

УДК 616.36–02:615.246.2:546.26]–018

© Кузів О.Є., Бакалюк О.Й., Цетнар Л.Й., Кузів О.І., 2011

## ЕФЕКТИВНІСТЬ КОРЕКЦІЇ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТОЗУ ПОВНИМ ГОЛОДУВАННЯМ

Кузів О.Є., Бакалюк О.Й., Цетнар Л.Й., Кузів О.І.

*Тернопільський національний економічний університет, Тернопільська міська лікарня № 2*

**Кузів О.Є., Бакалюк О.Й., Цетнар Л.Й., Кузів О.І.** Ефективність корекції тетрахлорметанового гепатозу повним голодуванням // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 155-157.

Досліджували вільнорадикальні процеси (ПОЛ) і морфологію печінки за тетрахлорметанового гепатозу і його корекції повним голодуванням. Встановлено дві ланки патогенезу тетрахлорметанового гепатозу: метаболічну, яка супроводжується різкою активацією ПОЛ, та ішемічну, яка посилює процеси дистрофії і некрозу гепатоцитів і неофіброзоутворення. Корекція повним голодуванням сприяла нормалізації ПОЛ та збереженню структури гепатоцитів, покращуючи репаративні можливості та попереджуючи розвиток дистрофічних і некротичних змін і неофіброзоутворення в печінці за тетрахлорметанового гепатозу.

**Ключові слова:** тетрахлорметановий гепатоз, перекисне окислення ліпідів, електронна мікроскопія печінки, повне голодування.

**Кузів О.Є., Бакалюк О.І., Цетнар Л.І., Кузів О.І.** Эффективность коррекции тетрахлорметанового гепатоза полным голоданием // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 155-157.

Исследовали свободнорадикальные процессы (ПОЛ) и морфологию печени при тетрахлорметановом гепатозе и его коррекции полным голоданием. Установлено два звена патогенеза тетрахлорметанового гепатоза: метаболическое, которое сопровождается резкой активацией ПОЛ, и ишемическое, которое усиливает процессы дистрофии и некроза гепатоцитов и неофиброзообразование. Коррекция полным голоданием способствовала нормализации ПОЛ и сохранению структуры гепатоцитов, улучшая репаративные возможности и предупреждая развитие дистрофических и некротических изменений и неофиброзообразование в печени при тетрахлорметановом гепатозе.

**Ключевые слова:** тетрахлорметановый гепатоз, перекисное окисление липидов, электронная микроскопия печени, полное голодание.

**Kuziv O.Ye., Bakalyuk O.Yo., Tsetnar L.Yo., Kuziv O.I.** Effectiveness of tetrachlormethane hepatitis by complete fasting // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 155-157.

Processes of free radical lipid oxidation (FLI) and morphology of a liver at tetrachlormethane hepatitis and its correction by a complete fasting have been assessed. Two chains of pathogenesis of tetrachlormethane hepatitis have been determined: the metabolic chain that is accompanied by sharp activation of free radical lipid oxidation; and the ischemic chain that enhances the processes of dystrophy and necrosis of hepatocytes and neofibrous formations. The correction by a complete fasting promoted normalization of free radical lipid oxidation and conservation of hepatocytes' structure, improving recovering possibilities and prevents dystrophic and necrotic changes and neofibrous formations in the liver at tetrachlormethane hepatitis.

**Key words:** tetrachlormethane hepatitis, free radical lipid oxidation, electronic microscopic of liver, complete fasting.

**Вступ.** Хвороби печінки є одним із найбільш розповсюджених видів патології в клініці внутрішніх хвороб. За останні десятиліття екологічні зрушення, пов'язані із науково-технічним прогресом, привели до значного забруднення довкілля і продуктів харчування, що супроводжується стрімким зростанням частки, так званих хімічних, гепатозів, які вишикають внаслідок кумуляції в організм різних ксенобіотиків [11]. Печінка є бар'єром на шляху надходження токсичних речовин в організм, оскільки саме в ній відбувається метаболізм і знешкодження ксенобіотиків. Саме ця обставина і обумовлює те, що вона є органом-мішенню при дії токсичних хімічних речовин [2]. За частотою отруєнь хлоровани вуглеводи посідають друге місце серед уражень хімічними чинниками і викликають розвиток тяжких дистрофічно-некротичних змін у печінці [9]. Різні побічні ефекти і ускладнення, алергічні реакції, що викликаються медикаментозною терапією, а також мала її ефективність спонукають до пошуку нових, немедикаментозних (еферентних) методів лікування, в тому числі й розвантажувально-дієтичної терапії (РДТ). У клінічній практиці нагромаджено певний досвід, який підтверджує виражену терапевтичну ефективність РДТ при низці захворювань: психічних [7], алергічних [1], хронічних ураженнях гепатобілярної та гастродуоденальної систем [5].

Водночас, як впливає із даних літератури, ці методи лікування не знайшли достатнього експериментального обґрунтування, не розкриті патогенетичні ланки дії повного голодування на стан перекисного окислення ліпідів та морфофункціональний стан печінки, за умов її токсичного ураження тетрахлорметаном.

**Мета дослідження** – з'ясувати в експерименті особливості корегуючого впливу повного голодування на патогенетичні ланки ушкодження печінки тетрахлорметаном.

**Матеріали і методи дослідження.** Всі експерименти на тваринах проводили з дотриманням Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

Досліди виконані на 63 білих безпородних щурах масою 190–200 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію. Моделлю токсичного ураження печінки слугувала інтоксикація щурів тетрахлорметаном, який вводили підшкірно протягом 4 діб у вигляді 50 % розчину на олії в дозі 2 г/кг маси. Тварин із експерименту виводили через 1, 3, 7 та 14 добу.

Матеріалами дослідження були гомогенат печінки, плазма крові та тканина печінки.

Показники активності вільнорадикального

окислення ліпідів досліджували за показниками проміжних продуктів ПОЛ – концентрацією дієнових кон'югат (ДК) та кінцевого метаболіту – малонowego діальдегіду (МДА) [3].

Структурні зміни печінки вивчали на світлооптичному та електронно-мікроскопічному рівнях. Для проведення субмікроскопічного дослідження тканини печінки використовували стандартні методи електронної мікроскопії. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікромомі УМІТТ-7, контрастували цитратом свинцю за Рейнольдсом і досліджували за допомогою електронного мікроскопа ЕМВ-100АМ.

Отримані результати піддавали статистичному аналізу, а достовірність отриманих даних визначали, користуючись критерієм Ст'юдента. Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Excel (Microsoft, USA) на PC Pentium II.

**Результати та їх обговорення.** Гостре отруєння тварин тетрахлорметаном супроводжується суттєвою активацією процесів вільнорадикального

окислення (МДА, ДК) в плазмі крові та печінці уже на першу добу, однак найбільш вираженим воно було на 7-у добу експерименту. Так, вміст малонowego діальдегіду в плазмі крові підвищувався у 3,4 рази, у тканині печінки – у 4,6 рази проти даних інтактних тварин, рівень дієнових кон'югатів склав, відповідно, 2,8 і 2,5 рази (таблиця).

Морфологічне вивчення печінки при отруєнні щурів тетрахлорметаном підтвердило наростання процесів інтенсифікації вільнорадикальних процесів. У перші три доби мікроскопічно виявляли ознаки токсичного гепатозу (жирова дистрофія на фоні вакуольної в гепатоцитах центролобулярних ділянок часточок), електронно-мікроскопічно – вакуолізацію, фрагментацію і лізис каналців гранулярного ендоплазматичного ретикулулу і структурних компонентів комплексу Гольджі, різке просвітлення матрикса і редукцію крист та руйнування оболонки більшості мітохондрій, які ставали джерелом утворення мієліноподібних структур і вакуоль.

**Таблиця.** Вплив повного голодування на процеси перекисного окислення ліпідів плазми крові і тканини печінки тварин в динаміці тетрахлорметанового гепатозу ( $M \pm m$ )

Показник	Об'єкт дослідження	Інтактні тварини	Термін експерименту, доба							
			1		3		7		14	7 днів
			тетрахлорметан	тетрахлорметан + повний голод	тетрахлорметан	тетрахлорметан + повний голод	тетрахлорметан	тетрахлорметан + повний голод	тетрахлорметан	тетрахлорметан + повний голод
МДА	плазма, мкмоль/л	5,01 ± 0,14	8,11 ± 0,21 **	5,51 ± 0,11 **##	14,85 ± 0,14	12,45 ± 0,27 **##	16,93 ± 0,19 **	13,10 ± 0,21 **##	13,10 ± 0,91 **	5,34 ± 0,33 ##
	печінка, мкмоль/л	47,62 ± 0,41	81,91 ± 1,01 **	57,65 ± 1,06 **##	157,15 ± 1,17 **	134,77 ± 1,09 **##	217,01 ± 1,25 **	99,31 ± 1,17 **##	121,03 ± 1,19 **	48,72 ± 1,21 ##
ДК	плазма, $\times 10^3$ ум.од./л	1,81 ± 0,05	2,21 ± 0,18	1,32 ± 0,03 **##	4,92 ± 0,26 **	3,00 ± 0,03 **##	5,10 ± 0,32 **	2,63 ± 0,11 **##	3,71 ± 0,39 **	2,10 ± 0,15 #
	печінка, $\times 10^3$ ум.од./л	5,87 ± 0,19	6,37 ± 0,13	3,61 ± 0,09 **##	11,90 ± 0,01 **	9,26 ± 0,07 **##	14,97 ± 1,01 **	9,85 ± 0,71 **#	12,96 ± 0,91 **	7,26 ± 0,3 **##

**Примітка.** 1. Зміни достовірні відносно інтактних тварин, \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,001$ . 2. Зміни достовірні відносно уражених тварин, # –  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,001$ .

На 7-у добу експерименту виявляли перевагу некрозу гепатоцитів, який наростав від центру до периферії і викликав дисконфлексію пластинок у часточці. Не виключено, що розвитку некрозу гепатоцитів сприяє і безпосередній вплив токсичної речовини. Дистрофія і некроз центролобулярних та інтрамедіальних гепатоцитів поєднувалися із проявами регенерації. По периферії часточки збільшується кількість двоядерних гепатоцитів. На 14-у добу в печінці отруєних щурів альтеративні зміни продовжують домінувати над репаративними. Водночас спостерігається розвиток фібропластичних процесів (активація перисинусоїдних ліпоцитів (клітин Іто) і їхня трансформація в юні фіброласти), що приводить до нагромадження аморфних мікрофібрил і колагенових волокон у розширених перисинусоїдних просторах навколо васкулярних полюсів гепатоцитів, викликаючи “капіляризацію” синусоїдів і закріплюючи ішемію.

Як відомо, універсальним механізмом пошкодження біомембран є активація ПОЛ, дестабілізація і деструкція біомембран клітин печінки, що супроводжується зміною їх метаболізму. У відповідь на дистрофію і некроз гепатоцитів, що посилюються ендотоксикозом, активуються процеси

спотвореної регенерації, які поєднуються з мезенхімно-клітинною реакцією та інтенсивним неофіброзоутворенням. Водночас із зазначеними змінами відбувається перебудова судинного русла печінкової часточки, яка проявляється “капіляризацією” синусоїдів, обумовлена проліферацією і диференціацією клітин Іто в фіброласти, що, в свою чергу, посилює гіпоксію гепатоцитів. Остання стає провідною ланкою на 7-14 добу в патогенезі токсичного гепатозу і посилює процеси руйнування печінкових часточок. Одночасно, за зазначених умов, відбувається пригнічення функціональної активності зірчастих макрофагоцитів (клітин Купфера), про що свідчить дестабілізація і деструкція мітохондрій, ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі, різке зменшення лізосом і вільних рибосом, полісом у цитоплазмі, а також мікротрубочок вздовж цитолемі макрофагоцитів.

За результатами дослідження припускаємо, що в активації клітин Іто і трансформації їх в фіброласти відіграють роль два чинники: різке зростання ПОЛ, що співпадає з думкою О.М. Овчаренко і співавт. [8], У. Маріно et al. [11], та ішемія, що підтверджується роботами В.В. Садовникової і співавт. [9], А.П. Княсова, А.А. Гумерової [4]. Збіль-

пшення кількості клітин Іто, які ми виявляли за тетрахлорметанового отруєння, напевно, доцільно розглядати як одну із ланок компенсаторно-відновних реакцій органа, оскільки вони є основним джерелом компонентів міжклітинного матрикса, а також факторів стовбурових клітин і росту гепатоцитів, які приймають участь у репарації і диференціації печінкових клітин.

Зірчасті макрофагоцити з одного боку регулюють активність ПОЛ, а з іншого сповільнюють або попереджують розвиток фіброзних змін у печінці, що обумовлено міжклітинними взаємодіями (клітина Іто – клітина Купфера – гепатоцит) в межах перисинусоїдної функціональної одиниці.

За одностороннього голодування тварин з токсичним гепатозом спостерігалось достовірне ( $P < 0,05$ ) зменшення продуктів перекисного окислення ліпідів як в плазмі крові, так і в печінці, і було найнижчим на 7-у добу експерименту, наближаючись до норми на 7-у добу відновного періоду (14 доба експерименту) (див. табл.).

Механізм пригнічення повним голодуванням ПОЛ на тлі тетрахлорметанового гепатозу, ймовірно, реалізується двома шляхами: перший – зменшенням матеріалу для перекисації та редукцією гранулярної ендоплазматичної сітки гепатоцитів, другий – активовані клітини Купфера, пригнічуючи активність цитохром Р-450-залежних монооксигеназ, уповільнюють процеси токсифікації тетрахлоретану [6].

Стабілізація клітинних і внутрішньоклітинних мембран гепатоцитів внаслідок зменшення ПОЛ супроводжується покращанням структури мітохондрій та активацією синтетичних процесів у гепатоцитах, що знайшло своє відображення в структурі печінки. Світлооптично це проявлялося в різкому зменшенні кількості клітин із дистрофією та некротизованих, зростанням числа двоядерних і великих із світлими гіпохромними ядрами гепатоцитів на периферії часточок. Субмікроскопічно в цитоплазмі гепатоцитів виявляли значну кількість елементів гранулярної та агранулярної ендоплазматичної сітки, перекисом. Мітохондрії з добре збереженими мембранними компонентами локалізувалися впритул до каналців гранулярної ендоплазматичної сітки, що відображало тісний зв'язок між ендоплазматичною сіткою і мітохондріями. Частіше зустрічалися темні гепатоцити. Таким чином, під впливом повного голодування у тварин з токсичним гепатозом виявлені гістоструктурні зміни печінки, які свідчать про стимуляцію компенсаторно-адаптаційних процесів, покращення і відновлення білково-синтетичної функції і енергетичного обміну в гепатоцитах та мікроциркуляції.

**Висновки:** 1. Тетрахлорметановий гепатоз викликає активацію ліпоперекисації, що характеризується підвищенням у плазмі крові та тканині печінки концентрації проміжних (ДК) та кінцевого (МДА) продуктів ПОЛ, а повне голодування сприяє пригніченню процесів ПОЛ.

2. Морфологічні зміни печінки при тетрахлорметановому гепатозі на тлі повного голодування свідчать про пригнічення розвитку альтерації за одночасної стимуляції реституційної репарації гепатоцитів у поєднанні із затримкою розростання сполучної тканини внаслідок підвищеної функції

ональної активності зірчастих макрофагоцитів, за одночасної нормалізації морфофункціонального стану клітин Іто.

3. Виявлені морфофункціональні зміни печінки за впливу повного голодування на тлі тетрахлорметанового гепатозу можна вважати теоретичним підґрунтям для клінічної апробації немедикаментозної корекції проявів токсичного ураження органа.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Архий Э. И. Разгрузочно-диетическая терапия больных сочетанной патологией органов пищеварения с аллергическими осложнениями. / Э. И. Архий. – Ужгород, 1997. – 403 с.
2. Гонський Я. І. Корекція порушень вільнорадикальних процесів у щурів з токсичним ураженням печінки за допомогою металокомплексів / Я. І. Гонський, Р. М. Кубант // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія "Медицина". – 2001. – Вип. 15. – С. 6–10.
3. Гріднев О. Є. Перекисне окислення ліпідів і печінка / О. Є. Гріднев // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 5 (25). – С. 80–83.
4. Княсов А. П. Закономерности активации клеток Ито / А. П. Княсов, А. А. Гумерова // Морфология. – 2002. – Т. 121, № 2-3. – С. 71.
5. Кузів П. П. Разгрузочно-диетическая терапия некоторых хронических заболеваний гепатобилиарной и гастродуоденальной зон : автореф. дисс. на соискание ученой степени д-ра мед. наук : спец. 14.01.02 / П. П. Кузів. – Киев, 1993. – 43 с.
6. Михалків М. М. Корекція біохімічних змін у тварин з ураженнями печінки / М. М. Михалків // Медична хімія. – 2001. – Т. 2, № 2. – С. 59–61.
7. Николаев Ю. С. Краткая история развития лечения голодом и медико-биологическая характеристика / Ю. С. Николаев, Г. И. Бабенков // Разгрузочно-диетическая терапия бронхиальной астмы. – Д, 1978. – С. 6–17.
8. Овчаренко М. О. Електронно-мікроскопічні ознаки змін в тканині печінки у хворих на опіюїдну залежність, сполучену із хронічним гепатитом С / М. О. Овчаренко, І. К. Сосін, Л. А. Пінський [та ін.] // Український морфологічний альманах. – 2009. – Т. 7, № 2. – С. 119–122.
9. Садовникова В. В. Морфологические изменения в печени крыс при токсическом медикаментозном гепатите и стимуляции репаративных процессов / В. В. Садовникова, И. В. Садовникова, Н. А. Иванова // Морфология. – 2001. – Т. 120, № 6. – С. 63–65.
10. Соколова Н. А. Показники перекисного окислення ліпідів у хворих на стеатогепатит на тлі хронічного обструктивного захворювання легень пиллової етіології / Н. А. Соколова // Український медичний альманах. – 2010. – Т. 13, № 6. – С. 137–139.
11. Marino Y. Management of druginduced liver disease / Y. Marino, A. J. Limmerman // Cur. Gastr. Reports. – 2007. – Vol. 3. – P. 38–48.

Надійшла 07.09.2011 р.

Рецензент: проф. А.Д.Савенко