

Л. М. Шеремета, М. Б. Гайнюк, М. М. Багрій

## Вплив пектину яблучного на гістоструктуру печінки щурів й активність процесів ПОЛ за умов хронічної алкогольної інтоксикації

*Івано-Франківський національний медичний університет*

*Ключові слова: пектин яблучний, хронічна алкогольна інтоксикація, гістологічна структура печінки, процеси ПОЛ*

Алкоголізм – медична та соціальна проблема, є інвалідизуючою патологією й викликає пошкодження не тільки центральної нервової системи, але й інших органів та систем організму. Лікування алкоголізму, як і інших залежностей, спрямоване не тільки на позбавлення пацієнта нестримного бажання вживати алкоголь, але й на відновлення та покращання функцій серцево-судинної системи, печінки та шлунково-кишкового тракту в цілому та ін. [1]. До клінічного протоколу лікування алкогольної хвороби печінки на різних етапах включено пребіотики, тобто речовини, які не розщеплюються у верхніх відділах шлунково-кишкового тракту через відсутність у ньому специфічних ензимів [2]. Пектин є гетерополісахаридом, що складається з багатьох залишків галактуронової кислоти, має властивості пребіотика з  $\text{pH} = 3,3\text{--}3,7$ , у медичній практиці застосовується для зниження рівня холестерину та тригліцеридів, для лікування діабету та рефлюксної хвороби, детоксикації в разі отруєнь солями важких металів і для прискорення виведення радіонуклідів, а також входить до складу лікарських засобів як наповнювач. Побічні реакції на пектин за перорального застосування не відомі [3]. За АТС класифікацією пектин належить до групи А07ВС – інші кишкові адсорбенти [4]. У багатьох країнах проводяться дослідження протиракових властивостей пектину, у тому числі й клінічні [5].

*Мета дослідження* – з'ясувати вплив яблучного пектину на активність про-

цесів ПОЛ і гістоструктуру печінки щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією.

**Матеріали та методи.** Дослідження проведено на 35 білих рандомізованих щурах (самцях) масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію з вільним доступом до води. Дослідним тваринам вводили етанол (40 %) у шлунок протягом 28 днів натщесерце зондом з оливою з розрахунку 2 мл/100 г маси тіла 1 раз на 1 добу за стандартною методикою [6]. Порошок яблучного пектину застосовували в кількості 0,2 г/100 г маси тіла через 30 хв після введення алкоголю, а референтні препарати – порошок вугілля активованого та порошок діоксиду кремнію («біле вугілля») по 0,25 та 0,05 г/100 г маси тіла відповідно, розрахунки ізоефективних доз проводили за стандартною формулою [7]. Тварини були поділені на дослідні групи: 1 – інтактні; 2–5 – алкоголізовані: 2 – без лікування; 3 – з введенням пектину; 4 – з введенням активованого вугілля; 5 – з введенням діоксиду кремнію. Виведення тварин з експерименту проводили під тіопенталовим наркозом у дозі 40 мг/кг [8] на 28 добу експерименту. Гістологічні дослідження проводили за допомогою світлооптичного мікроскопа Leica DME (Німеччина) на гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном і еозином, з осягненням перивазальних, перипортальних і проміжних відділів часточок. З метою об'єктивізації досліджень проводили комп'ютерну морфометрію об'єктів у гістологічних препаратах [9]. На першому етапі отримували цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів за допомогою цифрової фотокамери Nikon Coolpix 4500 (Япо-

нія). У подальшому цифрові копії зображення аналізували за допомогою комп'ютерної програми Image Tool 3,0 for Windows (вільна ліцензія). Морфометричний аналіз печінки здійснювали з врахуванням наступних показників:

- 1) частка паренхіми у відсотковому співвідношенні;
- 2) кількість одноядерних нормальних клітин на 100 гепатоцитів;
- 3) кількість двоядерних нормальних клітин на 100 гепатоцитів;
- 4) кількість дистрофічно змінених клітин на 100 гепатоцитів;
- 5) кількість некротично-апоптично змінених клітин на 100 гепатоцитів;
- 6) середня площа гепатоциту;
- 7) частка синусоїдних капілярів у відсотковому співвідношенні;
- 8) частка сполучної тканини у відсотковому співвідношенні.

Півкількісну оцінку вмісту ліпідів і напівкількісну оцінку інтенсивності некротично-апоптичного процесу проводили за п'ятибальною системою, відповідно до якої: 1 бал – слабкі зміни, 2 бали – середні зміни, 3 бали – виразні зміни та 4 бали – дуже виражені зміни. Вивчали також наступні біохімічні показники: активність каталази (КТ) [10, 11], уміст дієнових кон'югатів (ДК) і чутливих до тіобарбітурової кислоти продуктів ПОЛ у сироватці крові [12, 13].

Статистичний аналіз результатів здійснено за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 5.5 (Multiple Regression) з використанням методів варіаційної статистики. Визначали середньоарифметичне значення ( $M$ ), стандартну похибку ( $m$ ), критерій Ст'юдента ( $t$ ), коефіцієнт вірогідності ( $p$ ). За вірогідні приймали значення  $p < 0,05$ .

Маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Європейської Конвенції щодо експериментів на тваринах.

**Результати та їх обговорення.** За хронічної інтоксикації етанолом на перший план виступають дистрофічні зміни печінкових клітин (рис. 1). Вони проявляються наявністю в цитоплазмі більшості гепатоцитів (74,40 клітини на 100 гепатоцитів) прозорих вакуолей різного розміру, здебільшого середньо-

го, зі злиттям останніх у більш крупні. Також відзначається найбільший ступінь накопичення вмісту ліпідів – 4,8 бала за півкількісною п'ятибальною шкалою.

Ліпідні включення візуалізуються в різних відділах класичних печінкових часточок: як у перипортальній зоні, так і проміжній і центральній. Контури гепатоцитів – нечіткі, межі клітин зливаються. Трабекулярна будова органу різко порушена через неправильні полігональні контури збільшених паренхіматозних клітин печінки. Частка паренхіми становить ( $87,73 \pm 6,13$ ) %. За даними морфометричного дослідження, середня площа гепатоцита становить ( $423,74 \pm 28,63$ )  $\mu\text{м}^2$ , середній периметр гепатоцита – ( $73,18 \pm 5,44$ )  $\mu\text{м}$ . Загалом кількість одноядерних нормальних клітин у даній дослідній групі є найменшою – 19,65 клітин на 100 гепатоцитів. За хронічної алкогольної інтоксикації, незважаючи на стрімке зростання кількості дистрофічно змінених гепатоцитів, кількість некротично-апоптично змінених клітин є порівняно невеликою – 2,13 клітини на 100 гепатоцитів. Некротично змінені клітини здебільшого з різко завуальованими, або відсутніми ядрами, з вакуолізованою та зернистою цитоплазмою, яка зазнає плазмореक्सису. Інтенсивність некротично-апоптичного процесу становить 0,8 бала за напівкількісною шкалою оцінки інтенсивності даного

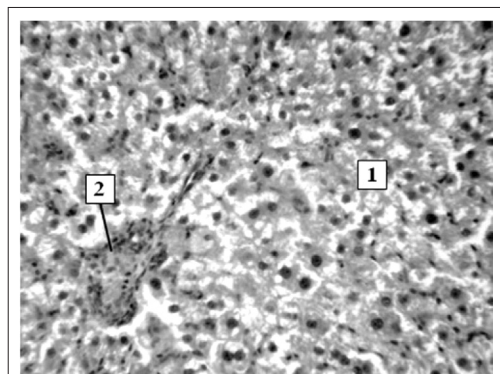


Рис. 1. Хронічна інтоксикація етанолом. Дисемінована різновакуольна жирова дистрофія гепатоцитів (1). Портальний тракт з незначно вираженим склерозом і макрофагально-лімфоцитарною інфільтрацією (2). Збарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 40

процесу. Відзначається значне зниження кількості двоядерних печінкових клітин – 4,82 клітини на 100 гепатоцитів, що близько до кількості таких клітин за гострої інтоксикації етанолом.

Застосування пектину за хронічної інтоксикації етанолом супроводжується різко вираженим регресом жирової дистрофії гепатоцитів – з 4,8 до 0,9 бала у разі півкількісної оцінки вмісту ліпідів. Відзначається зональність дистрофічно змінених гепатоцитів – здебільшого по периферії часточок у ділянці триади (рис. 2).

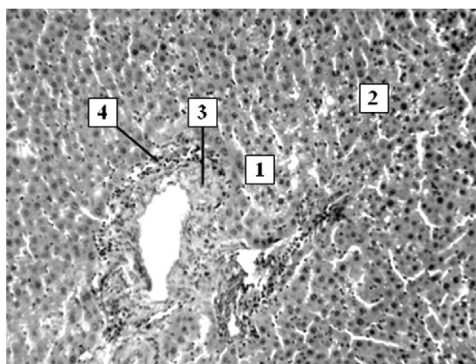
Застосування пектину за хронічної інтоксикації етанолом супроводжується зниженням інтенсивності некротично-апоптичного процесу – 0,1 бала проти 0,8 бала без застосування пектину. Кількість некротично-апоптично змінених клітин відповідно також є низькою – 0,94 клітини на 100 гепатоцитів.

Поряд зі зменшенням зворотних і незворотних пошкоджень паренхіматозних елементів печінки різко зростає кількість репаративних двоядерних гепатоцитів – з 4,82 у разі хронічної інтоксикації до 13,25 на 100 гепатоцитів у разі застосування пектину, що свідчить про активацію репаративних процесів у печінці. У сполучній тканині портальних трактів, частка якої ( $6,47 \pm 0,43$  %), зменшується кількість фібробластів, що свідчить про призупи-

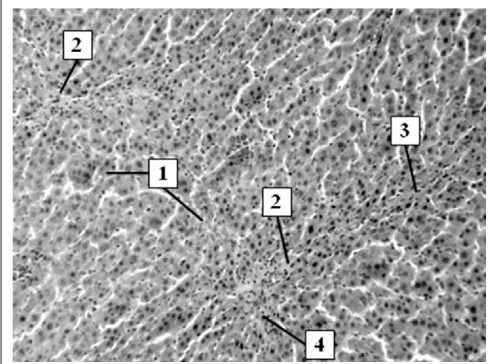
нення прогресування склеротичних змін у портальному полі. Також зменшується набряк у портальному полі та візуалізуються лише поодинокі макрофаги та лімфоцити (рис. 3). Портальні судини – без ознак плазматичного просякання, просвіти здебільшого заповнені еритроцитами.

Аналіз гістологічних препаратів печінки алкоголізованих щурів показав посилення жирової дистрофії, порушення трабекулярної будови, збільшення інтенсивності некротично-апоптичного процесу та значне зниження кількості двоядерних печінкових клітин, що вказує на пригнічення регенеративних процесів. За умов застосування пектину відзначається регрес жирової дистрофії, у сполучній тканині портальних трактів зменшується набряк і кількість фібробластів, що свідчить про призупнення прогресування склеротичних змін у портальному полі. Різко зростає кількість репаративних двоядерних гепатоцитів – з 4,82 за хронічної інтоксикації до 13,25 на 100 гепатоцитів у разі застосування пектину, що підтверджує активацію репаративних процесів у печінці.

Результати визначення активності процесів ПОЛ у сироватці крові дослідних тварин корелювали з даними, отриманими за гістологічного та морфометричного аналізу (таблиця).



*Рис. 2. Хронічна інтоксикація етанолом і застосування пектину. Зональна жирова дистрофія гепатоцитів у перипортальній зоні (1) і невелика кількість дистрофічно змінених гепатоцитів у проміжній зоні (2). Склероз у портальному полі (3) з поодинокими макрофагами та лімфоцитами (4). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 20*



*Рис. 3. Хронічна інтоксикація етанолом і застосування пектину. Синусоїдні гемокapіляри здебільшого заповнені кров'ю (1). Склероз портального тракту (2). Перипортальний склероз (3). Поодинокі макрофаги та лімфоцити у портальному полі (4). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 20*

**Показники біохімічного дослідження сироватки крові  
дослідних тварин ( $M \pm m$ ,  $n = 5-7$ )**

Дослідна група	Дієнові кон'югати, мкмоль/л	ТБК-АП, мкмоль/л	Активність каталази, мкмоль хв · мг білка
Інтактні	2,97 ± 0,09	4,43 ± 0,09	2,54 ± 0,12
Алкоголь 40 %	4,94 ± 0,23 <sup>1</sup>	5,46 ± 0,14 <sup>1,3</sup>	1,72 ± 0,09 <sup>1</sup>
Алкоголь + Пектин	3,44 ± 0,06 <sup>1,2</sup>	4,56 ± 0,08 <sup>2</sup>	2,74 ± 0,14 <sup>2</sup>
Алкоголь + Активоване вугілля	3,82 ± 0,09 <sup>1,2,3</sup>	5,17 ± 0,11 <sup>1,2,3</sup>	2,73 ± 0,12 <sup>2</sup>
Алкоголь + «Біле вугілля»	3,83 ± 0,16 <sup>1,2,3</sup>	4,96 ± 0,09 <sup>1,2,3</sup>	2,86 ± 0,08 <sup>2</sup>

Примітка. <sup>1</sup> $p < 0,05$  порівняно з інтактними тваринами, <sup>2</sup> $p < 0,05$  порівняно з нелікованими тваринами, <sup>3</sup> $p < 0,05$  порівняно з тваринами, лікованими пектином.

Збільшення рівня продуктів ПОЛ – ДК та ТБК-АП – спостерігали в усіх групах тварин, котрим вводили алкоголь, але, водночас, у групах, що отримували пектин і референтні препарати ці показники були вірогідно нижчими, ніж у нелікованих щурів. Крім того, застосування яблучного пектину сприяло достовірному пригніченню ліпопероксидації та зменшенню вмісту її продуктів у сироватці крові порівняно з іншими групами лікованих тварин. Активність ферменту антиоксидантного захисту каталази була виразно пригнічена тільки в нелікованих тварин ( $p < 0,05$ , таблиця).

Таким чином, яблучний пектин за введення в шлунок через 30 хв після етанолу спричиняє позитивний вплив і пригнічує розвиток хронічної алкогольної інтоксикації в експериментальних тварин. Планується подальше дослідження механізму дії й ефективності за умов гострої інтоксикації алкоголем.

## Висновки

1. Хронічна алкогольна інтоксикація призводить до розвитку жирової дистрофії гепатоцитів, порушення трабекулярної будови печінки, суттєвого зменшення кількості одноядерних

нормальних клітин і значного зниження кількості двоядерних печінкових клітин (4,82 клітини на 100 гепатоцитів).

2. Застосування пектину за хронічної інтоксикації етанолом супроводжується різко вираженим регресом жирової дистрофії гепатоцитів (з 4,8 бала у алкоголізованих до 0,9 бала у лікованих пектином) за півкількісної оцінки вмісту ліпідів. Відмічено зниження інтенсивності некротично-апоптичних процесів (0,1 бала проти 0,8 бала в нелікованих тварин), зростає кількість репаративних двоядерних гепатоцитів – з 4,82 без лікування до 13,25 на 100 гепатоцитів у разі застосування пектину, що свідчить про активацію репаративних процесів у печінці. Зменшення кількості фібробластів свідчить про призупинення прогресування склеротичних змін у портальному полі.

3. Застосування яблучного пектину достовірно сприяло виразному пригніченню ліпопероксидації та зменшенню вмісту ДК і ТБК-АП у сироватці крові порівняно з іншими групами лікованих тварин ( $p < 0,05$ ). Активність ферменту антиоксидантного захисту каталази була виразно пригнічена тільки в нелікованих тварин ( $p < 0,05$ ).

1. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги хворим на алкогольний гепатит [Електронний ресурс] // 2014 <http://ukrgastro.com.ua/wp-content/uploads/2015/11/alko-gepatit-abp.pdf>.
2. Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим на алкогольну хворобу печінки [Електронний ресурс] / Режим доступу: <http://medstandart.net/browse/1891>.
3. Drugs.com // <https://www.drugs.com/npp/pectin.html>
4. АТС – класифікатор – Державний формуляр лікарських засобів [Електронний ресурс] // Режим доступу: [preparaty.org/atc](http://preparaty.org/atc).



5. Leclere L. Anti-cancer activities of pH- or heat-modified pectin [Електронний ресурс] / Leclere L., Van Cutsem P., Michiels C. // Front. Pharmacol., 08 October 2013 / Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24115933>.
6. Халилов М. Х. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации / М. Х. Халилов, Ш. Я. Закиходжаев // Вопросы клиники алкоголизма: науч. тр. Ташкент. – 1983. – С. 38–41.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ: ВД «Авіцена», 2001. – 527 с.
8. bioethics.imbp.ru // <http://www.bioethics.imbp.ru/info/methods>.
9. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – Москва : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
10. Вплив L-аргініну та L-наме на морфологію еритроцитів периферійної крові щурів за умов алкогольної інтоксикації / Н. В. Єфіменко, К. П. Дудок, Н. І. Климишин, Н. О. Сибірна. [Електронний ресурс. – Режим доступу: <http://kaos.bsmu.edu.ua/article/viewFile/98159/93454>.
11. Каталаза в биологических средах организма человека и ее клинико-биохимическое значение в оценках эндотоксикоза [Електронний ресурс] / Н. В. Безручко, Г. К. Рубцов, Н. Б. Ганяева и др. – Режим доступу: <https://cyberleninka.ru/article/v/katalaza-biologicheskikh-sred-organizma-cheloveka-i-ee-kliniko-biohimicheskoe-znachenie-v-otsenke-endotoksikoza>.
12. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
13. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии; ред. В. Н. Орехович. – Москва : Медицина, 1977. – С. 57–59.
14. Сопоставление различных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И. А. Волчегорский, А. Г. Налимов, Б. Г. Яровинский, Р. И. Лифшиц // Вопросы медицинской химии. – 1989. – № 1. – С. 127–131.

**Л. М. Шеремета, М. Б. Гайнюк, М. М. Багрій**

### **Вплив пектину яблучного на гістоструктуру печінки щурів й активність процесів ПОЛ за умов хронічної алкогольної інтоксикації**

*Мета дослідження* – з'ясувати вплив яблучного пектину на активність процесів ПОЛ і гістоструктуру печінки щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією.

В експериментах відтворено модель хронічної алкогольної інтоксикації за введення 40 % етанолу в шлунок у дозі 2 мл/100 г маси тіла один раз на 1 добу протягом 28 діб. Яблучний пектин і референтні препарати – активоване вугілля та діоксид кремнію – вводили в шлунок через 30 хв після етанолу. Проводили гістоструктурний і морфометричний аналіз тканини печінки, визначення рівня дієнових кон'югатів (ДК) і ТБК-АП, активності каталази в сироватці крові.

Отримані результати показали, що яблучний пектин зменшував інтенсивність некротично-апоптичних процесів, пригнічував прогресування склеротичних змін у порталному полі та сприяв вираженому регресу жирової дистрофії гепатоцитів. Водночас відзначали активацію репаративних процесів у гепатоцитах. Вивчення впливу яблучного пектину на активність процесів ПОЛ показало виразне пригнічення ліпопероксидації – зменшення вмісту ДК і ТБК-АП у сироватці крові порівняно з іншими групами лікованих тварин ( $p < 0,05$ ) та відновлення активності ферменту антиоксидантно-го захисту – каталази.

Результати дослідження вказують на здатність яблучного пектину зменшувати прояви хронічної алкогольної інтоксикації шляхом регресу дистрофічних і пригнічення некротичних і склеротичних процесів з одночасним відновленням репаративних змін у клітинах печінки. Перелічені ефекти ймовірно, пов'язані як з його сорбційними властивостями, так і частковою нейтралізацією етанолу.

*Ключові слова:* пектин яблучний, хронічна алкогольна інтоксикація, гістологічна структура печінки, процеси ПОЛ

**Л. М. Шеремета, М. Б. Гайнюк, М. М. Багрій**

### **Влияние яблочного пектина на гистоструктуру печени крыс и активность процессов ПОЛ в условиях хронической алкогольной интоксикации**

*Цель исследования* – выяснить влияние яблочного пектина на активность процессов ПОЛ и гистоструктуру печени крыс с хронической алкогольной интоксикацией.

В экспериментах воспроизведена модель хронической алкогольной интоксикации при введении 40 % этанола в желудок в дозе 2 мл/100 г массы тела 1 раз в 1 сутки в течение 28 суток. Яблочный пектин и референтные препараты – активированный уголь и диоксид кремния – вводили в желудок через 30 мин после этанола. Проводили гистоструктурный и морфометрический анализ ткани печени, определение уровня диеновых конъюгатов (ДК) и ТБК-АП, активности каталазы в сыворотке крови.

Полученные результаты показали, что яблочный пектин уменьшал интенсивность некротически-апоптических процессов, подавлял прогрессирование склеротических изменений в порталном

---

---

поле и способствовал выраженному регрессу жировой дистрофии гепатоцитов. В то же время отмечали активацию репаративных процессов в гепатоцитах. Изучение влияния яблочного пектина на активность процессов ПОЛ показало отчетливое угнетение липопероксидации – уменьшение содержания ДК и ТБК-АП в сыворотке крови по сравнению с другими группами леченных животных ( $p < 0,05$ ) и восстановление активности фермента антиоксидантной защиты – каталазы.

Результаты исследования указывают на способность яблочного пектина уменьшать проявления хронической алкогольной интоксикации путем регресса дистрофических и угнетения некротических и склеротических процессов с одновременным восстановлением репаративных процессов в клетках печени. Перечисленные эффекты, вероятно, связаны как с его сорбционными свойствами, так и частичной нейтрализацией этанола.

*Ключевые слова: пектин яблочный, хроническая алкогольная интоксикация, гистологическая структура печени, процессы ПОЛ*

**L. M. Sheremeta, M. B. Haynyuk, M. M. Bagriy**

### **The influence of apple pectin on the rat's liver histological structure and activity of the lipid peroxidation in experimental chronic alcohol intoxication**

*The aim of study was to determine the effect of apple pectin on the activity of the lipid peroxidation (LP) and histological structure of the liver in rats with chronic alcohol intoxication.*

Chronic alcohol intoxication was performed by introduction of 40 % ethanol in the stomach at a dose of 2 ml/100 g body weight once a day during 28 days on rats. Apple pectin and reference sorbents – activated charcoal and silicon dioxide – were administrated into the stomach in 30 min. after ethanol. Histological structure and morphometric analysis of liver tissue, determination of the level of diene conjugates (DC) and TBA-AP, and catalase activity in serum were investigated.

The results obtained showed that apple pectin reduced the intensity of necrotic-apoptotic processes, suppressed the progression of sclerotic changes in the portal field, and contributed to a pronounced regression of fatty degeneration of hepatocytes. At the same time, the activation of reparative processes in hepatocytes was noted. The study of the influence of apple pectin on the activity of the LP processes showed a marked suppression of lipoperoxidation – a decrease in the content of DC and TBA-AP in serum compared with other groups of treated animals ( $p < 0,05$ ) and restoration of catalase activity.

The results of our study indicate the ability of apple pectin to reduce manifestations of chronic alcohol intoxication by regressing dystrophic and inhibition of necrotic and sclerotic processes, while simultaneously restoring reparative changes in liver cells. These effects are probably related both to its sorption properties and to the partial neutralization of ethanol.

*Key words: apple pectin, chronic alcoholic intoxication, liver histological structure, lipid peroxidation (LP)*

---

*Надійшла: 23 лютого 2018 р.*

**Контактна особа:** Шеремета Л. М., Івано-Франківський національний медичний університет, буд. 2, вул. Галицька, м. Івано-Франківськ, 76018. Тел.: + 38 0 342 53 32 95.