

УДК 616.36-002.2:599.323.4:591.436:615

*Н.А. Рикало, Ю.М. Береговенко*

*Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова*

### **СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ТКАНИНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ХРОНІЧНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ ТА КОРЕКЦІЇ ЛІЗИНОПРИЛОМ**

Наведені структурні зміни тканини печінки щурів із хронічним токсичним гепатитом та при корекції лізиноприлом. Експериментальні дослідження проведені на 34 білих лабораторних статевонезрілих щурах з початковою масою тіла 50–70 г. Хронічний токсичний гепатит змодельований інтрагастральним введенням олійного розчину  $CCl_4$  в дозі 0,1 мл/100 г маси двічі на тиждень впродовж восьми тижнів. Паралельно із гепатотоксинами щодня інтрагастрально вводили лізиноприл в дозі 20 мг/кг. Показано, що ураження печінки олійним розчином  $CCl_4$  характеризується розвитком токсичної дистрофії, яка проявляється коагуляційними зональними некрозами гепатоцитів. Лізиноприл чинить протекторну дію переважно на гепатоцити, що проявляється меншими дистрофічно-некротичними змінами у клітинах.

**Ключові слова:** *хронічний токсичний гепатит, щури, лізиноприл, морфологічні зміни печінки.*

Відомо, що при хронічних дифузних хворобах печінки зміна її архітектоніки є результатом запалення й фіброзу і призводить до капіляризації синусоїдів гепатоцитів, підвищеного формування екстрацелюлярного матриксу і підвищеної резистентності гепатоцитів. Усе це утруднює печінковий кровотік і спричиняє портальну гіпертензію. Важливу роль в патогенезі хронічних дифузних хвороб печінки та їх ускладнень відіграє ренін-ангіотензинова система (РАС) [1]. Відомо, що впливаючи на ланки РАС за допомогою інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту (АПФ) або блокує ренін-ангіотензин (АТ) II, можна досягти позитивного терапевтичного ефекту [2, 3]. Проте необхідно підтримувати рівновагу між можливими сприятливими ефектами і потенційними побічними реакціями такої терапії, оскільки активуються компенсаторні механізми РАС, необхідні для підтримки адекватної гемодинаміки. Зокрема відомо, що АТ має важливе значення в прогресуванні неалкогольного стеатогепатиту. На сьогоднішній день відомо, що зірчасті клітини печінки, також відомі під назвою міофібробласти або клітини Іто, відіграють ключову роль у фіброгенезі печінки. Існують дані про те, що

АТ II запускає активацію і диференціювання цих клітин у міофібробласти. Більше того, АТ II сприяє скороченню міофібробластів, їх проліферації, запускає вивільнення прозапальних цитокінів, а також сприяє накопиченню екстрацелюлярного матриксу [4]. На сьогоднішній день вважається, що найбільш перспективним і багатообіцяючим напрямком у лікуванні фіброзу печінки є зменшення активності РАС, яка є однією з важливих ланок у патогенезі розвитку і прогресування фіброзу печінки.

Метою даної роботи було дослідити вплив лізиноприлу на структуру тканини печінки щурів на моделі хронічного токсичного гепатиту у щурів.

**Матеріал і методи.** Експериментальні дослідження проведені на 34 білих лабораторних статевонезрілих щурах з початковою масою тіла 50–70 г. Експерименти на тваринах здійснювали у відповідності до Правил проведення робіт з використанням лабораторних тварин (1977), положень «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), Директиви ЄС № 609 (1986) та Наказу МОЗ України від 01.11.2000 р. № 281 «Про заходи

щодо подальшого вдосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин».

Тварин перед початком експерименту було розподілено на три піддослідних групи по 8 особин у кожній. Перша група – інтактні щури (контроль), 2-га – з хронічним токсичним гепатитом, змодельованим інтрагастральним введенням олійного розчину  $CCl_4$  в дозі 0,1 мл/100 г маси двічі на тиждень впродовж восьми тижнів [5]. Тваринам 3-ї групи паралельно із гепатотоксинами щодня протягом шести тижнів у лікувально-профілактичному режимі інтрагастрально вводили лізиноприл (в дозі 20 мг/кг, «Астрафарм», Україна) [6]. Усіх тварин виводили з експерименту шляхом одномоментної цервікальної дислокації під тіопенталовим наркозом. Для гістологічного дослідження тканину печінки фіксували в 10%-му розчині забуференого нейтрального формаліну, дегідрували у спиртах зростаючої концентрації та заливали у целоїдин-парафін [7]. Виготовлення серійних парафінних зрізів товщиною 4–6 мкм здійснювали на санному мікроскопі. Забарвлення препаратів здійснювали гематоксиліном і еозином. Огляд і опис гістологічних препаратів проводили під збільшеннями об'єктива та окуляра від 100 до 800 разів під оптико-цифровим мікроскопом Bresser (Німеччина).

**Результати та їх обговорення.** Дослідженням тканини печінки за умови моделювання ХТГ при впливі олійного розчину  $CCl_4$  встановлено структурне пошкодження організації часточки. Центральні вени дещо розширювались, містили поодинокі еритроцити. Просвіти синусоїдів практично не візуалізувались, у їх збережених ділянках клітинні елементи не прослідковувались (рис. 1). Балкова організація гепатоцитів пошкоджувалась, переважна більшість клітин не мала чіткої структури, їх контури були стертими, розміри важко візуалізувались. Цитоплазма гепатоцитів усіх ділянок часточки була спустошеною, просвітленою або зернистою (рис. 1–3), що свідчить про розвиток вираженої білкової гіаліново-крапельної та гідропічної дистрофії з переходом у вогнищеві некрози (рис. 4). Окремі ядра зморщувались, зменшувались або зникали (рис. 3), проте в переважній більшості клітин вони візуалі-

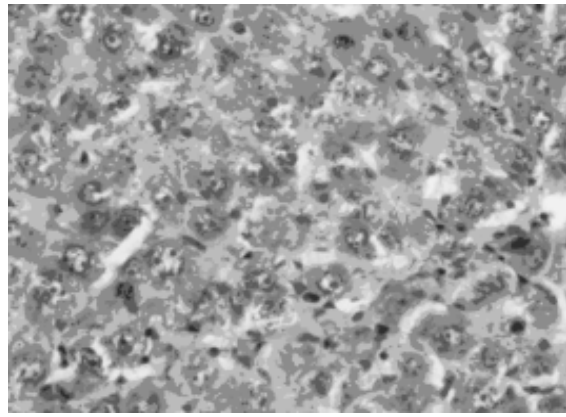


Рис. 1. Печінка щура з хронічним токсичним гепатитом. Порушення балкової організації гепатоцитів, стертість розмірів клітин і міжклітинних зв'язків при моделюванні хронічного токсичного гепатиту. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 200$

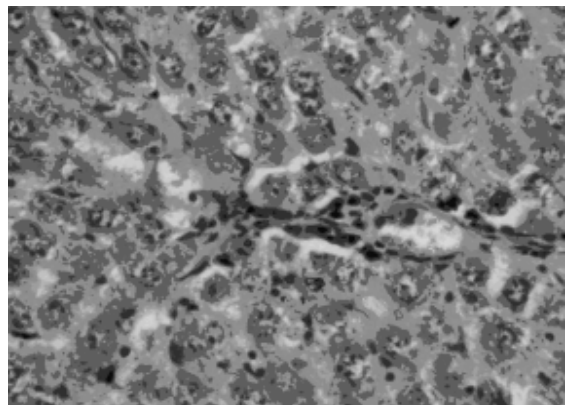


Рис. 2. Печінка щура з хронічним токсичним гепатитом. Вогнищева лімфо- та гістіоцитарна інфільтрація зони портальних трактів печінки тварин при моделюванні хронічного токсичного гепатиту. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 200$

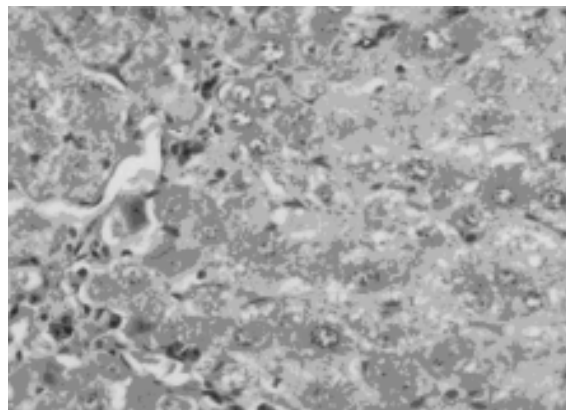


Рис. 3. Печінка щура з хронічним токсичним гепатитом. Виразені дистрофічно-некротичні зміни гепатоцитів, каріопікноз, каріорексис при моделюванні хронічного токсичного гепатиту. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 200$

зувались з розрихленим хроматином, множинними ядерцями. Міжклітинні зв'язки переважно втрачались.

Просвіти портальних трактів незначно розширювались, в основному за рахунок вогнищевої периваскулярної лімфо- та гістіоцитарної інфільтрації (див. рис. 2). Регенераторна активність клітин практично не візуалізувалася.

Корекція лізиноприлом токсичного ураження печінки сприяла зменшенню пошкоджуючого впливу  $CCl_4$ , що відображалось на структурних характеристиках.

Структура печінкової часточки залишалась збереженою частково. Мало місце нерівномірне кровонаповнення судин, яке супроводжувалось незначним розширенням центральних вен і судин портальних трактів (рис. 5–7).

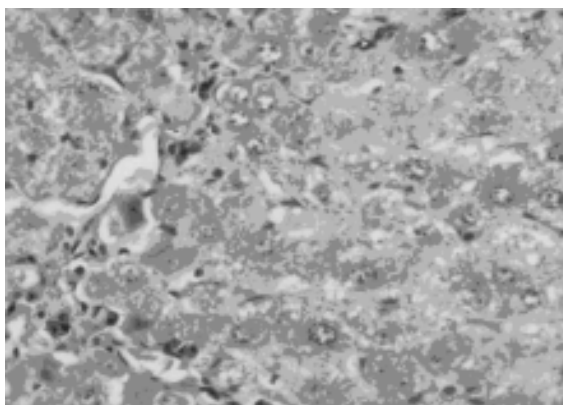


Рис. 4. Печінка щура з хронічним токсичним гепатитом. Вогнищеві некрози гепатоцитів печінки тварин при моделюванні хронічного токсичного гепатиту. Забарвлення гематоксилином і еозином,  $\times 200$

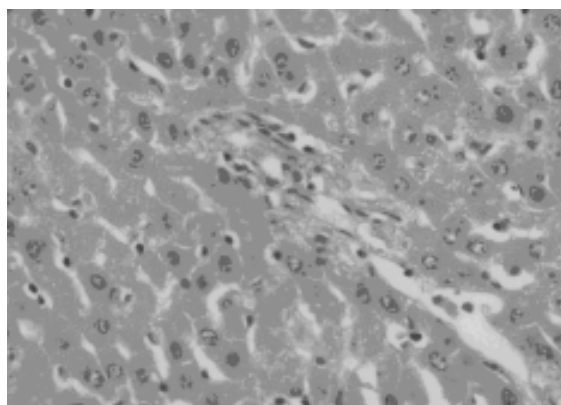


Рис. 5. Печінка щура з хронічним токсичним гепатитом при введенні лізиноприлу. Помірне розширення судин портальних трактів. Забарвлення гематоксилином і еозином,  $\times 200$

Синусоїди добре контурувались як в центроlobулярних зонах, так і в перипортальних ділянках (рис. 7). Гепатоцити в переважній більшості мали балкову організацію. Цитоплазма клітин мала дрібнозернисту, місцями гомогенну структуру, що свідчить про різке зменшення проявів білкової гіалінокрапельної дистрофії, проте в частини клітин, переважно перипортальних ділянок, дистрофічні зміни чітко виявлялися (див. рис. 6).

Переважаюча більшість гепатоцитів містили дещо гіпертрофовані ядра з розрихленим хроматином, з'являлись двоядерні клітини (рис. 8). Контури гепатоцитів дещо вирівнювались, міжклітинні контакти переважної більшості клітин залишалися збереженими.

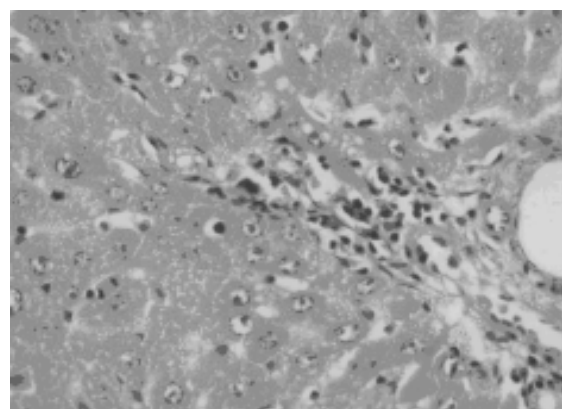


Рис. 6. Печінка щура з хронічним токсичним гепатитом при введенні лізиноприлу. Нерівномірне кровонаповнення судин портальних трактів, вогнищева лімфо- та гістіоцитарна інфільтрація периваскулярних просторів, дистрофічні зміни в гепатоцитах. Забарвлення гематоксилином і еозином,  $\times 200$

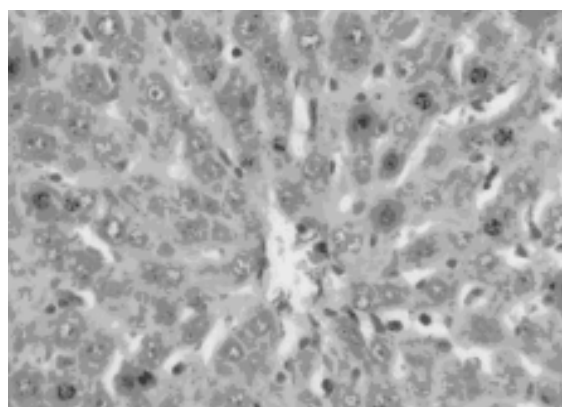


Рис. 7. Печінка щура з хронічним токсичним гепатитом при введенні лізиноприлу. Незначне розширення центральних вен, поодинокі макрофаги в просвітах синусоїдів, частково збережена балкова організація гепатоцитів, поява двоядерних гепатоцитів. Забарвлення гематоксилином і еозином,  $\times 200$

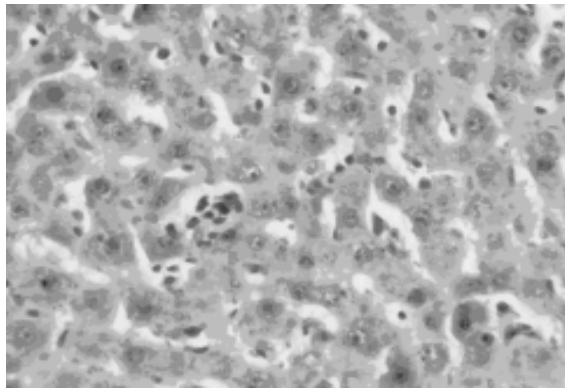


Рис. 8. Печінка щура з хронічним токсичним гепатитом при введенні лізиноприлу. Балкова організація гепатоцитів, поодинокі макрофаги в синусоїдах. Забарвлення гематоксиліном і еозином,  $\times 200$

Портальні тракти розширювались в основному за рахунок помірної периваскулярної лімфо- та гістіоцитарної інфільтрації. Жовчні протоки не візуалізувалися, холестазів не спостерігалось (див. рис. 6).

### Висновки

Моделювання хронічного токсичного ураження печінки олійним розчином  $\text{CCl}_4$  характеризується розвитком токсичної дистрофії, яка проявляється коагуляційними зональними некрозами гепатоцитів.

Лізиноприл чинить протекторну дію переважно на гепатоцити, що проявляється меншими проявами дистрофічно-некротичних змін у клітинах.

### Література

1. Liver disease and the renin-angiotensin system: recent discoveries and clinical implications / J.S. Lubel, C.V. Herath, L.M. Burrell, P.W. Angus // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2008. – № 23 (9). – P. 1327–1338.
2. *Бабак О.Я.* Фиброз печени: современные представления о механизмах, способах диагностики и лечения / О.Я. Бабак, Е.В. Колесникова, Н.А. Кравченко // *Сучасна гастроентерологія.* – 2009. – № 2. – С. 5–17.
3. *Коваленко В.М.* Серцево-судинні захворювання. Класифікація, стандарти діагностики та лікування / В.М. Коваленко, М.І. Лутай, Ю.М. Сіренко. – К.: Бізнес Поліграф, 2007. – 128 с.
4. *Драпкина О.М.* Особенности лечения артериальной гипертензии у больных с заболеваниями печени / О.М. Драпкина, Д.А. Тутнов // *Рос. мед. вестн.* – 2008. – № 3 (XIII). – С. 43–48.
5. Пат. 43704 України, МПК (2009) G09B 23/00. Спосіб моделювання хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів / Н.А. Рыкало, І.І. Незгода, В.А. Рауцкіс; власник Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – № u2009 03490; заявл. 10.04.09; опубл. 25.08.09. Бюл. № 16.
6. *Стефанов О.В.* Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / О.В. Стефанов. – К.: МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2001. – 527 с.
7. *Сорочинников А.П.* Гистологическая и микроскопическая техника: руководство / А.П. Сорочинников, А.Е. Доросевич. – Смоленск: САУ, 2000. – 476 с.

### *Н.А. Рыкало, Ю.М. Береговенко*

#### СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНИ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТА И КОРРЕКЦИИ ЛИЗИНОПРИЛОМ

Представлены структурные изменения ткани печени крыс с хроническим токсическим гепатитом и при коррекции лизиноприлом. Экспериментальные исследования проведены на 34 белых лабораторных неполовозрелых крысах с начальной массой тела 50–70 г. Хронический токсический гепатит смоделирован интрагастральным введением масляного раствора  $\text{CCl}_4$  в дозе 0,1 мл/100 г массы два раза в неделю на протяжении восьми недель. Параллельно с гепатотоксинами ежедневно интрагастрально вводили лизиноприл в дозе 20 мг/кг. Показано, что повреждение печени масляным раствором  $\text{CCl}_4$  характеризуется развитием токсической дистрофии, которая проявляется коагуляционными зональными некрозами гепатоцитов. Лизиноприл имеет протекторное действие преимущественно на гепатоциты, что проявляется меньшими дистрофично-некротическими изменениями в клетках.

**Ключевые слова:** хронический токсичный гепатит, крысы, лизиноприл, морфологические изменения печени.

*N.A. Rikalo, Y.M. Beregovenko*

**STRUCTURAL CHANGES IN LIVER TISSUE OF RATS WITH CHRONIC TOXIC HEPATITIS AND CORRECTION BY LISINAPRIL**

The article presents the structural changes of the liver tissue of rats with chronic toxic hepatitis and correction by Lisinopril. Experimental studies conducted on 34 white laboratory immature rats with an initial body weight 50–70 g chronic toxic hepatitis was modelling by intragastric administration of 0,1 ml/100 g weight CCl<sub>4</sub> oil solution twice a week for 8 weeks. Lisinopril at a dose of 20 mg/kg was introduced into the stomach simultaneously with hepatotoxin daily. The results presents that liver damage by oil solution CCl<sub>4</sub> characterized by the development of toxic dystrophy, manifested coagulation zonal necrosis of hepatocytes. Lisinopril has mainly protective effect on hepatocytes, shown smaller manifestations of dystrophic-necrotic changes in cells.

**Key words:** *chronic toxic hepatitis, rats, lisinopril, morphological changes in liver.*

*Поступила 15.04.16*