$ становив 105% від БК. Спостерігали більше накопичення лімфоцитів, особливо у корі. Кількість лімфоцитів у корі – (112,4±0,4)% від БК, кількість лімфоцитів у медулі – (106,2±0,6)% від БК, коефіцієнт заселеності тимусу $K_{\text{к/м засел}}$ – 105,9% від БК. У медулі, крім лімфоцитів, виявлялися макрофаги, тільця Гасселя, плазматичні клітини. Міжчасточкові сполучнотканинні структури мали нормальну структуру (рис. 2).

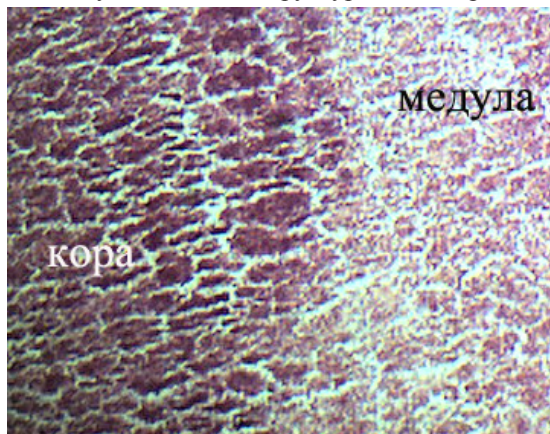


Рис. 2. Тимус щура, якому вводили сік Табарі Ноні у дозі 2,5 мл/кг, 15 доба після закінчення введення соку (Гематоксилін-еозин, x 200).

У групі щурів, що одержувала сік Табарі Ноні у дозі 5,0 мл/кг, на 15 добу після закінчення введення соку співвідношення кора/медула дуже сильно відрізнялося від норми, спостерігалось значне перевищення об'єму мозкової речовини. Коефіцієнт для площі $K_{\text{к/м площ}}$ становив лише 42,8% від БК. Заселеність лімфоцитами кори та медули відповідала контрольному рівню. Кількість лімфоцитів у корі становила (101,8±0,4)% від БК, а у медулі – (101,6±0,6)% від БК; коефіцієнт заселеності тимусу $K_{\text{к/м засел}}$ – 100,6% від БК. У клітинному складі мозкової речовини, крім лімфоцитів, виявлялися поодинокі макрофаги, тільця Гасселя та пухкі сполучнотканинні структури (рис. 3).

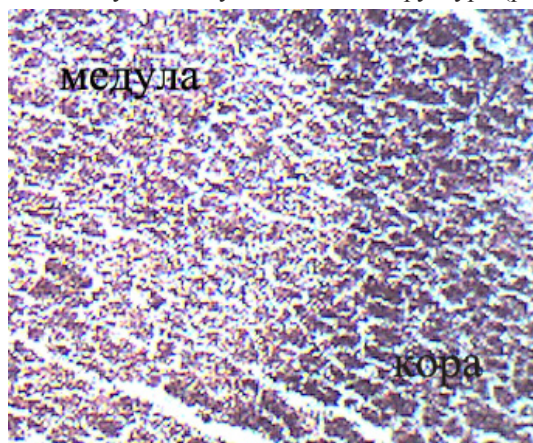


Рис. 3. Тимус щура, якому вводили сік Табарі Ноні у дозі 5,0 мл/кг, 15 доба після закінчення введення соку (Гематоксилін-еозин, x 200).

Стан тимусу щурів на 3 добу після закінчення введення соку Гавайського Ноні у дозі 2,5 мл/кг залишався на тому ж рівні організації та функціональної активності, що й у біологічного контролю. Жодних реактивних змін у стані досліджуваного органа, що були би ознаками напруги імунотенезу, не виявлено: кількість лімфоцитів у корі тимусу становила $(103,8 \pm 0,1)\%$, а у медулі – $(98,9 \pm 0,2)\%$ від БК; коефіцієнт $K_{\text{к/м площ}}$ – $94,2\%$, а $K_{\text{к/м засел}}$ – 105% від БК.

У тимусі щурів на 7 добу після закінчення введення соку Гавайського Ноні не виявлено змін у співвідношенні відносних площ кіркової та мозкової речовин, щільності розташування тимоцитів у різних зонах органа й активації епітеліоретикулярних клітин. Кількість лімфоцитів у корі – $(101,1 \pm 0,4)\%$ від БК, кількість лімфоцитів у медулі – $(99,8 \pm 0,6)\%$ від БК, коефіцієнт $K_{\text{к/м площ}}$ – $93,8\%$, а $K_{\text{к/м засел}}$ – $101,4\%$ від БК.

У табл. 1, 2 представлені дані морфометричних досліджень. У щурів із групи БК спостерігалось незначне переважання площі медули над корою, $K_{\text{к/м площ}} = 0,968$. Введення соку Табарі Ноні у двох досліджених дозах впливало на співвідношення площ кори/медули – введення у дозі 2,5 мл/кг підвищує розмір кори ($K_{\text{к/м площ}}$ зріс до $105,0\%$ від БК), збільшення дози соку до 5,0 мл/кг призводило до підвищення частки медули ($K_{\text{к/м площ}}$ знизився до $42,8\%$ від БК). Дія соку Гавайського Ноні на 3 і 7 добу після закінчення введення призводило до підвищення частки медули ($K_{\text{к/м площ}}$ знизився до $94,2\%$ та $93,8\%$ від БК відповідно).

Таблиця 1

Співвідношення площ кіркової та мозкової речовини у тимусі щурів у досліджах із введенням соків Ноні, %

Варіант досліджу	N	Кіркова речовина	Мозкова речовина	$K_{\text{к/м площ}}$
		$\bar{O} \pm Sx$	$\bar{O} \pm Sx$	
Біологічний контроль	270	$49,2 \pm 0,1$ ГН ₅	$50,8 \pm 0,1$	0,968
15 доба 2,5 мл/кг	180	$50,4 \pm 0,4$ *	$49,6 \pm 0,4$ *	1,016
15 доба 5,0 мл/кг	180	$29,3 \pm 0,5$ *	$70,7 \pm 0,5$ *	0,414
3 доба 2,5 мл/кг	180	$47,7 \pm 0,1$ *	$52,3 \pm 0,1$ *	0,912
7 доба 2,5 мл/кг	180	$47,6 \pm 0,2$ *	$52,4 \pm 0,2$ *	0,908

Примітка. У цій та інших таблицях: N – кількість вимірів. * – достовірні відмінності порівняно з контролем, $p \leq 0,05$.

Таблиця 2

Заселеність лімфоцитами кіркової та мозкової речовини у тимусі щурів у досліджах із введенням соків Ноні, на площі 1 мм^2

Варіант досліджу	N	Кіркова речовина ($\times 10^3$)	Мозкова речовина ($\times 10^3$)	$K_{\text{к/м засел}}$
		$\bar{O} \pm Sx$	$\bar{O} \pm Sx$	
Біологічний контроль	270	$20,11 \pm 0,03$ ГН ₅	$12,35 \pm 0,02$	1,628
15 доба 2,5 мл/кг	180	$22,61 \pm 0,09$ *	$13,11 \pm 0,08$	1,725
15 доба 5,0 мл/кг	180	$20,48 \pm 0,09$	$12,55 \pm 0,07$	1,632
3 доба 2,5 мл/кг	180	$20,88 \pm 0,02$ ГН ₁₀	$12,21 \pm 0,03$	1,710
7 доба 2,5 мл/кг	180	$20,34 \pm 0,09$	$12,32 \pm 0,08$	1,651

У щурів із групи БК більш заселеною лімфоцитами була кора, $K_{\text{к/м засел}} = 1,628$. Введення соку Табарі Ноні у дозі 2,5 мл/кг призводило до підвищення заселеності кори лімфоцитами. Заселеність лімфоцитами медули майже не змінювалася та залишалася на рівні

БК, при цьому коефіцієнт заселеності $K_{\text{к/м засел}}$ підвищився до 105,9% від БК. Підвищення дози соку Табарі Ноні до 5,0 мл/кг не призводило до збільшення заселеності лімфоцитами кори та медули. Коефіцієнт $K_{\text{к/м засел}}$ залишився на рівні контролю – 100,6% від БК. Введення соку Гавайського Ноні не призводило до змін у заселеності лімфоцитами кори та медули як на 3 добу після закінчення введення, так і на 7 добу. Коефіцієнти заселеності $K_{\text{к/м засел}}$ залишалися на рівня контролю (105% та 101,4% від БК відповідно).

Селезінки тварин із групи БК макроскопічно були помірного тургору темно-червоного кольору, рівномірно вкриті капсулою. Мікроскопічно, на поперечних зрізах центральної частини селезінки, визначалася вузька сполучнотканинна капсула з пучків колагенових, ретикулярних волокон, що проникали в паренхіму й утворювали вузькі трабекули. Серед волокон рівномірно розміщені фібробластичні та поодинокі гладком'язові клітини. У паренхімі селезінки добре диференціюються основні її компоненти – червона і біла пульпа. Площа зрізів центральної частини селезінки зайнята переважно тканиною червоної пульпи, коефіцієнт співвідношення площини кори та медули $K_{\text{б/ч площ}} = 0,462$. Остання була з рівномірно пофарбованими венозними синусами, помірно заповненими форменими елементами крові, головним чином еритроцитами і нечисленною кількістю лімфоїдних клітин (рис. 4). Кількість лімфоцитів у червоній пульпі – $(9,4 \pm 0,06) \times 10^3$ клітин на площі 1 мм². У масиві тканини червоної пульпи визначалася рівномірно розміщена тканина білої пульпи у формі лімфатичних вузликів навколо центральних вен і нечисленних лімфоїдних скупчень подовженої форми, прилеглих до адвентиції пульпарних артерій. У лімфатичних вузликах досить чітко визначалися їхні структурні зони: періартеріальна, мантийна, крайова, гермінативна. Кількість лімфоцитів у білій пульпі – $(13,47 \pm 0,05) \times 10^3$ клітин на площі 1 мм². Коефіцієнт заселеності селезінки $K_{\text{б/ч засел}} = 1,433$. Таким чином, мікроскопічне вивчення селезінки інтактної групи тварин, узятих в експеримент, свідчило про їх відповідність нормі, описаній у літературі [4, 8].



Рис. 4. Тканина селезінки щурів з інтактної групи (БК) (Гематоксилін-еозин, x 100).

Селезінки тварин, що одержували сік у дозі 2,5 мл/кг на 15 добу після закінчення введення соку макроскопічно істотно не відрізнялися від інтактної групи. Мікроскопічно на поперечних зрізах центральної частини селезінки цієї групи структура тканини в

цілому була аналогічна такій інтактних тварин, однак із рядом виражених різниць. Так, на всьому протязі зрізів відзначалося помірне збільшення кількості клітин червоної та білої пульпи. Особливо звертала на себе увагу виражено збільшена кількість клітин (рис. 5) і помірно збільшена порівняно з інтактною групою площа лімфоїдної тканини білої пульпи. Кількість лімфоцитів у білій пульпі – $(109,2 \pm 0,4)\%$ від БК, у червоній пульпі – $(112,9 \pm 0,7)\%$ від БК, коефіцієнт відношення площ білої/червоної пульпи $K_{\text{б/ч площ}}$ – $126,6\%$ від БК, а для заселеності $K_{\text{б/ч засел}}$ – $96,7\%$ від БК. Виявлялася велика кількість вузликів із розширеними крайовими зонами, а також лімфатичними періартеріальними муфтами. Стан тканини селезінки щурів, що одержували сік Табарі Ноні у дозі $2,5$ мл/кг відповідав помірній активації адаптаційно-компенсаторних ресурсів організму експериментальних тварин [8].

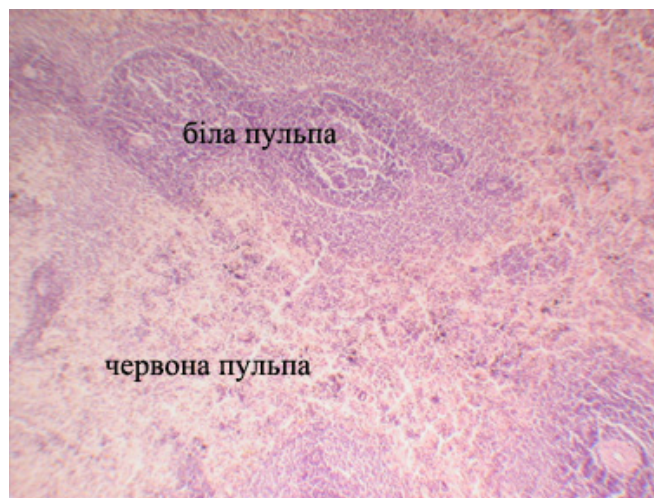


Рис. 5. Тканина селезінки щурів із групи, що отримувала сік Табарі Ноні у дозі $2,5$ мл/кг, 15 доба після закінчення введення соку (Гематоксілін-еозин, $\times 100$).

У тварин, що одержували сік у дозі 5 мл/кг, порівняно з інтактною групою і групою тварин, що одержували сік у дозі $2,5$ мл/кг, розмір селезінки був дещо збільшений, помірного тургору, орган рівномірно покритий капсулою. Мікроскопічно, на поперечних зрізах центральної частини селезінки на фоні структурних компонентів, аналогічних вищеописаним групам, виявлене різке збільшення клітинності, переважно білої пульпи. Кількість лімфоцитів у білій пульпі – $(114,4 \pm 0,4)\%$ від БК, у червоній пульпі – $(132 \pm 0,2)\%$ від БК, коефіцієнт заселеності білої/червоної пульпи $K_{\text{б/ч засел}}$ – $86,7\%$ від БК. У тканині червоної пульпи, крім великої кількості лімфоїдних елементів, котрі рівномірно розміщені серед еритроцитів венозних синусів, на всьому протязі поля зору виявлялася велика кількість дрібних скупчень лімфоїдних клітин (рис. 6), які були утворені компактними скупченнями темних лімфоцитів. Гіперплазія лімфатичних вузликів із рівномірним і осередковим їх утворенням, при застосуванні більшої дози соку Табарі Ноні, може сприяти підвищенню фізіологічного рівня адаптації та викликати декомпенсацію і розвиток лімфоцитозу [4, 8]. Коефіцієнт відношення площ білої/червоної пульпи $K_{\text{б/ч площ}}$ – $117,1\%$ від БК. Таким чином, обсяг рівномірної інфільтрації й осередкових утворень лімфоїдних клітин у селезінці експериментальних тварин, які одержували сік Табарі Ноні у дозі $5,0$ мл/кг, значно перевищував їх кількість не тільки у інтактної групи, але й у групі тварин, що одержували сік у дозі $2,5$ мл/кг.

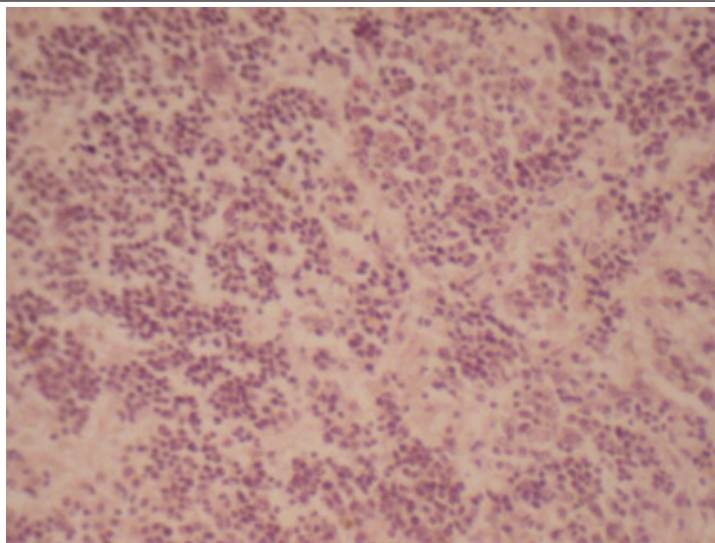


Рис. 6. Тканина селезінки шурів із групи, що отримувала сік Табарі Ноні у дозі 5,0 мл/кг, 15 доба після закінчення введення соку (Гематоксілін-еозин, x 200).

Селезінка шурів на 3 добу після введення соку Гавайського Ноні залишалася на тому ж рівні організації та функціональної активності, що й у біологічного контролю. Ознак напруги імуногенезу або реактивних змін у стані селезінки, що були би ознаками, не виявлено. Кількість лімфоцитів у білій пульпі – (96,1±0,5)% від БК, кількість лімфоцитів у червоній пульпі – (92,8±0,6)% від БК, коефіцієнти $K_{б/ч\ плоч} = 102,4\%$, а $K_{б/ч\ засел} = 103,6\%$ від БК.

У селезінці шурів на 7 добу після введення соку Гавайського Ноні зберігалася стабільність у стані білої та червоної пульпи. Кількість лімфоцитів у білій пульпі – (100,1±0,7)% від БК, кількість лімфоцитів у червоній пульпі – (90,1±0,6)% від БК, коефіцієнт $K_{б/ч\ плоч} = 107,1\%$, а $K_{б/ч\ засел} = 110\%$ від БК.

У табл. 3 представлена динаміка зміни співвідношення білої та червоної пульпи селезінки. У шурів групи БК у стромі селезінки переважала червона пульпа $K_{б/ч\ плоч} = 0,458$. На 15 добу після закінчення введення соку Табарі Ноні у дозі 2,5 мл/кг та 5,0 мл/кг спостерігали підвищення частини білої пульпи $K_{б/ч\ плоч}$ зріс до 126,6% та 117,1% від БК відповідно. Введення соку Гавайського Ноні у дозі 2,5 мл/кг не призводило до змін у співвідношенні білої та червоної пульпи ($K_{б/ч\ плоч}$ на 3 добу після закінчення введення соку становив 102,4% від БК, на 7 добу – 107,1% від БК).

Таблиця 3

Співвідношення площ білої та червоної пульпи у селезінці шурів
у дослідях із введенням соків Ноні, %

Варіант досліджу	N	Біла пульпа	Червона пульпа	$K_{б/ч\ плоч}$
		$\bar{O} \pm Sx$	$\bar{O} \pm Sx$	
Біологічний контроль	270	31,6 ± 0,2	68,4 ± 0,2	0,462
15 доба 2,5 мл/кг	180	$36,9 \pm 0,7^*$ ТН ₅	63,1 ± 0,7 *	0,585
15 доба 5,0 мл/кг	180	35,1 ± 0,6 *	64,9 ± 0,6 *	0,541
3 доба 2,5 мл/кг	180	$32,1 \pm 0,6$ ГН ₁₀	67,9 ± 0,6	0,473
7 доба 2,5 мл/кг	180	33,1 ± 0,7	66,9 ± 0,7	0,495

У табл. 4 представлена динаміка зміни заселеності білої та червоної пульпи лімфоцитами. Введення соку Табарі Ноні в дозі 2,5 та 5,0 мл/кг призводило до підвищення кількості лімфоцитів у білій і червоній пульпі, при цьому коефіцієнт $K_{\text{б/ч засел}}$ зменшився до 96,7 та 86,7% від БК відповідно. Введення соку Гавайського Ноні у дозі 2,5 мл/кг не призводило до змін у заселеності селезінки лімфоцитами, $K_{\text{б/ч засел}}$ на 3 добу після закінчення введення соку становив 103,6%, а на 7 добу – 110% від БК.

Таблиця 4

Заселеність лімфоцитами білої та червоної пульпи у селезінці щурів
у дослідах із введенням соків Ноні, на площі 1 мм²

Варіант досліджу	N	Біла пульпа (x10 ³)	Червона пульпа(x10 ³)	K _{б/ч засел}
		$\bar{O} \pm Sx$	$\bar{O} \pm Sx$	
Біологічний контроль	270	13,47±0,05	9,4±0,06	1,433
15 доба 2,5 мл/кг	180	14,72±0,06 * ^{ТН₁₅}	10,62±0,07 *	1,386
15 доба 5,0 мл/кг	180	15,41±0,06 * ^{ГН₁₀}	12,41±0,02 *	1,242
3 доба 2,5 мл/кг	180	12,95±0,07	8,72±0,06	1,485
7 доба 2,5 мл/кг	180	13,48±0,09	8,47±0,06	1,591

У щурів із групи БК печінка макроскопічно мала нормальний розмір, була червоно-коричневого кольору, без ознак венозного повнокрів'я, дистрофічних і патологічних порушень. Мікроскопічно на поперечних зрізах лівої бічної частки визначалася характерна гістоархітектоніка тканини печінки з наявністю часточок і балочок, спрямованих до центральних вен і венул. Просвіти проток добре визначалися, місцями були розширені, обмежені рівномірно розподіленими ендотеліальними і синусоїдними клітинами. Гепатоцити полігональної форми, їх цитоплазма нормохромна, дрібнозерниста (рис. 7). Остання щільно прилягала до перинуклеарної поверхні помірно базофільних, нормального розміру, округлих ядер, які добре диференційовані одним-двома ядрцями. Діаметр ядра гепатоцита – (5,62±0,02) мкм. Двоядерні гепатоцити виявлялися рідко. Відсоток двоядерних гепатоцитів – (7,1±0,05)%. Купферовські клітини розміщені рівномірно, фарбуються базофільно. У порталних трактах серед вузьких прошарків сполучної тканини чітко диференціювалися трубчасті системи різних розмірів відповідної будови: ворітна вена, печінкова артерія, жовчні протоки і лімфатичні судини. У судинах порталних трактів виявлялися нечисленні еритроцити й поодинокі лімфоїдні клітини. Вузька сполучнотканинна оболонка містила рівномірно розподілені фіброласти і лімфоїдні клітини. Таким чином, тканина печінки тварин інтактної групи була в нормальному, спокійному функціональному стані й відповідала структурі, описаній у літературі [5].

У групі тварин, які одержували 2,5 мл/кг соку Табарі Ноні на 15 добу після закінчення введення соку, печінка макроскопічно не відрізнялася від такої у інтактній групі. Мікроскопічно на поперечних зрізах лівої бічної частки, на всьому протязі поля зору, аналогічно інтактній групі, виявлялася балкова будівля тканини. Гепатоцити, що утворюють балочки, мали нормальну структуру і фарбування, візуально нормальне цитоплазматичне співвідношення. Діаметр ядра гепатоцита – (92,9±0,5)% від БК. Порівняно з інтактною групою привертає увагу таке: серед печінкових балочок, які радіально сходились до центральних вен, виявлялася більша кількість гепатоцитів із двома ядрами. Відсоток двоядерних гепатоцитів збільшувався в 1,8 разу. У міжбалкових просторах, серед рівномірно розподілених ендотеліальних клітин, виявлялася збільшена кількість яскраво базофільних зірчастих ретикулоцитів, лімфоїдних клітин. Серед сполучнотканинних прошарків порталних трактів, а також у кровоносних

і лімфатичних судинах, визначалася незначна кількість еритроцитів і значна кількість лімфоїдних клітин. Таким чином, на підставі мікроскопічного аналізу препаратів печінкової тканини тварин, що одержували сік Табарі Ноні у дозі 2,5 мл/кг, порівняно з інтактною групою, збільшення ретикулоендотеліальних клітин і лімфоїдних елементів може бути ознакою активації функціонального стану органа [2, 5].

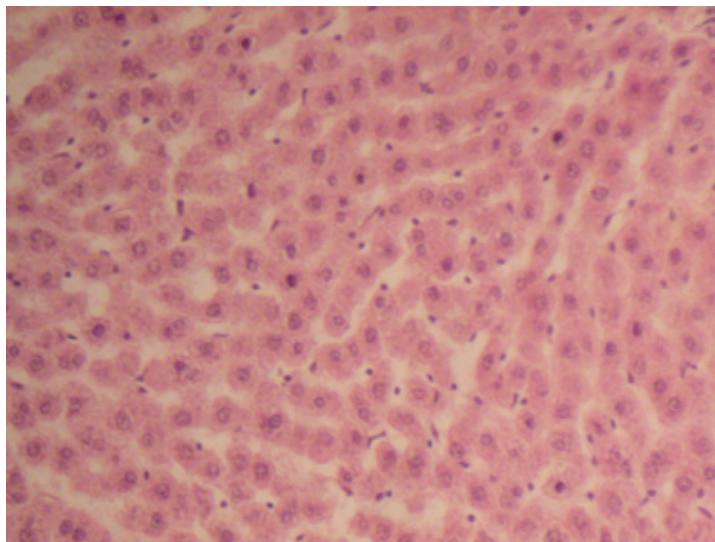


Рис. 7. Тканина печінки, інтактна група (БК) (Гематоксілін-еозин, x 200).

У групі тварин, що одержували 5,0 мл/кг соку Табарі Ноні на 15 добу після закінчення введення соку, печінка макроскопічно істотно не відрізнялася від даного органу попередньої групи. Мікроскопічно на поперечних зрізах лівої бічної частки виявлялася балкова будова тканини з відповідною архітектонікою. Однак встановлена значна кількість балочок, утворених «набряклими» гепатоцитами із сітчастою розширеною цитоплазмою, які обмежують і перекривають гемокапілярні порожнини (рис. 8). В останніх місцях наявні ланцюгоподібні чи осередкові скупчення лімфоцитів. Діаметр ядра гепатоцита – $(101,6 \pm 0,3)\%$ від БК. Серед гепатоцитів осередково виявлялася збільшена кількість двоядерних клітин з вираженою поліморфністю, відсоток двоядерних гепатоцитів зріс у майже 2 рази. На окремих ділянках зірчасті ретикулоцити були округлої форми, місцями знаходилися в лакунах. Наявність набряклих гепатоцитів, скупчень лімфоцитів, підвищення кількості двоядерних гепатоцитів може свідчити про можливий токсичний вплив досліджуваного соку Табарі Ноні у дозі 5,0 мл/кг на печінкову тканину [5].

На 3 добу після закінчення введення соку Гавайського Ноні структурна організація тканини печінки повністю збігалася з такою у біологічного контролю. Гепатоцити без ознак дистрофії, реактивних змін ядра та цитоплазми, які свідчили би про напругу функціонального стану органа, не виявлено. Рівень лімфоїдних елементів у перипортальних відділах печінкових часточок типовий для цього виду тварин, у гемокапілярах достатній вміст лімфоцитів, стан ретикулоендотеліальних клітин нормальний, тобто не відзначалося змін у клітинній системі імунного нагляду тканини.

Подібна картина стану клітинних елементів печінки спостерігалася й через 7 діб після закінчення введення шурам соку Гавайського Ноні. У той же час морфометричний аналіз виявив помітне збільшення кількості двоядерних гепатоцитів на 3 (в 1,5 разу) та 7 доби (в

1,6 разу), що свідчить про помірну стимуляцію функціонального стану паренхіми печінки [2, 5]. Середній діаметр ядра гепатоцитів за цих умов практично не змінювався. Діаметр ядра гепатоцита на 3 добу становив $(104,6 \pm 1,1)\%$ від БК, на 7 добу – $(104,8 \pm 1,1)\%$ від БК.

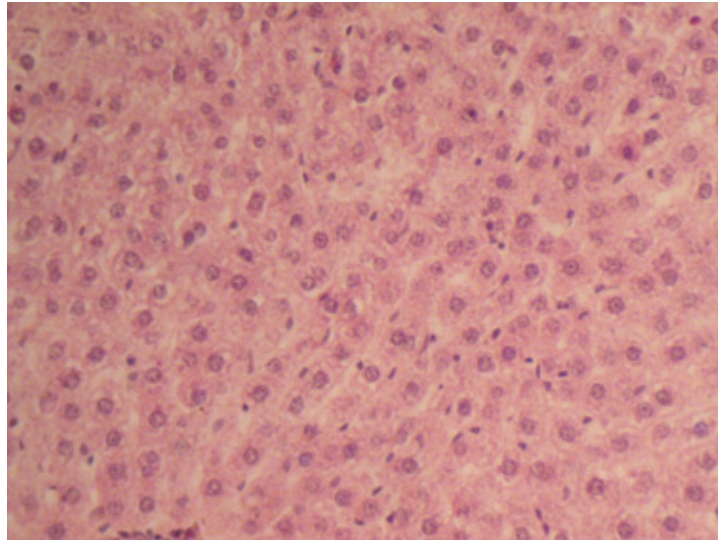


Рис. 8. Тканина печінки щурів із групи, що отримувала сік Табарі Ноні в дозі 5,0 мл/кг, 15 доба після закінчення введення соку (Гематоксілін-еозин, x 200).

У табл. 5 представлені зміни відсоткового вмісту двоядерних гепатоцитів та діаметра ядра гепатоцита у щурів за різних умов експерименту. Введення соку Табарі Ноні та Гавайського Ноні призводило до статистично достовірного підвищення відсотка двоядерних гепатоцитів, що свідчить про підвищення кількості амітотичних поділів гепатоцитів, за зростання репараційних можливостей печінки [2, 5]. Введення соку Табарі Ноні та Гавайського Ноні не викликало змін у розмірі ядер гепатоцитів, тобто досліджувані речовини не спричиняли підвищення ступеня плоідності гепатоцитів [2].

Таблиця 5

Зміни відсотка двоядерних гепатоцитів і діаметра ядра клітини печінки щурів у дослідах із введенням соків Ноні

Варіант досліду	Кількість двоядерних гепатоцитів, %		Діаметр ядра гепатоцита, мкм	
	N	$\bar{O} \pm Sx$	N	$\bar{O} \pm Sx$
Біологічний контроль	9000	$7,1 \pm 0,05$	540	$5,62 \pm 0,02$
15 доба 2,5 мл/кг	4500	$12,7 \pm 0,1$ * ТН ₁₅	270	$5,22 \pm 0,03$
15 доба 5,0 мл/кг	4500	$13,9 \pm 0,1$ *	270	$5,71 \pm 0,02$
3 доба 2,5 мл/кг	4500	$10,5 \pm 0,2$ * ГН ₁₀	270	$5,88 \pm 0,06$
7 доба 2,5 мл/кг	4500	$11,3 \pm 0,1$ *	270	$5,89 \pm 0,06$

Введення лабораторним щурам соку Табарі Ноні у дозі 2,5 та 5,0 мл/кг впродовж 15 діб призводило до морфологічних змін у стані тимусу, селезінки та печінки на 15 добу після припинення введення соку. Введення соку у дозі 2,5 мл/кг викликало підвищення частки кори тимусу та білої пульпи селезінки. Підвищення дози соку до 5,0 мл/кг призводило до зниження частки кіркової речовини тимусу та ще істотнішого підвищення частки

білої речовини у селезінці досліджених щурів. Спостерігалось підвищення заселеності лімфоцитами кори тимусу, білої та червоної пульпи селезінки за введення соку Табарі Ноні у дозі 2,5 мл/кг. Підвищення дози соку Табарі Ноні призводило до підвищення заселеності білої та червоної пульпи селезінки, тоді як у тимусі заселеність залишалася на контрольному рівні. Введення шурам соку Гавайського Ноні у дозі 2,5 мл/кг впродовж 10 діб призводило до підвищення частки кори тимусу на 3 та 7 добу після припинення введення. Заселеність лімфоцитами тимусу та стан селезінки залишалися у межах контрольних значень.

Підвищення заселеності лімфоцитами селезінки узгоджується з даними, що були отримані іншими дослідниками. У роботі [23] було показано, що культивування дендритних клітин мишей разом із ферментованим соком Ноні призводило до їх активації та подальшої стимуляції ними проліферації В-лімфоцитів. Спиртові та водні екстракти з плодів Ноні зумовлювали підвищення проліферативної активності Т і В лімфоцитів мишей *in vitro* та *in vivo* [13]. Згодовування щойно народженим телятам великої рогатої худоби пюре з плодів Ноні призводило до стимуляції експресії CD-рецепторів на CD-4⁺ CD-8⁺ Т-лімфоцитах [10].

Введення соку Табарі Ноні у дозі 5,0 мл/кг впродовж 15 діб призводить до появи негативних ознак (наявність набряклих гепатоцитів, ланцюгоподібні та осередкові скупчення лімфоцитів, зміна форми зірчастих ретикулоцитів та ін.), які вказують на виражену токсичну дію соку в цій дозі [5]. Наявні дані й про те, що вживання соку Ноні впродовж тривалого часу (3 тижні – 3 місяці) призводило до виникнення токсичного гепатиту у людей [12, 14, 21]. Проте наявно достатньо даних і про те, що сік Ноні не лише не впливає на стан печінки [18, 20], а й навіть дає гепатопротекторний ефект за хронічного впливу СС₁ [16].

Таким чином, можна говорити про те, що соки Табарі Ноні та Гавайського Ноні при тривалому введенні у щодобовій дозі 2,5 мл/кг не впливають негативно на стан досліджуваних органів, а в окремих випадках призводять до активізації захисних реакцій організму. У той же час щодобове тривале введення соків у дозі 5,0 мл/кг маси щурів викликає в тканинах органів появу елементів токсикозу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

3. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. Руководство. М.: Медицина, 1990. 384 с.
4. Антопольская Е. В., Швейнов И. А. Морфометрические показатели состояния ткани печени при полиорганной недостаточности на фоне острой патологии органов брюшной полости // Курский науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». 2009. № 4. С. 76–80.
5. Аскарлов М. Б., Онищенко Н. А., Макарова О. В. Восстановление морфофункционального состояния органов иммуногенеза и течение длительно незаживающих аутоиммунных язв желудка при трансплантации культивированных клеток аутогенного костного мозга // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2008. № 3. С. 36–42.
6. Белоусова О. И., Горизонтов П. Д., Федотова М. И. Радиация и система крови. М.: Атомиздат, 1979. 125 с.
7. Бреслер В. М., Черногрядская А. Н., Пильщик Е. М. и др. Нормальная и патологическая цитология паренхимы печени. Л.: Наука, 1969. 272 с.
8. Волкова О. В. Елецкий Ю. К. Основы гистологии с гистологической техникой. 2-е изд. М.: Медицина, 1982. 304 с.
9. Меркулов Г. А. Курс патологической техники. 5-е изд. Л.: Медицина, 1969. 423 с.
10. Токин И. Б. Проблемы радиационной цитологии. Л.: Медицина, 1974. 318 с.
11. Basar S., Uhlenhut K., Hogger P. et al. Analgesic and antiinflammatory activity of *Morinda*

- citrifolia* L. (Noni) fruit // *Phytother. Res.* 2010. Vol. 24. N 1. P. 38–42.
12. Brooks V. J., Schafer M., Sharp P. et al. Effects of *Morinda citrifolia* (Noni) on CD4+ and CD8+ T-cell activation in neonatal calves // *Prof. Anim. Sci.* 2009. Vol. 25. P. 262–265.
 13. European Food Safety Authority Opinion on a request from the Commission related to the safety of noni juice (juice of the fruits of *Morinda citrifolia*). E.F.S.A. 2006. Vol. 376. P. 1–12.
 14. Millonig G., Stadlmann S., Vogel W. Herbal hepatotoxicity: acute hepatitis caused by a Noni preparation (*Morinda citrifolia*) // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2005. Vol. 17. N 4. P. 445–447.
 15. Nayak S., Mengi S. Immunostimulant activity of noni (*Morinda citrifolia*) on T and B lymphocytes // *Pharm. Biol.* 2010. Vol. 48. N 7. P. 724–731.
 16. Stadlbauer V., Fickert P., Lackner C. et al. Hepatotoxicity of noni juice: Report of two cases // *World J. Gastroenterol.* 2005. Vol. 11. N 30. P. 4758–4760.
 17. Wang M. J., Hurn J., Peng L. et al. A multigeneration reproductive and developmental safety evaluation of authentic *Morinda citrifolia* (noni) juice // *J. Tox. Sci.* 2011. Vol. 36. N 1. P. 81–85.
 18. Wang M. Y., Nowicki D., Anderson G. et al. Liver protective effects of *Morinda citrifolia* (Noni) // *Plant Foods Hum. Nutr.* 2008. Vol. 63. N 2. P. 59–63.
 19. Wang M. Y., West B. J., Jensen C. J. et al. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research // *Acta Pharmacol. Sin.* 2002. Vol. 23. P. 1127–1141.
 20. West B. J., Jensen C. J., Westendorf J. Noni juice is not hepatotoxic // *World J. Gastroenterol.* 2006. Vol. 22. Is. 12. P. 3616–3619.
 21. West B. J., Su C. H., Jensen J. Prenatal toxicity test of *Morinda citrifolia* (noni) fruit // *J. Tox. Sci.* 2008. Vol. 33. N 5. P. 647–649.
 22. West B. J., Su C. X., Jensen C. J. Hepatotoxicity and subchronic toxicity tests of *Morinda citrifolia* (noni) fruit // *J. Toxicol. Sci.* 2009. Vol. 34. N 5. P. 581–585.
 23. Yuce B., Gulberg V., Diebold J., Gerbes A. L. Hepatitis induced by Noni juice from *Morinda citrifolia*: a rare cause of hepatotoxicity or the tip of the iceberg? // *Digestion.* 2006. Vol. 73. N 2–3. P. 167–170.
 24. Zaidan M. R., Noor Rain A., Badrul A. R. et al. In vitro screening of five local medicinal plants for antibacterial activity using disc diffusion method // *Trop. Biomed.* 2005. Vol. 22. N 2. P. 165–170.
 25. Zhang X., Li J., Wong D. K. et al. Fermented Noni Exudate-treated dendritic cells directly stimulate B lymphocyte proliferation and differentiation // *Oncol. Rep.* 2009. Vol. 21. P. 1147–1152.

Стаття: надійшла до редакції 30.11.11

доопрацьована 21.05.12

прийнята до друку 29.05.12

**CHANGES IN INTERNAL ORGANS OF RATS IN THE CONDITION
OF THE NONI JUICE TREATMENT****V. Pasiuga, V. Gusakova, E. Mamotuk***Grigoriev Institute for Medical Radiology National Academy
of Medical Sciences of Ukraine
82, Pushkinska St., Kharkiv 61024, Ukraine
e-mail: vpasiuga@gmail.com*

The effect of Hawaiian and Tabari Noni juice on the thymus, spleen and liver was discovered. It was shown, that the Hawaiian and Tabari Noni juice long-term (10–15 days) treatment in a dose of 2.5 mL/kg does not negatively affect on the tested organs and can lead to activation of organism protective system. Rising dose of Tabari Noni juice to 5 mL/kg causes of the elements of toxicosis in the tissues.

Keywords: Noni juice, thymus, spleen, liver.

**ИЗМЕНЕНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС
В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ СОКОВ НОНИ****В. Пасюга, В. Гусакова, Е. Мамотюк***ГУ «Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева НАМН
Украины»
ул. Пушкинская, 82, Харьков 61024, Украина
e-mail: vpasiuga@gmail.com*

Исследовано действие соков Табари и Гавайского Нони на состояние тимуса, селезенки и печени. Показано, что длительное введение (10–15 суток) соков Табари и Гавайского Нони в дозе 2,5 мл/кг не влияет негативно на исследуемые органы и приводит к активации защитных систем организма. Повышение ежедневной дозы сока Табари Нони до 5 мл/кг вызывает появление в тканях органов элементов токсикоза.

Ключевые слова: сок Нони, тимус, селезенка, печень.