

УДК 611.013.85:615.014.41:616.13-004.6-092.9

І.І. Кондаков, О.П. Жулікова, Т.М. Юрченко, Т.М. Шарпан
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ АТЕРОСКЛЕРОЗ ТА ПРЕДИКТОРИ ВІДНОВЛЕННЯ ФУНКЦІЇ ПЕЧІНКИ ПРИ ВВЕДЕННІ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ

Введення кріоконсервованої плаценти на тлі спонтанного регресу атеросклерозу відновлює адаптаційні процеси, викликає відновлення структури та функції печінки.

Ключові слова: атеросклероз, кріоконсервована плацента, двоядерні гепатоцити.

Робота є фрагментом науково-дослідної теми: «Вивчити механізм регенераційних процесів шляхом дослідження структурних і деяких метаболічних показників організму експериментальних тварин після трансплантації плаценти в умовах атеросклерозу» (№ держреєстрації 0106U002170).

Як відомо, печінка є центральним органом у якому відбувається усі види обміну речовин (вуглеводний, білковий, жировий) [2]. При експериментальному атеросклерозі ураження печінки надлишками холестерину викликає її функційну напругу та призводить до розладу ліпідного обміну, що характеризується збільшенням атерогенних ліпопротеїдів на тлі зменшення антиатерогенних [2, 5-7]. Порушується швидкість катаболізму ЛПНЩ, та ЛПДНЩ. Відомо, що регрес експериментального атеросклерозу в кролів перебігає досить повільно [1]. Невідомо, чи можливо його прискорити за допомогою введення алогенної кріоконсервованої плаценти.

Метою роботи було вивчення морфології печінки при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі регресу експериментального атеросклерозу.

Матеріал та методи дослідження. Для проведення дослідження були використані 28 кролів самців породи "шиншила", вагою 3500 - 4200 г., віком 12 місяців. Тварини перебували на холестериновій дієті [1] протягом 180 діб. Експериментальних тварин розподілили на групи: I – контроль (5 тварин), II - модель атеросклерозу (23 тварини), яких утримували в стандартних умовах виварію. Після досягнення піка моделі (6 місяців годування холестерином) 23 тварини II групи були розділені на підгрупи: 1 спонтанний регрес експериментального атеросклерозу (10 тварин); 2 - введення АКП на тлі регресу спонтанного атеросклерозу (10 тварин); 3 - пік моделі (3 тварини).

В експерименті протягом 6 місяців використовували холестерин виробництва С. – Петербург, Росія у дозі 200 мг/кг маси тіла рег ос за схемою: 5 днів - годування холестерином, 2 дні – відпочинок. Після припинення навантаження холестерином спонтанний регрес, а також ефекти введення АКП на тлі регресу атеросклерозу, досліджували протягом 6 тижнів. На 6-м місяці експерименту тваринам 2-ї підгрупи введено АКП. Через 6 тижнів після введення АКП, тварин 1-3 підгруп піддавали евтаназії відповідно до документів: Директиви 86/609 ЕЕС і угодою Ради Європи ET 123. Всі експерименти проводили згідно з "Загальними етичними принципами експериментів над тваринами", схваленими Першим національним конгресом з біоетики (20 вересня 2001 р. Київ, Україна) та "Правилами використання лабораторних експериментальних тварин" (1984, додаток 4) [7]. Для гістологічного дослідження шматочки печінки заливали в парафін, гістологічні зрізи тканин забарвлювали гематоксилін-еозин, підрахування двоядерних гепатоцитів проводили на кожному препараті в межах ацинуса. Отримані результати обробляли статистичним методом Вілкоксона-Уїтні-Манна за допомогою пакету комп'ютерних програм «Statgraph 2.0.», "Microsoft Excel". Рівень вірогідності складав 0,05 та 0,01.

Результати дослідження та їх обговорення. У групі інтактних тварин мікроскопічно на препаратах виявляються ділянки сполучнотканинної строми (рис. 1). При малому збільшенні чітко помітні печінкові часточки з центральною веною і печінкова триада, до складу якої входять печінкова артерія, вени, жовчна протока а в окремих часточках і лімфатична судина. Уся триада оточена сполучнотканинною стромою. У самій часточці визначаються звиті трабекули, на поверхні яких розташовані печінкові клітини в 1-2 шари, між трабекулами проходять синусоїди, які відкриваються у центральну вену. Мікросудини нормального кровонаповнення. Трабекули добре структуровані. Гепатоцити містять великі округлі ядра з ніжно сітчастим хроматином. Сполучна тканина в зоні триад розвинена слабо. Зустрічаються двоядерні гепатоцити $21 \pm 2,12$ (у ацинусі), яких більше у зоні інтенсивного кровообігу (біля артерії).

На 27-му тижні, після початку аліментарної гіперхолістеринемії в тканині печінки відзначається жирова дистрофія. Гепатоцити великі, містять ліпідні вакуолі (рис. 2). Спостерігається розростання сполучної тканини в зоні триад, та розширення жовчних протоків. Відзначається велика кількість двоядерних гепатоцитів $94,7 \pm 2,12$ (у ацинусі). Після відміни годування холестерином на тлі спонтанного регресу експериментального атеросклерозу (через 6 тижнів) спостерігається деяке поліпшення морфологічної картини. Кількість двоядерних гепатоцитів вірогідно менша ($p=0,02$) у порівнянні з піком моделі атеросклерозу $54,15 \pm 3,82$ (у ацинусі). Жовчні протоки, та синусоїди розширені (рис. 3).

Після введення АКП на тлі спонтанного регресу експериментального атеросклерозу спостерігалась відсутність жирової дистрофії, жовчні протоки мають вигляд як і у нормі, синусоїдні капіляри нормального

кровонаповнення. Кількість двоядерних гепатоцитів $33,07 \pm 2,18$, що вірогідно менше, чим на піку та спонтанному регресі ($p=0,04$) (рис. 4).

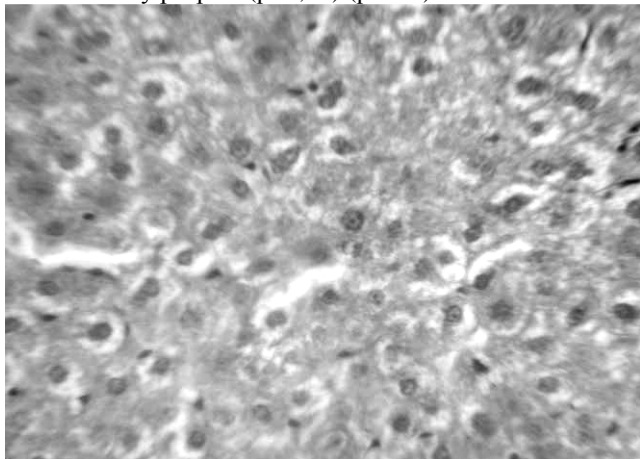


Рис. 1. Паренхіма печінки. Двоядерні гепатоцити. Заб. г.-е. Зб. 600х.

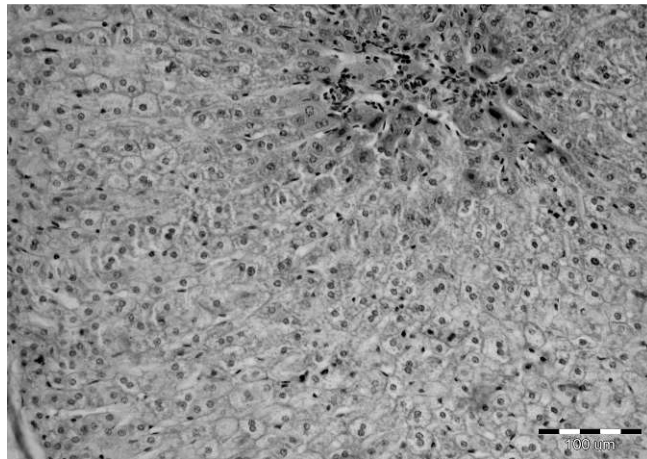


Рис. 2. Паренхіма печінки на піку моделі атеросклерозу. Заб. г.-е. Зб. 400х.

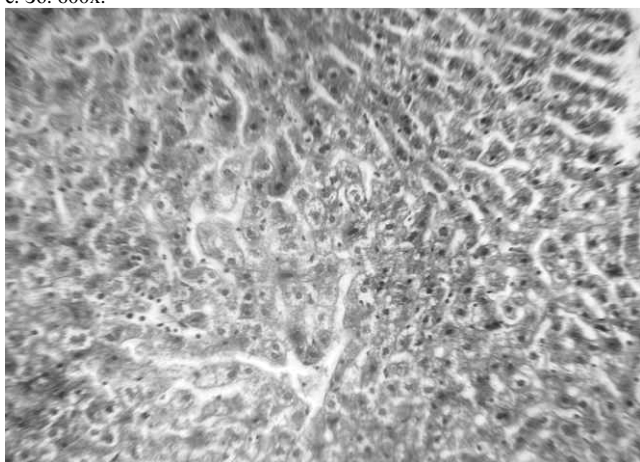


Рис. 3. Паренхіма печінки через 6 тижнів спонтанного регресу атеросклерозу. Заб. г.-е. Зб. 400х.

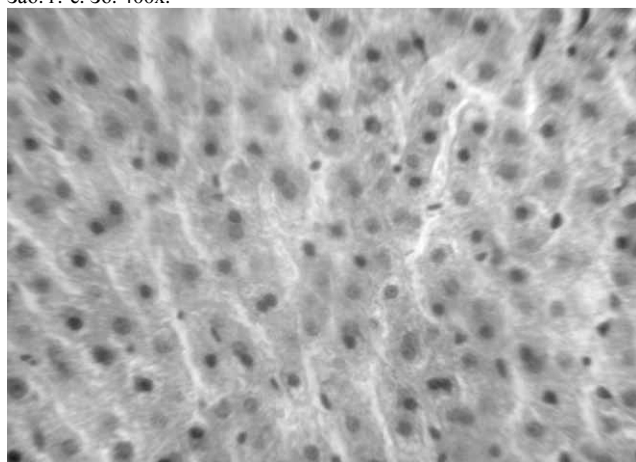


Рис. 4. Паренхіма печінки через 6 тижнів після введення АКП на тлі спонтанного регресу атеросклерозу. Заб. г.-е. Зб. 600х.

Годування холестерином експериментальних тварин призводило до гіперхолестеринемії [1, 2], жирова дистрофія, збільшення кількості двоядерних гепатоцитів, майже в 4 рази, вказує на зрив компенсаторно-адаптаційних процесів. Морфологічні зміни у печінці, що визначались через 6 тижнів спонтанного регресу свідчать про досить повільні процеси регенерації, відновлення метаболічних функцій зокрема ліпідного обміну. Досить велика кількість двоядерних гепатоцитів свідчить про напруження компенсаційних процесів.

Введення АКП на тлі спонтанного регресу атеросклерозу виявляє стимулюючий ефект на стромальні і паренхіматозні елементи в печінці, що супроводжується посиленням портальної геодинаміки, розширенням синусоїдних капілярів. Кількість двоядерних гепатоцитів вірогідно зменшується у порівнянні з показниками при спонтанному регресі атеросклерозу, та наближається до показників у нормі. Це свідчить про те, що в органі відбувається інтенсивна фізіологічна перебудова з регенераційними процесами, що збігається з показниками ліпідного обміну на всіх етапах експерименту [3].

Висновок

Введення АКП на тлі спонтанного регресу атеросклерозу відновлює адаптаційні процеси, викликає відновлення структури та функції печінки.

Література

1. Аничков Н.Н. Труды общества русских врачей в СПб / Н.Н. Аничков // - ., 1913, - 90 с.
2. Климов А.Н. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения / А.Н.Климов, Н.Г.Никольцева // СПб: Питер Ком, 1999. - 336 с.
3. Кондаков И.И. Антиатерогенные эффекты криоконсервированного препарата фетоплацентарного комплекса при экспериментальном атеросклерозе / И.И. Кондаков // Проблемы криобиологии. - 2005. - Т.15, №3. - С. 435 - 439.
4. Assman G. Tangier disease and the possible role of HDL in atherosclerosis / G. Assman // Atherosclerosis Rev.-1979.-Vol.6.-P.1-179.
5. Gotto A.M. Direction of atherosclerosis research in the 1980-th and 1990-th / A.M. Gotto // Circulation.-1984.-Vol.70.P.11188-11194.
6. Kannel W.B., Castelli W.P., Gordon T.L. Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease: new perspectives based on the Framingham study / W.B. Kannel, W.P. Castelli, T.L. Gordon // Ann.Intern.Med.-1979.-Vol. 90.- P.8591.
7. The European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // European Treaty Series. - 1986. - Vol.123. - P. 1-48.

Реферати

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ АТЕРОСКЛЕРОЗ И ПРЕДИКТОРЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ВВЕДЕНИИ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ

Кондаков И.И., Жуликова Е.П., Юрченко Т.Н., Шарлай Т.М.

Введение аллогенной криоконсервированной плаценты на фоне спонтанного регресса экспериментального атеросклероза, приводило к усилению компенсаторно-приспособительных процессов в печени экспериментальных животных. Происходило улучшение гемодинамики, достоверно уменьшалось количество двуядерных гепатоцитов, полученные данные дополняют ранее полученные результаты о состоянии липидного обмена.

Ключевые слова: атеросклероз, криоконсервированная плацента, двуядерные гепатоциты.

Стаття надійшла 14.11.2011 р.

EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS AND PREDICTORS OF RENEWAL OF FUNCTION OF LIVER AT INTRODUCTION OF CRYOPRESERVATION OF PLACENTA

Kondakov I., Zhulikova E., Yurchenko T., Sharlay T.

Introduction of allogenic cryopreservation placenta on a background spontaneous regress of experimental atherosclerosis, resulted in the acceleration of regeneration processes in the liver of experimental animals. There was an improvement of hemodynamics, the amount of binuclear hepatocytes diminished for certain, findings complement the before got results about the state of lipid metabolism.

Key words: atherosclerosis, cryopreservation placenta, binuclear hepatocyte.

УДК 577.15:546.492+546.732

С.І. Крижнй, Т.С. Сахарова

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАСТОСУВАННЯ АНТИОКСИДАНТІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПОРФІРИНОПАТІЇ

Вивчено показники метаболізму гему та доведено виникнення токсичного ураження печінки за умов експериментальної порфіринопатії. Означені зміни характеризувалися підвищенням концентрації АЛК та ПБГ, збільшенням активності в плазмі крові щурів індикаторів цитолізу, холестази і паренхімального запалення. Показано, що застосування всіх антиоксидантів достовірно поліпшувало перебіг патологічного процесу як за показниками АЛК та ПБГ, так і за показниками цитолітичної активності плазми крові. Проте найбільшу активність серед досліджуваних препаратів виявив предуктал. Доведено, що на тлі гострого свинцевого гепатиту предуктал має найвищий корегуючий вплив на показники активності цитолітичних ферментів і тимолової проби.

Ключові слова: АЛК, ПБГ, індикатори цитолізу, порфірія, предуктал.

Робота виконана у рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету “Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці (№ держ. реєстр. 010300909418).

За останній час зріс інтерес клініцистів до групи захворювань - порфірії, головним механізмом патогенезу яких є порушення одного з 8-ми етапів синтезу гема і, як наслідок накопичення його проміжних продуктів. Розрізняють печінкову і еритропоетичну форми порфірії [1]. Це, в свою чергу, зумовлює той факт, що патологічні процеси в печінці (запальні або токсичні) можуть призводити до найрізноманітніших клінічних проявів порфіринопатії, що і підтверджується клініцистами різних спеціалізацій [2, 3]. На сьогоднішній день існує перелік лікарських препаратів, побічними ефектами яких є гепатотоксичні ураження печінки та порушення синтезу гема. Застосування предуктала за даних умов, який стабілізує енергетичний метаболізм в клітинах і підтримує необхідний рівень аденозинтрифосфату всередині клітини [4] є, патогенетично обґрунтованим засобом фармакотерапії порфірії. Однак, не звертаючи уваги на так названу універсальність багатьох препаратів-антиоксидантів, ефективність більшості з них при різних захворюваннях неоднакова, а іноді і гіпотетична.

Метою роботи було порівняльне вивчення дії різних антиоксидантів [5] в умовах порушеного порфіринового обміну (свинцева інтоксикація) [6, 7, 8].

Матеріал і методи дослідження. Експерименти проведені на 30-ти нелінійних білих щурах-самцях масою 180-200 г, яких утримували на стандартному раціоні виварію, сталій температурі і вологості повітря. Щурів поділили на 5 груп по 6 тварин у кожній: 1-а група - інтактні тварини; 2 група - нелікований контроль, 3, 4, 5 групи - тварини з гострим порушенням порфіринового обміну, яких лікували токоферолом ацетату, предукталом, мексидолом. Препарати вводили через 24 години після моделювання порушення порфіринового обміну 1 раз на добу протягом 4 діб у дозах: токоферолу ацетат - 30 мг / кг, предуктал 1 мг / кг, мексидол - 100 мг / кг [4]. Порушення порфіринового обміну викликали підшкірними ін'єкціями оцтовокислого свинцю [7] дозами з розрахунку 2,5 мг на 100 г маси тварин і кожен день протягом 5 днів. У інтактних щурів і щурів з бензолним гепатитом і порушеним порфіриновим обміном визначали в плазмі крові і в печінці рівень δ-амінолевулінової кислоти (АЛК) і порфобіліногену (ПБГ). Рівень АЛК та ПБГ визначали в безбілковому центрифугаті за допомогою іонообмінної хроматографії. Кінцеве вимірювання АЛК і ПБГ проводили шляхом вимірюванням інтенсивності кольору їх продуктів в реакції з ртутним реактивом Ерліха. Про фармакотерапевтичну ефективність досліджуваних препаратів судили за активністю ферментів АЛАТ і АсАТ, лужної фосфатази (ЩФ), показником тимолової проби в