

**СУБМІКРОСКОПІЧНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ КОРЕКЦІЇ СТЕАТОЗУ
ГЕПАТОПРОТЕКТОРОМ АМІНОКИСЛОТНОГО ПОХОДЖЕННЯ****Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (м. Вінниця)****ek3727@gmail.com**

Дана робота є фрагментом НДР кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова «Органопротекторна ефективність та безпека метаболічних коректорів в терапії коморбідних патологічних станів», № державної реєстрації: 0114U000195.

Вступ. Різноманіття функцій печінки та можливість їх, до певної міри, парціального порушення при її захворюваннях істотно ускладнює завдання медикаментозної корекції відхилень в її діяльності. Напрямки лікування хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки (НАЖХП) ґрунтуються на механізмах розвитку захворювання, до яких, в першу чергу, відносяться синдром IP і окислювальний стрес [1].

В якості лікарських засобів, що сприяють нормалізації метаболічних процесів печінки та структурно-функціональної цілісності клітинних мембран гепатоцитів, широко застосовуються гепатопротекторні препарати, що мають антиоксидантну, мембраностабілізуючу, дезінтоксикаційну, жовчогінну, імуномодулюючу та інші види фармакологічної дії [4]. Гепатопротектори (деякі дослідники визначають їх як засоби метаболічної терапії) не мають етіотропної спрямованості, гетерогенні за своїм хімічним складом і справляють різні ефекти на метаболічні процеси в печінці [7]. На сьогоднішній день найбільш достовірні клінічні результати отримані при використанні адеметіоніна при алкогольній хворобі печінки [3]. Адеметіонін сприяє зниженню рівня білірубіну, активності аланінамінотрансферази (АлАТ) і гамма-глутамілтранспептидази, поліпшує якість життя хворих на НАЖХП [2]. Крім того, є дані, які свідчать про те, що адеметіонин збільшує виживаність хворих на алкогольний цироз печінки [5]. Експериментальні та клінічні дані свідчать про антиоксидантну та детоксикуючу дії адеметіоніна, а також про прискорення під його впливом регенерації печінкової тканини й уповільнення розвитку фіброзу. Незважаючи на фундаментальні відкриття останніх років в області гепатології, багато аспектів проблеми лікування та профілактики захворювань печінки залишаються не вивченими. На сьогодні актуальним є не тільки пошук нових ефективних і безпечних гепатозахисних препаратів, а й подальше експериментальне, клінічне та порівняльне вивчення особливостей фармакодинаміки й інтимних механізмів дії вже відомих гепатопротекторів [9].

Мета дослідження – дати характеристику електронно-мікроскопічних змін структурних компонентів печінки після лікування експериментального стеатозу гепатопротектором амінокислотного походження.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведені на 70 білих нелінійних щурах-самцях зрілого віку. На проведення експерименту отриманий дозвіл комісії з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

До початку експериментів тварин витримували на карантині протягом 10 діб. У цей період тварини отримували повноцінну стандартну напівсинтетичну крохмально-казеїнову дієту. В подальшому тварин розподілили на 2 групи: контрольна – 10 тварин, які продовжували перебувати на цій же дієті, та дослідну – 60 щурів, яким створювали модель стеатозу печінки, для чого протягом 8 тижнів утримували на гіперкалорійній дієті з високим вмістом жирів та високим вмістом холестерину, що містила близько 30% жиру (переважно насичені ліпіди) з додавання холестерину (отримували змішуванням 2 г холестерину та 10 г свинячого сала з 88 г гранул нормального збалансованого раціону) [8]. Після створення моделі стеатозу печінки тварин продовжували утримувати на високожировій дієті, проте частині тварин дослідної групи (30 щурів) вводили ще протягом 4 тижнів гепатопротектор адеметіонін в дозі 72 мг на кг маси тіла (доведений розчином Рінгера-Локка до 25мл/кг) внутрішньоочеревинно [6].

Тваринам контрольної та дослідної груп досліджували ультраструктурні зміни гепатоцитів та ендотеліоцитів судин мікроциркуляторного русла печінки. Тварин виводили з дослідження шляхом внутрішньо-плеврального введення тіопенталу-натрію в дозі 50 мг/кг. Для електронно-мікроскопічного дослідження кусочки печінки фіксували в 2,5%-ому розчині глутаральдегіду на 0,1 г фосфатному буфері та дофіксували в 1%-ому розчині чотириокису осмію на фосфатному буфері, 1% розчині танінової кислоти, зневоднювали в батареї спиртів зростаючої концентрації та ацетоні, проводили в сумішах ацетону та епону та заливали в суміш епону та аралдиту. Морфологічні структури контрастували в процесі зневоднення матеріалу насиченим розчином уранілацетату, а на зрізах – цитратом свинцю. Зрізи товщиною 40-60 нм, отримані на ультрамікромтомі УМТП-7, вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125 К.

Результати досліджень та їх обговорення. Проведені електронно-мікроскопічні дослідження показали, що при експериментальному стеатозі в печінці (дослідна група, тварини без лікування) на фоні порушення мікроциркуляції розвиваються значні зміни плазматичних, ядерних і внутрішньоклітинних мембран ендотеліоцитів та гепатоцитів. Дестабілізація та деструкція клітинних і органодіних мембран негативно впливає на метаболічні та функціональні можливості органу.

Електронномікроскопічні дослідження печінки тварин за умов корекції стеатозу гепатопротектором адеметіоніном показують, що спостерігаються зміни структурних компонентів часточок, але вони менші ніж у нелікованій підгрупі, наявні ознаки регенерації синусоїдних гемокапілярів та гепатоцитів.

Більшість гепатоцитів мають круглі ядра, чіткі контури ядерних мембран та ядерні пори. У помірної електронної щільності каріоплазмі переважає еухроматин. У частині ядер наявні крупні ядерця, в них добре виражені гранулярний та агранулярний компоненти, багато рибосомальних гранул.

У цитоплазмі гепатоцитів спостерігаються чисельні канальця гранулярної ендоплазматичної сітки, вони чітко контуровані, а просвіти частини з них розширені. На їх мембранах наявні рибосоми, а в гіалоплазмі полісоми. Дрібні канальця агранулярної ендоплазматичної сітки виявляються переважно у біліарних ділянках цитоплазми гепатоцитів. Цистерни диктіосом комплексу Гольджі також потовщені, біля них вакуолі та пухирці.

Субмікроскопічно у цитоплазмі гепатоцитів спостерігається багато мітохондрій, частина їх гіпертрофовані, проте відмічається гіперплазія органел. Великі мітохондрії мають подовгасту овальну форму, їх мітохондріальний матрикс помірної осміофільії, наявні чіткі кристи. Невеликі округлі мітохондрії також включають помірно електроннощільний матрикс, небагато чітких крист. Менше, порівняно з гепатоцитами печінки інтактних тварин, у цитоплазмі грудок глікогену. Також наявні безструктурні невеликі ділянки цитоплазми (рис. 1).

Наявні жовчні капіляри як з розширеними, так і помірними просвітами. Мікроворсинок багато, вони чіткі і добре виражені. Біля жовчних капілярів спостерігаються лізосоми, пероксисоми.

Ультраструктурні дослідження гемокапілярів печінки показали, що більшість з них з помірними просвітами, у яких спостерігаються форменні елементи крові: еритроцити, лейкоцити, тромбоцити. Ендотеліоцити в складі їх стінки мають типову подовгасту форму і будову. Добре виражені подовгасті з поодинокими, неглибокими інвагінаціями каріолеми ядра. Їх каріоплазма виповнена еухроматином. Каріолема має невеликі інвагінації, помірно потовщені ділянки перинуклеарного простору. Зовнішня і внутрішня ядерні мембрани чітко контуруються, перинуклеарні простори невеликі.

Ядерна частина цитоплазми заповнена невеликими за розмірами добре контурованими органелами. Цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки короткі, потовщені, на їх мембранах наявні рибосоми. Диктіосоми комплексу Гольджі спостерігаються

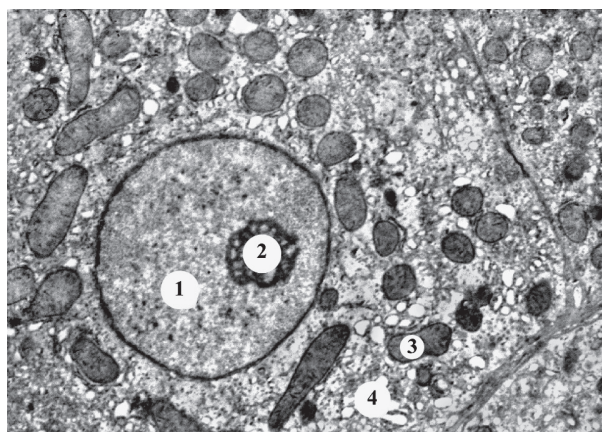


Рис. 1. Субмікроскопічний стан гепатоцитів часточки печінки тварини за умов корекції стеатозу гепатопротектором адеметіоніном. Кругле ядро (1) з ядерцем (2), мітохондрії (3), канальця гранулярної ендоплазматичної сітки (4). x 15 000.

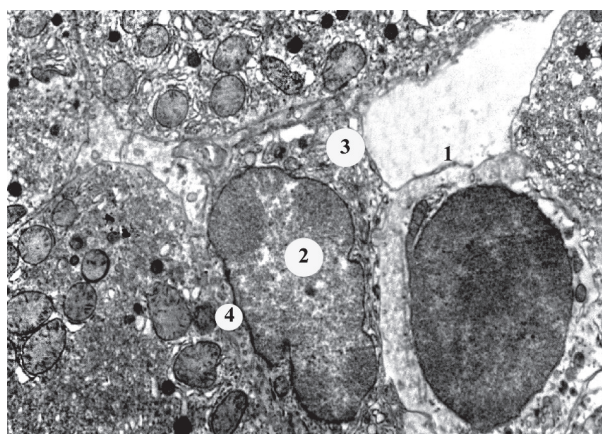


Рис. 2. Ультраструктура гемокапіляра в складі часточки печінки тварини за умов корекції стеатозу гепатопротектором адеметіоніном. Просвіт капіляра з лімфоцитом (1), ядро (2) і цитоплазма ендотеліоцита (3), мікроворсинки у просторі Діссе (4). x 14 000.

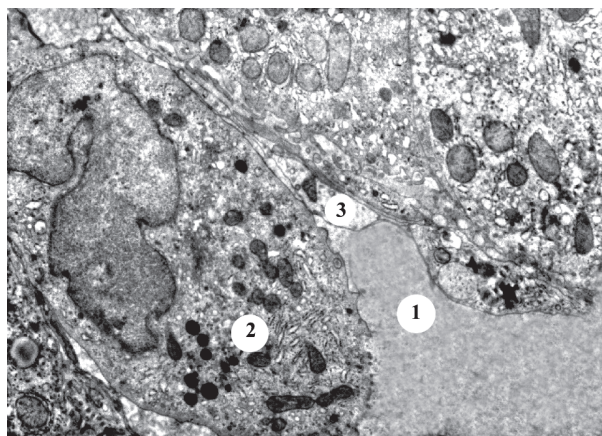


Рис. 3. Субмікроскопічна організація кровососного гемокапіляра в складі часточки печінки тварини за умов корекції стеатозу гепатопротектором адеметіоніном. Просвіт капіляра (1), макрофаг (2), цитоплазма ендотеліоцита (3). x 12 000.

рідко. Невеликі мітохондрії мають помірно осміофільний матрикс та небагато крист. У тонких цитоплазматичних ділянках ендотеліоцитів добре виражені перфорації.

Простори Діссе добре виражені, наявні місця їх розширення. Мікрворсинок з боку плазмолемі васкулярної ділянки гепатоцитів багато і вони чітко контуровані, але є ділянки де ворсинки частково пошкоджені (рис. 2).

Біля ендотеліоцитів в просвітах капілярів спостерігаються макрофаги, які мають неправильної форми ядра, значний об'єм цитоплазми, що включає органели загального призначення та осміофільні лізосоми. Їх плазмолема утворює мікрворсинки, цитоплазма-

тичні вирости (рис. 3). Така ультраструктура макрофагів відображає їх високі фагоцитарні можливості.

Висновки. Таким чином, електронномікроскопічні дослідження печінки тварин за умов корекції стеатозу гепатопротектором адеметіоніном встановили, що зміни структур органу менш виражені, ніж у тварин нелікованої групи. Використання препарату запобігає пошкодженню структурних компонентів часточок печінки, позитивно впливає на морфофункціональний стан органу.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому перспективно дослідити вплив ендотеліопротекторів на стан ендотелію синусоїдів печінки після моделювання стеатозу.

Література

1. Мехтиев С. Н. Неалкогольная жировая болезнь печени: клиника, диагностика и лечение / С.Н. Мехтиев, В.Б. Гриневич, Ю.А. Кравчук [и др.] // Лечащий врач. – 2008. – № 2. – Код доступа <http://www.lvrach.ru/2008/02/4829117/>.
2. Пивторак К.В. Вплив адеметіоніну на якість життя пацієнтів на неалкогольну жирову хворобу печінки / К.В. Пивторак // Матеріали VI міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених (Вінниця, 15 травня 2015 року) – Вінниця. – 2015. – С. 81.
3. Подымова С.Д. Возможности клинического использования адеметионина у больных с заболеваниями печени / С.Д. Подымова // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2010. – № 3. – С. 17-24.
4. Рациональная фармакотерапия в гепатологии / Под. ред. В.Т. Ивашкина, А.О. Буеверова. – М.: Литтерра, 2009. – 296 с.
5. Рачковский М.И. Новая модель прогноза летальности при циррозе печени вирусной и алкогольной этиологии [Текст] / М.И. Рачковский // Уральский медицинский журнал. – 2009. – № 1. – С. 19-24.
6. Суханов Д.С. Индукция эндогенного S-аденозил-L-метионина в гепатоцитах при фармакотерапии токсических и лекарственных поражений печени в эксперименте / Д.С. Суханов, А.Ю. Петров, А.Л. Коваленко [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т. 74, № 10. – С. 34-38
7. Яковлева О.О. Клінічна фармакологія лікарських засобів для лікування захворювань органів травлення / О.О. Яковлева, К.В. Пивторак, І.В. Феджага. – Вінниця: Нова Книга, 2012. – 240 с.
8. Kucera O. Experimental models of non-alcoholic fatty liver disease in rats / O. Kucera, Z. Cervinkova // World J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20, № 26. – P. 8364-8376.
9. Machado M.V. Non-alcoholic fatty liver disease: What the clinician needs to know / M.V. Machado, H. Cortez-Pinto // World J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20, № 36. – P. 12956-12980.

УДК 616.36-003.826:615.036.8

СУБМІКРОСКОПІЧНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ КОРЕКЦІЇ СТЕАТОЗУ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОМ АМІНОКИСЛОТНОГО ПОХОДЖЕННЯ

Пивторак К.В.

Резюме. В експерименті на білих щурах проведено вивчення ультраструктурного стану печінки. Дослідження показали, що при корекції стеатозу гепатопротектором адеметіоніном зміни структур органу менш виражені ніж у групі тварин, яких не лікували. Використання препарату запобігає пошкодженню структурних компонентів часточок печінки, позитивно впливає на морфофункціональний стан органу.

Ключові слова: стеатоз печінки, моделювання, лікування, адеметіонін, гепатоцит, електронна мікроскопія.

УДК 616.36-003.826:615.036.8

СУБМІКРОСКОПІЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ КОРРЕКЦИИ СТЕАТОЗА ГЕПАТОПРОТЕКТОРОМ АМИНОКИСЛОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Пивторак Е.В.

Резюме. В эксперименте на белых крысах проведено изучение ультраструктурного состояния печени. Исследования показали, что при коррекции стеатоза гепатопротектором адеметионином изменения структур органа меньше выражены, чем в группе животных, которых не лечили. Использование препарата предотвращает повреждение структурных компонентов долек печени, положительно влияет на морфофункциональное состояние органа.

Ключевые слова: стеатоз печени, моделирование, лечение, адеметионин, гепатоцит, электронная микроскопия.

UDC 616.36-003.826:615.036.8

Submicroscopic State of the Liver in the Correction of Steatosis Using the Hepatoprotector of Amino Acid Origin

Pivtorak K.V.

Abstract. Introduction. Many aspects of treatment and prevention of liver diseases remain unexplored despite the fundamental discoveries of recent years in hepatology. Today there is important not only the search for new ef-

fectiveness and safety of hepatoprotective drugs, also further experimental, clinical features and comparative studies of pharmacodynamics and mechanisms of action of known hepatoprotectors.

The purpose of the study -to characterize the electron microscopic changes in the structural components of the liver after treatment of experimental steatosis with hepatoprotector amino acid origin.

Materials and methods. Experimental studies was conducted on 70 white nonlinear male adulthood rats. The resolution of Bioethics Commission of Vinnitsa National Medical MI Pirogov memorial University for the experiment was obtained. By the beginning of experiments, the animals were kept in quarantine for 10 days. During this period the animals received a standard full-synthetic starch and casein diet. Later the animals were divided into 2 groups: control – 10 animals that continued to eat the same diet, and research – 60 rats, which were created a model of liver steatosis and were held for 8 weeks at hypercaloric diet with high fat and high cholesterol.

After creating animal models of hepatic steatosis we continued to feed high fat diet, and some of the animals of the experimental group (30 rats) were administered for another 4 weeks hepatoprotector ademetonin at a dose 72 mg per kg of body weight (supplemented by Locke-Ringer solution to 25 ml/kg) intraperitoneally. The animals of the control and experimental groups were examined for ultrastructural changes in hepatocytes and endothelial vascular microcirculation of the liver. The animals were taken out of the experiment by intra-pleural administration of thio-pental sodium 50 mg/kg.

Results and discussion. Most of hepatocytes have a round nucleus, clear contours nuclear membrane and nuclear pore. In karyoplasma with moderate electron density prevails euchromatin. Some nuclei with large nucleoli have well defined agranular and granular components, and there many ribosomal granules.

There are numerous tubules granular endoplasmic reticulum in the cytoplasm of hepatocytes. Tubules are clearly contoured and part of their gaps are expanded. Their membranes have ribosomes and hyaloplasm has polysomes.

There are both dilated and moderate lumens of bile capillaries. There are many microvilli, they are clear and well defined. Lysosomes and peroxisomes are near the bile capillaries.

Ultrastructural studies of hemocapillars of liver showed that the majority of them with moderate lumens in which there are blood cells, red blood cells, white blood cells and platelets. Endothelial cells within their walls have a typical elongated shape and structure. Kariolema nuclei is well defined, with few elongate, with shallow invaginations.

Conclusions. Thus, Electron microscope examination of the liver of animals in conditions of correction steatosis by hepatoprotector ademetonin found that changes in the structure of organ are less expressed than in the untreated group of animals. Use of the drug prevents damage to structural components of the liver lobules, positive impact on morphofunctional state of organ.

Keywords: hepatic steatosis, modelling, treatment, ademetonine, hepatocyte, electron microscopy.

Рецензент – проф. Костиленко Ю.П.

Стаття надійшла 22.07.2015 р.