

ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ЕКСТРАКТІВ З ЕМБРІОНІВ КУРЕЙ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕПАТИТУ

Кузнецова В.Г.

Харківська державна зооветеринарна академія

В роботі досліджували вплив екстрактів та кріоекстрактів з ембріонів курей на гістоморфологічні показники печінки щурів з експериментальним субхронічним токсичним гепатитом. Показано, що введення лабораторним тваринам екстрактів сприяло поліпшенню функціонального стану гепатоцитів. Зменшувались прояви цитодеструктивних процесів. Відбувалось гальмування процесів перекисного окиснення ліпідів. Екстракти, що досліджували, стимулюють репараційні процеси в печінці і прискорюють структурно-функціональне відновлення органу.

Ключові слова: екстракти з ембріонів курей, печінка, перекисне окиснення ліпідів, гепатоцити, морфологічні зміни.

Постановка проблеми. Гострі та хронічні захворювання шлунково-кишкового тракту займають одне з перших місць серед патологій, як у дорослих, так і у дітей. 15-21% населення мають патологію печінки. Тому актуальним є пошук нових лікарських засобів для корекції таких патологій.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Для корекції патологій печінки застосовують антиоксиданти, що за рахунок антиоксидантних, мембранстабілізуючих, судинокріплюючих та протизапальних властивостей нормалізують активність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та відновлюють функцію антиоксидантної системи. Відомо, що в процесах регенерації печінки беруть участь всі клітини органу, виконуючи свої клітинно-специфічні функції і синтезуючи міжклітинні сигнальні молекули для взаємної координації функцій на кожному етапі процесу. Ці сигнальні молекули представлені переважно цитокінами та ейкозаноїдами [2, с. 153; 3, с. 20; 4, с. 75; 8, с. 210, 11, с. 270].

Антиоксидантами є біологічно активні речовини синтетичного, рослинного та тваринного походження. Серед препаратів тваринного походження виділяються ембріональні препарати, а саме екстракти з ембріонів курей [4, с. 75]. Відомо, що екстракти, отримані за допомогою методів кріодеструкції, є більш ефективними, ніж екстракти, що було отримано з цільних ембріонів [6, с. 36].

Беручи до уваги все вищесказане, необхідний пошук нових лікарських засобів, які надають поєднану гепатопротекторну, антиоксидантну та імунomodуючу дію, сприяють поліпшенню мікроциркуляції і як наслідок стимулюючих репаративної-регенеративні процеси. [10, с. 215; 12, с. 141; 13, с. 39].

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми. Спираючись на літературні дані про здатність екстрактів з ембріонів курей корегувати порушення печінки [5, с. 115; 7, с. 65] доцільним було дослідження здатності екстрактів з ембріонів курей впливати на процеси цитолізу, ПОЛ та антиоксидантного захисту у щурів в умовах субхронічного ураження печінки.

Мета статті. Метою данного дослідження було гістоморфологічне вивчення гепатопротекторної та антиоксидантної активності екстрактів з ембріонів курей.

Викладення основного матеріалу. Експеримент проводили на білих нелінійних щурах масою 180-220 г. Згідно з методичними рекомендаціями [11, с. 270], субхронічний гепатит викликали внутрішньошлунковим введенням етанолу та тетрахлорметану щурам протягом 6 діб за наступною схемою: 1 – 50% масляний розчин тетрахлорметану в дозі 0,4 мл/100 г маси тіла; 2 – через 2 години 40% розчин етанолу в дозі 1,3 мл/100 г маси тіла.

Екстракти отримували з ембріонів 9 діб розвитку з використанням гомогенізації, центрифугування та фільтрації. З цільних ембріонів отримували екстракт (Е), а з ембріонів, що заморожували в рідкому азоті – кріоекстракт (КЕ) [6, с. 36]. Отримані Е та КЕ вводили щурам через 2 години після введення етанолу протягом 6 діб [11, с. 270].

Функціональний стан печінки щурів оцінювали за допомогою таких показників, як виживаність тварин, динаміка маси тіла та печінки [11, с. 270].

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації. Підготовка матеріалу до гістологічного дослідження для отримання постійного гістологічного препарату включала: 1) фіксацію матеріалу 10% розчином формаліну; 2) зневоднення, що проводили послідовним зануренням матеріалу в розчини етанолу різної концентрації; 3) заливку матеріалу проводили шляхом просочування розплавленим парафіном; 4) приготування гістологічних зрізів за допомогою мікротому; 5) фарбування зрізів гематоксилином та еозином після їх монтування на предметне скло та видалення з них парафіну [11, с. 270].

Готові препарати досліджували з використанням методу світлової мікроскопії (мікроскоп CARL ZEISS JENA) [1, с. 347].

Результати дослідження свідчать про те, що у тварин в групі контрольної патології формується токсичне ураження печінки, що обумовлено пероксидазною та мембранушкоджуючою дією тетрахлорметану і етанолу (таблиця 1). Це підтверджується летальністю щурів, що склала 35%; зниженням маси тіла на 5% та збільшенням маси печінки. Зміни достовірні по відношенню до групи інтактного контролю.

Е та КЕ в дозі 2 мл/кг та препарати порівняння Карсил в дозі 25,2 мг/кг та Ербісол в дозі 2 мл/кг сприяють відновленню гемодинаміки і трофічних процесів в печінці щурів, на тлі субхронічного гепатиту, що викликаний введенням тетрахлорметану та етанолу. Маса тіла тварин на 7-у добу експерименту відповідала вихідним даним, в той час, як маса тіла щурів групи контрольної патології знизилась на 5%. Слід зазначити, що Ербісол мало знижував масу печінки, що свідчить про його незначні протизапальні властивості. Е, КЕ та Карсил достовірно знижували масу печінки щурів, що вказує на їх протизапальну активність в обраній дозі (таблиця 1).

Гістологічна картина препаратів інтактної печінки тварин демонструє типову трабекулярну будову печінкових часточок з радіальним розташуванням печінкових балок навколо центральних вен, зони триад без особливостей. Судини органу з нормальним кровонаповненням. Клітини печінки нормальної форми і розміру, без ознак дистрофії. Мікроскопічне дослідження гістологічних препаратів печінки у тварин на першу добу після введення

Таблиця 1

Динаміка маси тіла, виживаемість та маса печінки в умовах субхронічного гепатиту ($M \pm m$, $n=5$)

Умови експерименту	Показники				
	Маса тіла на початку експерименту, г	Маса тіла в кінці експерименту, г	Динаміка маси тіла, %	Виживаемість, %	Маса печінки, г
Інтактний контроль	193,13 \pm 2,66	207,50 \pm 5,17	+7,5	100	6,48 \pm 0,12
Контрольна патологія	210,00 \pm 1,29*	200,00 \pm 2,89	-5,0	65	10,16 \pm 0,48*
Е, 2 мл/кг	202,45 \pm 2,37*	205,83 \pm 3,25	0	90	8,65 \pm 0,35*/**
КЕ, 2 мл/кг	206,14 \pm 2,57*	204,73 \pm 3,11	0	90	7,95 \pm 0,24*/**
Ербісол, 2 мл/кг	208,33 \pm 3,80*	206,41 \pm 1,86*	0	75	9,73 \pm 0,24*/**
Карсил, 25,2 мг/кг	186,88 \pm 2,86*	182,50 \pm 3,54*	0	100	7,74 \pm 0,29*/**

Примітки:

* – відхилення достовірне відносно групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$).** – відхилення достовірне відносно групи контрольної патології ($p \leq 0,05$).

Джерело: розроблено автором.

тетрахлорметану та етанолу виявило деструктивно-дистрофічні зміни в паренхімі печінки (рис. 1).

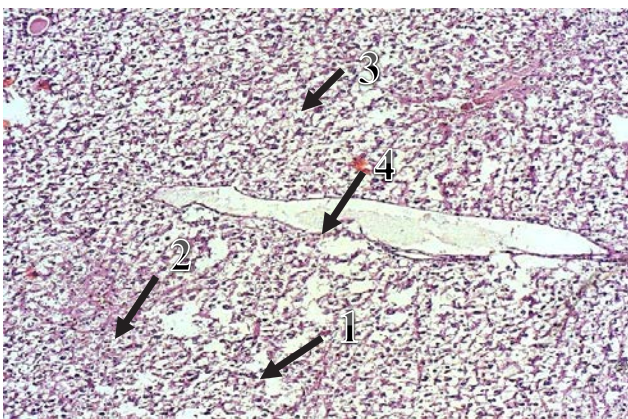


Рис. 1. Гістологічний зріз печінки щура з експериментальним гепатитом на першу добу
1 – ділянки некрозу, 2 – часточкова структура органу відсутня, 3 – гепатоцити з дегенеративними змінами, 4 – дилатація судів. Забарвлення гематоксилином та еозином (об. 20, ок. 10)

Джерело: розроблено автором

Капсула печінки розшарована, широка і містить більше фіброblastів у порівнянні з нормою. Трабекулярна структура печінки після моделювання гепатиту порушена (рис. 1), про що свідчить неупорядкований хід трабекул.

В паренхімі органу реєструються ділянки некрозу і розширені синусоїди. У синусоїдах у великій кількості виявлена інфільтрація ендотеліоцитів. Спостерігається порушення архітекtonіки, що проявляється в зміні часточкової структури органу – часточки слабо виражені або зовсім відсутні.

У паренхімі органу щурів відзначено розростання фіброзної тканини. Через дифузне розростання сполучної тканини утворилися хибні часточки, усередині яких реєструються сполучнотканинні тяжі. Артерії органу розширені, навколо центральних вен виявлено застій крові і гемосидероз, що в свою чергу є маркером руйнування еритроцитів. Необхідно відзначити той факт, що відкладення гемосидерину спостерігалося місцями і в паренхімі печінки. Це свідчить про крововиливи. В області судин зустрічаються скупчення лімфоцитів. Капіляри в основному заповнені лімфоцитами і гемосидеріном. Жовчні протоки і капіляри переповнені жовчю, отже, в даний термін спостереження функціональна активність печінки знижена, і відтік жовчі порушений. Виявлені зміни призводять до внутрішньопечінкового холестазу, який розвивається при ураженні парен-

хіми печінки або жовчних проток. Також на першу добу після введення щурам тетрахлорметану та етанолу в печінці тварин реєструється виражена дилатація судин, їх просвіти збільшені і тромбовані. Виникає порушення кровопостачання органу.

Виявляються гепатоцити з дегенеративними змінами: клітини різного розміру, глікоген в цитоплазмі не реєструється або реєструється в незначній кількості. В основному, переважають гепатоцити з балонною дистрофією, місцями реєструється некроз клітин, більшість з них мають пікнотичні ядра або зовсім без ядер. Зміни структури гепатоцитів є показником порушення метаболічної активності органу.

Гістологічне дослідження зрізів печінки у тварин, яким після моделювання гепатиту вводили Е в дозі 2 мл/кг, показало, що на першу добу експерименту архітекtonіка печінки практично ідентична з контрольною (рис. 2).

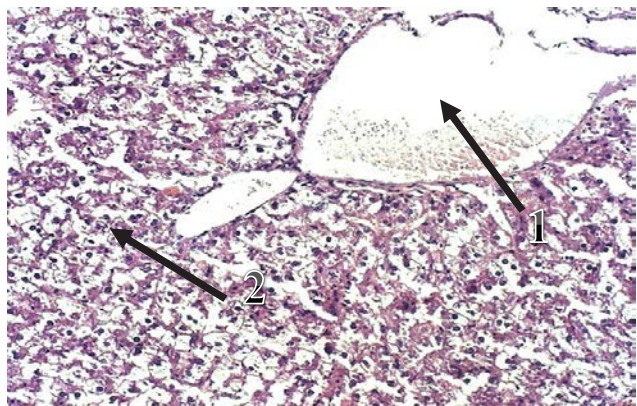


Рис. 2. Гістологічний зріз печінки щура з експериментальним гепатитом після введення Е на першу добу
1 – трабекулярна будова порушена, 2 – дилатація судів. Забарвлення гематоксилином та еозином (об. 20, ок. 10)

Джерело: розроблено автором

У цитоплазмі гепатоцитів дослідної групи щурів реєструється більша кількість глікогену у порівнянні з контролем. Центральні вени менш дилатовані, а стінки судин вистелені ендотеліальними клітинами. В судинах і навколо порталних трактів відзначена інфільтрація лейкоцитів (рис. 3). Поряд з цим синусоїди розширені, визначаються хибні часточки, в сполучній тканині органу відзначено скупчення лімфоцитів і гемосидерину. Вже на першу добу після введення Е в печінці тварин спостерігаються морфологічні зміни, що свідчить про ознаки регенеративних процесів в пошкодженому органі.

На відміну від контролю, в паренхімі печінки виявлені не тільки гепатоцити з дистрофічними змінами, але й з регенеративними ознаками. Так на тлі клітин з пікнотичними ядрами і клітин невеликих розмірів реєструються гіпертрофовані гепатоцити з великими і добре вираженими ядрами (рис. 3).

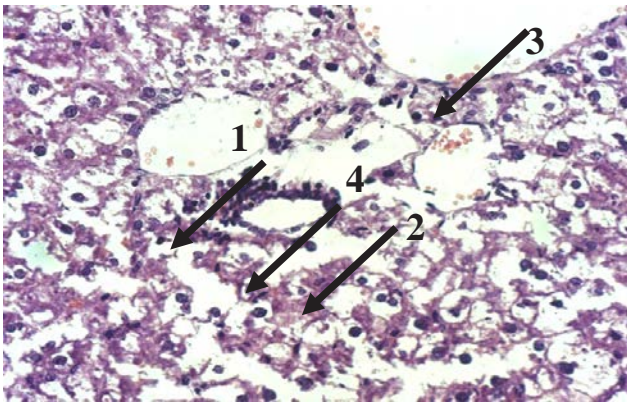


Рис. 3. Гістологічний зріз печінки щура з експериментальним гепатитом після введення Е на першу добу

1 – помірна дилатація вен, 2 – дилатація артерій, 3 – фіброзна тканина, 4 – інфільтрація лейкоцитами навколо судів. Забарвлення гематоксилином та еозином (об. 40, ок. 10)

Джерело: розроблено автором

Під час дослідження зрізів печінки щурів, що отримували КЕ в дозі 2 мл/кг було виявлено зміни аналогічні до морфологічних змін в печінці тварин, що отримували Е (рис. 4).

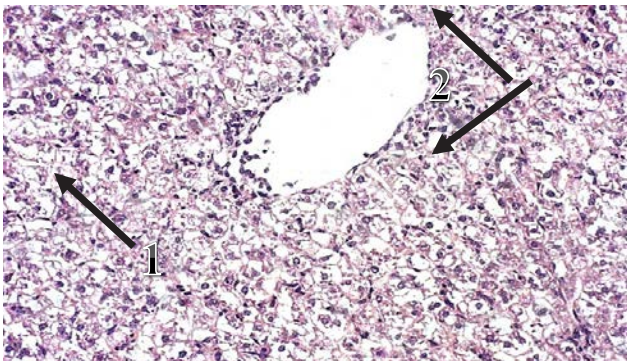


Рис. 4. Гістологічний зріз печінки щурів з експериментальним гепатитом після введення КЕ на першу добу

1 – тканини печінки мають порушення архітекτονіки; 2 – дилатація судин. Забарвлення гематоксилином та еозином (об. 20, ок. 10)

Джерело: розроблено автором

Відмінність було відзначено в тому, що тромбоз печінкових судин було виражено менше. В цілому, в даній групі тварин також була відзначена тенденція до нормалізації будови печінкової тканини.

Мікроскопічне дослідження препаратів печінки тварин групи контрольної патології на третю добу після моделювання гепатиту виявило деструктивно-дистрофічні зміни в досліджуваному органі. Часточкова структура печінки порушена, хід трабекул неупорядкований, правильна організація синусоїдів відсутня. В паренхімі органу визначається сполучна тканина і лімфоїдні інфільтрати.

Судини дилатовані і заповнені еритроцитами, що свідчить про порушення кровообігу в печінці

тварин групи контрольної патології. Але поряд з цим в органі спостерігаються і регенеративні зміни: в паренхімі виявляються не тільки дистрофічно змінені гепатоцити, а і поодинокі клітини з добре забарвленою цитоплазмою і великими світлими ядрами (рис. 4).

Введення експериментальним тваринам Е в дозі 2 мл/кг стимулювало відновні процеси в пошкодженій печінці (рис. 5).

Так, у щурів з експериментальним гепатитом на третю добу відзначені ознаки репарації печінкової тканини. Судини помірно дилатовані, ознаки портальної гіпертензії відсутні. Виявлено гепатоцити, що утворені в результаті активної проліферації трабекул (рис. 5). Однак в паренхімі органу відсутнє радіальне розташування печінкових часточок, часточковість нерегулярна.

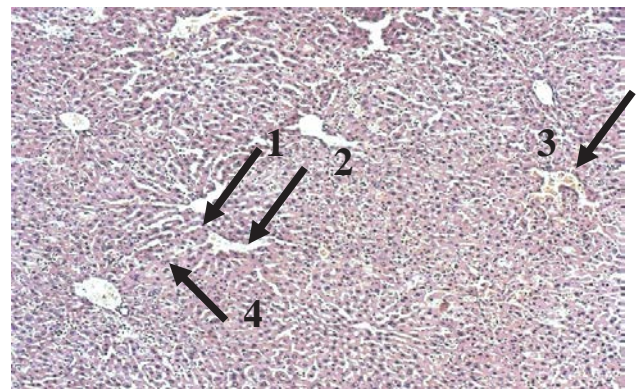


Рис. 5. Гістологічний зріз печінки щурів з експериментальним гепатитом після введення Е на третю добу

1 – регеновані гепатоцити створюють трабекули; 2 – капіляри синусоїдного типу; 3 – помірно дилатовані судини; 4 – формування балкового малюнку довкола центральних вен. Забарвлення гематоксилином та еозином (об. 10, ок. 10)

Джерело: розроблено автором

Судини більшою мірою дилатовані, тобто ознаки нормалізації будови печінки були менш виражені, порівняно з групою експериментальних тварин яким вводили КЕ (рис. 6).

Після введення експериментальним тваринам КЕ в печінці також реєструються морфологічні зміни, що свідчать про відновні процеси в органі. Також звертає на себе увагу той факт, що в синусоїдах печінки виявлено велику кількість ендотеліоцитів, чого не спостерігалось після введення щурам Е. Визначається велика кількість двоядерних гепатоцитів і клітин з поліморфними світлими ядрами, в яких видно ядерця, клітини знаходяться на різних стадіях поділу (рис. 6). У жовчних протоках і капілярах реєструється наявність жовчі і гемоседірину, синусоїди більшою мірою ще збільшені.

На сьому добу після моделювання гепатиту у експериментальних тварин в препаратах печінки щурів групи контрольної патології спостерігали збільшення числа синусоїдів, центральні вени дилатовані і заповнені еритроцитами, що свідчить про застійні явища і порушення кровопостачання печінки. Архітектоніка печінки порушена, трабекулярний малюнок не спостерігається та не виявлено тенденції в організації синусоїдів.

Паренхіму печінки експериментальних тварин представлено гепатоцитами різних розмірів та форм. Клітини в основному з пікнотичними ядрами і погано профарбованою цитоплазмою. Також ви-

значаються атрофічні клітини і лише невеликими скупченнями виявлені гепатоцити в стадії проліферації, судини печінки тварин групи контрольної патології заповнені еритроцитами.

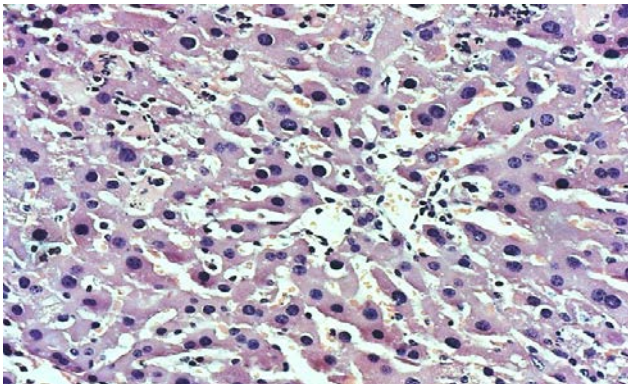


Рис. 6. Гістологічний зріз печінки щура з експериментальним гепатитом та введенням КЕ на третю добу

Гепатоцити, що регенерують, з добре забарвленою цитоплазмою та великими світлими ядрами. Забарвлення гематоксином та еозином (об. 40, ок. 10)
Джерело: розроблено автором

Після введення експериментальним тваринам КЕ в дозі 2 мл/кг на сьому добу експерименту відзначено відновлення судинного русла, про що свідчить нормалізація діаметра судин печінки, синусоїди в даний період спостереження більшою мірою відновлюють свої розміри. Реєструється трабекулярна будова печінкової тканини, хибні часточки не визначаються, гепатоцити утворюють балочний малюнок. Вузли паренхіми, що регенерує мають часткову структуру. Навколо центральних вен виявлено формування радіального розташування печінкових трабекул. Гепатоцити в основному без дистрофічних ознак, з добре контурованим ядром і профарбованою цитоплазмою.

Таким чином, введення експериментальним тваринам КЕ сприяє нормалізації структури і, як наслідок, функції печінки, чого не виявлено у щурів групи контрольної патології.

Введення експериментальним тваринам Е також стимулювало відновні процеси в печінці, але менш виражено в порівнянні з дією КЕ. На сьому добу після введення Е в дозі 2 мл/кг щурам з експери-

ментальним гепатитом в пошкодженій печінки не спостерігається нормалізації судинного русла. Так, більшість судин заповнено еритроцитами, а в деяких гепатоцитах виявлено дистрофічні ознаки.

Виходячи з вищесказаного, слід зазначити, що введення тетрахлорметану та етанолу викликало деструктивно-дистрофічні зміни в печінці щурів. Після введення експериментальним тваринам Е і КЕ відновні процеси в печінці були виявлені вже на третю добу, в той час, як у щурів групи контрольної патології репараційні процеси спостерігали лише на сьому добу. Після введення КЕ на третю добу в печінці експериментальних щурів реєструвалася велика кількість гіпертрофованих гепатоцитів, з поліплоїдизацією ядер. У свою чергу відомо, що поліплоїдизація гепатоцитів є маркером компенсаторних процесів клітин. Також після введення експериментальним тваринам Е і КЕ відновлення архітекτονіки, нормалізація судинного русла печінки було відзначено в більш ранні терміни експерименту у порівнянні з контролем. Отже, введення екстрактів з ембріонів курей дозволяє не тільки зупинити деструктивно-дистрофічні зміни обумовлені введенням тетрахлорметану та етанолу, а й стимулює процеси репарації в печінці. Ймовірно, така дія екстрактів обумовлена їх складом, а саме низькомолекулярними пептидами, які впливають на метаболічні процеси в печінці.

Висновки та перспективи подальших розробок. Проведені дослідження показано, що екстракти та кріоекстракти з ембріонів курей в дозі 2 мл/кг виявляють виражену антиоксидантну, антицитолітичну та мембранстабілізуючу дію, поліпшують функціональну активність гепатоцитів, зменшують прояви цитодеструктивних процесів, гальмують процеси перекисного окиснення ліпідів в печінці щурів. А також стимулюють репараційні процеси в печінці і, як наслідок, прискорюють структурно-функціональне відновлення органу на тлі субхронічного ураження печінки.

В роботі показано вплив екстрактів з ембріонів курей на печінку щурів в умовах токсичного гепатиту. Однак не визначеним є питання, щодо ефективності Е та КЕ для застосування під час вірусних гепатитів та цирозу. Подальше дослідження біологічної активності екстрактів з ембріонів курей розширить уявлення про ймовірні області терапевтичного застосування препаратів, що можуть бути розробленими на основі екстрактів.

Список літератури:

1. Быков В. Л. Цитология и общая гистология. Функциональная морфология клеток и тканей человека / В. Л. Быков // СОТИС.: Санкт-Петербург. – 2002. – С. 519.
2. Возианов А. Ф. Комбинированное лечение и иммунореабилитация больных с прогрессирующей почечно-клеточной карциномой (ПКК) при применении цитокинов и 5-фторурацила (5-ФУ) / А. Ф. Возианов, В. М. Бабич, К. П. Зак // Int. J. Immunorehabilit. – № 4. – 1997. – С. 153-154.
3. Возианов А. Ф. Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства / А. Ф. Возианов, А. К. Бутенко, К. П. Зак // Киев: Наук. Думка. – 1998. – 36 с.
4. Гладкий А. В. Применение «Эрбисола» при химиотерапии больных опухолевыми поражениями печени / А. В. Гладкий, А. Н. Николаенко, А. А. Литвиненко и др. // Экспериментальная онкология. – 1997. – Т. 19. – С. 75-76.
5. Дегтяренко Т. В. Биогенные стимуляторы и иммунореактивность / Т. В. Дегтяренко, Р. Ф. Макулькин // В 2-х т. – Одесса: Маяк. – 1997. – 342 с.
6. Кузнецова В. Г. Изучение иммуностимулирующего эффекта экстрактов из эмбриональных тканей кур / В. Г. Кузнецова, Г. Ф. Жегунов // Выпуск проблем биологии и медицины. – 2009. – Вып. 3. – С. 35-38.
7. Мельников Н. В. Использование метода криоструктурирования в производстве органопрепаратов / Н. В. Мельников, Р. В. Вахитов, Ф. Н. Кигамов // Здравоохранение Башкиростана. – 2002. – № 2. – С. 64-66.
8. Оболенская М. Ю. Сигнальные молекулы в регенирирующей печени / М. Ю. Оболенская // Биополимеры и клетка, – Т. 14. – № 3. – 1998. – С. 210-222.
9. Румянцева С. А. Актювегин. Новые аспекты клинического применения / С. А. Румянцева // М., – 2002. – 280 с.
10. Репин В. С. Медицинская клеточная биология / В. С. Репин, Г. Т. Сухих // М.: БЭБиМ, – 1998. – 199 с.
11. Стефанов О. В. и др. Доклиническое исследование лечебных средств: методические рекомендации / Под ред. О. В. Стефанова // К.: Авиценна. – 2001. – 528 с.

12. Grundmann R. Transplantation of cryopreserved hepatocytes or liver cytosol injection in the treatment of acute liver failure in rats / Grundmann R., Koebe H. G., Waters W. // Res. Exp. Med. – Vol. 186. – 1986. – P. 141-149.
13. Makovka L. Studies into the mechanism of reversal of experimental acute hepatic failure by hepatocyte transplantation / Makovka L., Rotstein L. E., Falk R. E. et al. // L. Can. J. Surg. – Vol. 24. – 1981. – P. 39-44.

Кузнецова В.Г.

Харьковская государственная зооветеринарная академия

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ЭМБРИОНОВ КУР В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕПАТИТА

Аннотация

В работе представлено исследование влияния экстрактов и криоэкстрактов из эмбрионов кур на гистоморфологические показатели печени крыс с экспериментальным субхроническим токсическим гепатитом. Показано, что введение лабораторным животным экстрактов способствовало улучшению функционального состояния гепатоцитов. Уменьшались проявления цитодеструктивных процессов. Происходило торможение процессов перекисного окисления липидов. Исследуемые экстракты стимулируют репаративные процессы в печени и ускоряют структурно-функциональное восстановление органа.

Ключевые слова: экстракты из эмбрионов кур, печень, перекисное окисление липидов, гепатоциты, морфологические изменения.

Kuznetsova V.H.

Kharkiv State Zooveterinary Academy

HISTOLOGICAL RESEARCH OF THE LIVER OF RATS AFTER INSERTION OF EXTRACTS FROM CHICK EMBRYOS IN TERMS OF EXPERIMENTAL HEPATITIS

Summary

The results of the effect of extracts and cryoextract from chicken embryos on histomorphological liver indexes of rats with experimental subchronic toxic hepatitis are provided. It was shown that introduction of extracts to laboratory animals improved the functional condition of hepatocytes. The appearance of cell destruction process reduced. The inhibition of lipid peroxidation occurred. The extracts stimulate repair processes in the liver and accelerate structural and functional organ recovery.

Keywords: extracts from chicken embryos, liver, lipid peroxidation, hepatocytes, morphological changes.