

УДК 616.36-007.17-092.9

В. М. Запорожан, *акад. АМН України, д-р мед. наук, проф.*,
О. Л. Холодкова, *канд. мед. наук, доц.*,
А. Л. Щербатюк,
Д. М. Пихтєєв

ВИКОРИСТАННЯ ФАКТОРА РОСТУ ГРАНУЛОЦИТІВ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ДИСТРОФІЧНИХ ЗМІН ПЕЧІНКИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Одеський державний медичний університет

Дистрофії печінки, зокрема жирова дегенерація печінки, є дуже поширеними захворюваннями серед населення зрілого віку [1]. Вони призводять до тяжких органічних і функціональних порушень печінки, лікування яких сьогодні є не досконалим, оскільки воно не розв'язує проблеми відновлення печінкової тканини при масивній загибелі гепатоцитів (ГЦ) [2]. Через це виникає необхідність розробки медикаментозних заходів, що здатні активувати регенераторні процеси в печінці, впливати на основні ланки патогенезу даних захворювань і усувати додаткове навантаження на печінку. За останні роки з'явилося багато публікацій, в яких показано позитивний вплив цитокінів на регенераторну активність патологічно змінених внутрішніх органів, репродуктивної, нервової систем тощо [3–5]. Як показано в експериментах *in vitro*, процес регенерації печінки за патологічних умов опосередкований кількістю цитокінів, що стимулюють синтез ДНК гепатоцитів [6]. Вважають, що механізм дії цитокінів полягає в активізації виходу з депо стовбурових клі-

тин, таким чином він сприяє регенерації тканин у місцях ушкодження, а також здатності безпосередньо відновлювати мембрани клітин, активуючи фосфоліпази А-2 [3; 7].

Виходячи з наведеного, **метою** нашого дослідження стало вивчення регенераторної активності печінки за умов цитокінової корекції CCl_4 -індукованої жирової та фіброзної дегенерації печінки.

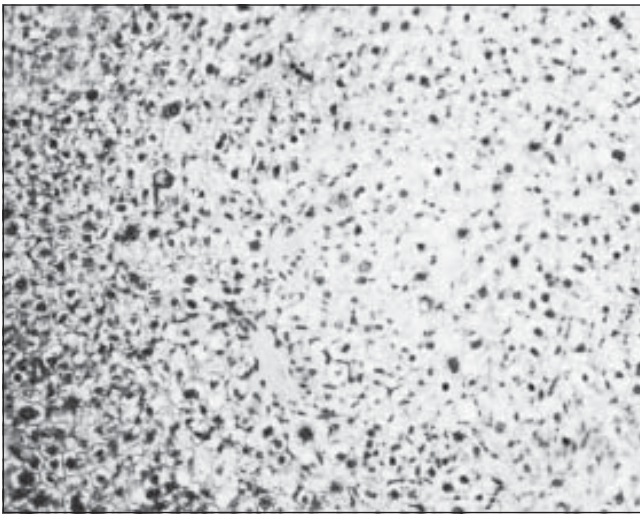
Матеріали та методи дослідження

Експеримент проводили на 45 статевозрілих самцях мишей лінії ICR, які знаходились у стандартних загальноприйнятих умовах віварію. Тварин розподілили на три групи: I групі перорально вводили 50%-й олійний розчин чотирихлористого вуглецю (CCl_4) дозою 0,05 мл через день протягом 7–8 тиж.; II групі вводили CCl_4 за такою самою схемою та наступного дня після останнього введення CCl_4 підшкірно вводили гранулоцитарний колоніестимулювальний фактор (Гр-КСФ) дозою 100 мкг/кг; III група, замість CCl_4 , отримала фізіологічний розчин за тією ж схемою та слу-

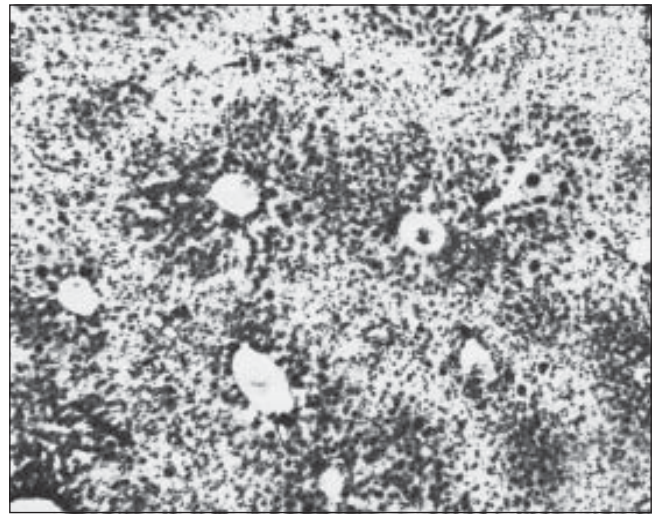
гувала контролем. Тварин виводили з експерименту через тиждень після введення Гр-КСФ. Вилучені печінки фіксували в 10%-му розчині формаліну. Парафінові зрізи завтовшки 3 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином та за Ван-Гізеном. Крім того, з фіксованих у формаліні печінок робили зрізи на заморожуючому мікроскопі та забарвлювали суданом III. Дослідження препаратів проводили на світловому мікроскопі "Leica DMLS", морфометричні дослідження проводили з використанням комп'ютерної програми «Видеотест мастер-морфологія». Обробка отриманих даних проводилася із використанням програмного пакета статистичного аналізу «Статистика-6».

Результати дослідження та їх обговорення

Патоморфологічне дослідження показало, що печінки тварин I групи були неоднорідного кольору. Мікроскопічно були наявні ознаки зернистої та вакуольної дистрофії ГЦ, переважно по периферійних ділянках печінки спостерігали вогнищевий некроз ГЦ із лімфоцитар-



a



б

Рис. 1. Тканина печінки мишей на фоні ураження CCl_4 (I група): *a* — апоптоз і некроз ГЦ, поширені синусоїди, забарвлення гематоксиліном і еозином ($\times 100$); *б* — жирове переродження печінкової тканини навколо центральних вен, забарвлення суданом III ($\times 40$)

но-макрофагальною інфільтрацією некротизованих ділянок, по всій тканині спостерігали велику кількість ГЦ з патологією ядер. Виявляли судинні зміни у вигляді потовщення стінок судин, набухання клітин ендотелію, у багатьох ділянках — периваскулярні набряки. На зрізах печінки, забарвлених за Ван-Гізеном, виявили перипортальне та внутрішньочасточкове розростання сполучної тканини. При забарвленні суданом III спостерігали масивне жирове переродження тканини печінки навколо центральних вен (рис. 1). Морфометричне дослідження показало, що питома щільність ГЦ з каріопікнозом, каріорексисом і каріолізісом (ПЩ ГЦ КПРЛ) у 19,2 разу перевищувала контроль; питома щільність апоптотичних ГЦ (ПЩ АГЦ) була вищою майже вдвічі, питома щільність стромальних елементів (ПЩ СЕ) підвищилася на 30,1 %; питома щільність двоядерних ГЦ (ПЩ ДЯ ГЦ) зменшилася на 32,1 %, розмір ядер одноядерних ГЦ (РЯ ОГЦ) зменшився на 25,0 % порівняно з контролем (таблиця).

У тварин II групи мікроскопічно виявляли незначне підвищення зернистості цитоплазми ГЦ, подекуди — невеликі вог-

нищеві інфільтрати. Ділянки жирового переродження тканини печінки набагато зменшилися, набули більш дифузного характеру та розташовувалися внутрішньочасточково. Площа сполучної тканини, порівняно з I групою, була меншою, стінки судин були практично без патологічних змін (рис. 2). За морфометричними даними, ПЩ АГЦ була на 12,1 % нижчою за цей показник I групи; ПЩ ГЦ КПРЛ майже не відрізнялася від показників контрольної групи; ПЩ СЕ була на 17,2 % нижчою, ніж у I групи, і на 6 % вищою за контроль; ПЩ ДЯ ГЦ на 12,0 % перевищувала цей показник I групи і була на 20,2 % нижчою за контроль; РЯ ОГЦ був на 25,3 % меншим за контроль (див. таблицю).

Таким чином, у печінках тварин I групи спостерігали великі вогнища жирового перероджен-

ня ГЦ навколо центральних вен, апоптоз і некроз ГЦ тощо. Всі вищенаведені морфологічні ознаки вказують на тяжке порушення метаболічної активності та наявність печінкової недостатності, яка зазвичай тяжко піддається корекції. У тварин II групи, що підлягали корекції Гр-КСФ, морфофункціональний стан печінки був значно кращим. Відбулося відновлення цілісності структурних елементів печінки, зменшення площі жирової інфільтрації та перерозподіл стеатозу з внутрішньочасточковою локалізацією. Зменшилася кількість сполучнотканинних клітин, ГЦ із патологією ядер. У цей самий час по всій площі печінки спостерігались ознаки підвищення регенераторної активності ГЦ.

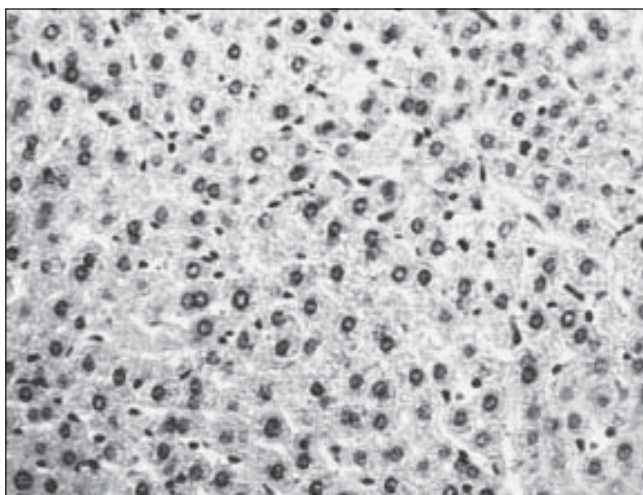
Механізм дії Гр-КСФ у даному випадку може бути пов'язаний із властивістю блокуван-

Таблиця

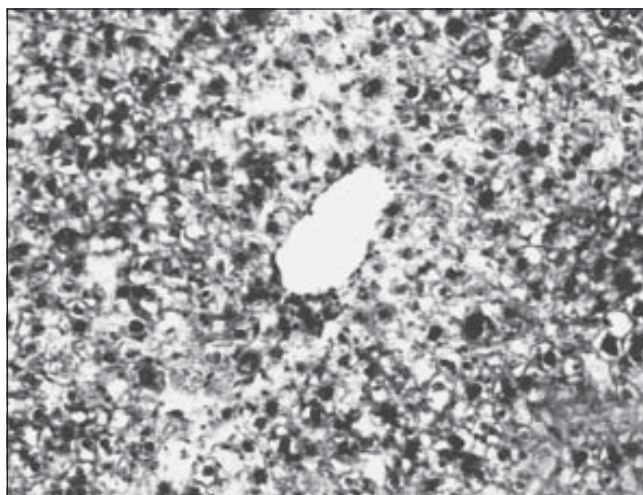
Результати морфометричних досліджень тканини печінки всіх груп мишей, $n = 15$

Морфометричні показники	Контроль	I група	II група
ПЩ СЕ	10,0 \pm 2,0	12,8 \pm 3,1*	10,6 \pm 2,0*
ПЩ АГЦ	0,70 \pm 0,05	1,25 \pm 0,03	1,10 \pm 0,05
ПЩ ГЦ КПРЛ	0,12 \pm 0,04	2,3 \pm 0,7	0,16 \pm 0,04
ПЩ ДЯ ГЦ	22,0 \pm 3,3	15,8 \pm 2,3	17,8 \pm 1,2
РЯ ОГЦ	20,23 \pm 3,00	17,7 \pm 2,3*	17,7 \pm 2,5*

Примітка. * — $P > 0,05$.



a



б

Рис. 2. Тканина печінки мишей після корекції CCl_4 -індукованої патології Гр-КСФ (II група): *a* — відновлення печінкової тканини, забарвлення гематоксиліном і еозинном ($\times 200$); *б* — зменшення та перерозподіл жирової інфільтрації тканини печінки, забарвлення суданом III ($\times 100$)

ти синтез РНК проколагену та продукцію прозапальних і просклерогенних цитокінів, як це описано на прикладі інших ростових факторів [8]. Деякими авторами вже висловлені припущення про можливість регресу фіброзу печінки, що пов'язують із деградацією білків позаклітинного матриксу шляхом запуску каскаду цитокінових реакцій, у результаті чого зменшується активність процесу синтезу колагену. Це може бути досягнуто індукцією апоптозу зірчастих клітин печінки, а також впливом на рецептори ангіотензину II, що розташовані на мембранах зірчастих клітин і контролюють порталний тиск. Блокада означених рецепторів призводить до падіння рівня $TGF-\beta_2$ [9]. Але досягнення регресу фіброзу шляхом блокування або провокування апоптозу клітин, які синтезують колаген, може бути невдалим, тому що ці клітини відіграють первинну роль у пусковому механізмі регенерації печінки у відповідь на ушкодження. Так, клітини Купфера в перші години ушкодження печінки адгезують нейтрофіли, що виділяють цитокіни, які активують синусоїдальні клітини печінки. Тож Гр-КСФ може реалізувати репаративний ефект через підвищення кількості нейт-

рофілів у крові. Клітини Купфера також виділяють простагландини E_2 , які є потужним мітогенним стимулом проліферації ГЦ, при цьому він регулює вироблення цитокінів і стримує безконтрольний поділ ГЦ [10].

Висновки та перспективи подальших досліджень

Таким чином, можна сказати, що застосування Гр-КСФ — ефективний спосіб корекції дистрофічних змін печінки шляхом стимуляції регенераторної активності ГЦ і, як наслідок, відновлення її морфофункціонального стану. Тому застосування Гр-КСФ — це перспективний напрямок для подальшого дослідження його регенераторних властивостей.

ЛІТЕРАТУРА

1. Голубчиков М. В. Статистичний огляд захворюваності населення України на хвороби печінки і жовчовідних шляхів / М. В. Голубчиков // Сучасна гастроентерологія і гепатологія. — 2000. — № 2. — С. 53-55.
2. Ивашкин В. Т. Болезни печени и желчевыводящих путей : рук. для врачей / В. Т. Ивашкин. — М. : М-Весті, 2002. — 416 с.
3. Della Puca R. Regulation of phospholipase-A2 (PLA-2) by cytokines expressing hematopoietic growth-stimulating properties / R. Della Puca, V. S. Gallicio // Proceedings of the society for experimental biology and medicine. — 1996. — Vol. 212, N 2. — P. 174-184.

4. Di Fazio I. Efficacy of human recombinant erythropoietin plus IFN- α in patients affected by chronic hepatitis C / I. Di Fazio // Journal of interferon cytokine research. — 2004. — Vol. 24, N 10. — P. 594-589.

5. Granulocyte-colony stimulating factor usage in regeneration of dystrophic myocardium / V. Zaporozhan, N. Pereplyuk, E. Kholodkova [et al.] // The international journal of artificial organs. — 2005. — Vol. 28, N 4. — P. 354.

6. Effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on hepatic regeneration after 70 % hepatectomy in normal and cirrhotic rats / A. Eroglu, S. Demirci, H. Akbulut [et al.] // HPB. — 2002. — Vol. 4, N 2. — P. 67-73.

7. Mechanism of mobilization of mesenchymal stem cell under the effect of granulocyte colony-stimulating factor / V. V. Zhdanov, L. A. Stavrova, A. M. Dygai, E. D. Goldberg // Bulletin of experimental biology and medicine. — 2007. — Vol. 144, N 1. — P. 151-153.

8. Современные представления о патогенезе, диагностике и лечении фиброза печени / Ч. С. Павлов, Ю. О. Шульпекова, В. Б. Золотаревский, В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. — 2005. — Т. 15, № 2. — С. 13-20.

9. Возможность обратимости цирроза печени / Ч. С. Павлов, В. Б. Золотаревский, М. С. Томкевич [и др.] // Там же. — 2006. — № 1. — С. 20-29.

10. Гарбузенко Д. В. Механизмы регуляции регенерации печени / Д. В. Гарбузенко, К. Г. Попов // Там же. — 2001. — № 1. — С. 21-25.

УДК 616.36-007.17-092.9

В. М. Запорожан, О. Л. Холодкова, А. Л. Щербатюк,
Д. М. Пихтєєв

ВИКОРИСТАННЯ ФАКТОРА РОСТУ ГРАНУЛОЦИТІВ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ДИСТРОФІЧНИХ ЗМІН ПЕЧІНКИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

У статті запропоновано використання фактора росту гранулоцитів (Гр-КСФ) у корекції стеатозу та фіброзу печінки, що їх моделювали на мишах тривалим введенням 50%-го олійного розчину CCl_4 . Доведено, що одноразове підшкірне введення Гр-КСФ (100 мкг/кг) на фоні дистрофічних змін справляє позитивний вплив на стан печінки, що підтверджено морфологічними, морфометричними, гістохімічними дослідженнями, і має перспективи бути застосованим у терапії даної патології.

Ключові слова: експеримент, дистрофічні зміни печінки, корекція.

UDC 616.36-007.17-092.9

V. M. Zaporozhan, O. L. Kholodkova, A. L. Shcherbatyuk, D. M. Pykhtyeyev

GRANULOCYTE GROWTH FACTOR USAGE IN CORRECTION OF HEPATIC DEGENERATIVE CHANGES IN EXPERIMENT

Granulocyte growth factor (Gr-CSF) usage in correction of hepatic steatosis and fibrosis has been proposed in this article. LPD was modeled by means of long administration of 50% oil CCl_4 solution. It has been proved that a single subcutaneous Gr-CSF administration (100 mcg/kg) against degenerative changes background makes the positive influence on the liver state, that was confirmed by morphological, morphometric, histochemical investigations, and it is promising to be used in therapy of this pathology.

Key words: experiment, hepatic degenerative changes, correction.

УДК 616-099:547.593]-036.11-092.9:577.112.3:577.113

В. М. Зовський, *д-р біол. наук, доц.*,

В. А. Бондаренко, *д-р біол. наук, проф.*,

С. А. Наконечна,

В. В. Мартиненко, *канд. біол. наук, доц.*

ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЗМУ БІОГЕННИХ АМІНІВ І ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ ПІД ДІЄЮ ОКСІЕТИЛЬОВАНИХ АЛКІЛ- ТА ІЗОНОНІЛФЕНОЛІВ

Харківський національний медичний університет,

Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна

Нормальна життєдіяльність організму характеризується комплексом адаптаційних реакцій, які спрямовані на збереження гомеостатичних параметрів внутрішнього середовища. Слід наголосити, що на початку процесу адаптації, коли організм ще не здатний відреагувати адекватною специфічною формою пристосувальної реакції, вмикаються неспецифічні механізми, серед яких важлива роль належить біогенним моноамінам, їхнім попередникам, а також циклічним нуклеотидам [1–3]. Відомо, що існує тісний зв'язок обміну цАМФ і цГМФ із деякими нейромедіаторами, безпосередньо з біогенними амінами — норадреналіном, адреналіном, дофаміном, серотоніном, а також із внутрішньоклітинним метаболізмом, тканинним диханням і фосфо-

рилуванням [4; 5]. У зв'язку з цим, викликає інтерес дослідження активності нейромедіаторів і «вторинних месенджерів» за умов дії на організм оксіетильованих алкіл- та ізононілфенолів — ксенобіотиків нового покоління (АФ 9-12 і АФС 9-6 КМ) з метою обґрунтування особливостей механізму їхніх біологічних ефектів, виявлення змін енергетичного забезпечення пристосувальних реакцій. Оцінка показників системи біогенних амінів дозволяє глибше зрозуміти патогенез клінічних проявів інтоксикації [6–11].

Матеріали та методи дослідження

Відповідно до мети ми вивчали деякі особливості метаболізму біогенних амінів та їхніх попередників в умовах підгострого експерименту на ста-

тевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар, яким кожного дня вранці натще за допомогою металевого зонда внутрішньошлунково вводили розчини ксенобіотиків АФ 9-12 і АФС 9-6 КМ, водорозчинних в'язких рідин на основі тримеру пропілену зі ступенем оксіетильовання 12 і 6 відповідно, із розрахунку 1/100 і 1/1000 DL_{50} , а також досліджували систему вторинних нейромедіаторів. Тривалість перорального надходження зазначених сполук становила 45 діб. Кількість особин у групах дорівнювала 15. Контрольна група отримувала дистильовану воду у відповідному об'ємі. Досліджувалася вміст адреналіну, норадреналіну, дофаміну, ДОФА, триптофану, серотоніну в гомогенаті печінки й корі великих півкуль головного мозку. Для зв'яз-