

© Л.П. Романова, И.И. Мальшев, 2011
УДК 611.36-001-003.93:55.323.4

Л.П. Романова и И.И. Мальшев

РЕГЕНЕРАЦИЯ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ЕЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ У КРЫС НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ «ТРЕПЕЛ» И «СУВАР»

Кафедра патологической анатомии (зав. — проф. И.И. Мальшев), Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, e-mail: Malichev_med@mail.ru

При использовании гистологических и морфометрических методов изучали влияние биологически активных веществ (БАВ) «Трепел» и «Сувар» на регенерацию печени через 1–30 сут после её механического повреждения у 110 крыс в возрасте 18 сут, контролем служили 90 крыс, которые после повреждения печени не получали препаратов. Показано, что изученные БАВ ингибируют воспалительную реакцию вокруг очага травмы, тормозят коллагеногенез и активизируют пролиферацию гепатоцитов. Это приводит к значительному замещению участка повреждения гепатоцитами, что отсутствует у контрольных крыс. На фоне введения БАВ увеличивается содержание двуядерных и митотически делящихся гепатоцитов, а количество гепатоцитов с дистрофическими изменениями снижается. Положительное влияние БАВ на восстановление структуры печени авторы связывают с их ростостимулирующим эффектом, что приводит к гипертрофии, в том числе, щитовидной железы и надпочечников, которая сопровождается избыточной продукцией соответствующих гормонов, проявляющих своё физиологическое действие.

Ключевые слова: *печень, механическая травма, регенерация, биологически активные вещества*

Несмотря на значительные успехи в области гепатологии, лечение заболеваний и травм печени продолжает оставаться недостаточно эффективным, так как полного восстановления утраченной структуры органа добиться не удаётся. Стимуляцию регенерации печени в эксперименте и клинике получали путем как хирургических (частичная гепатэктомия), так и терапевтических воздействий, заключающихся во введении различных веществ, обладающих способностью усиливать пролиферацию гепатоцитов: диприла [4], производных селена [10], лохеина [7], гемопоэтинов А и В [12], тромбоцитарного фактора роста [11] и многих других. Однако все применяемые методы или дают кратковременный эффект, или же вызывают осложнения. Поэтому актуальным является поиск средств, обеспечивающих эффективное, стойкое и длительное стимулирование восстановительных процессов в печени и не вызывающих осложнений.

В последние годы определенный интерес исследователи проявляют к использованию цеолитов Алатырского месторождения (на территории пос. Первомайский) Чувашской Республики, которые представляют собой сложное соединение биополимикрэлементов и клиноптилолита. Как показали работы многих авторов, применение цеолитов у животных в эксперименте активизирует защитные реакции организма [8], оказывает иммуномодулирующее, антианемическое

действие, нормализует белковый и минеральный обмен [3], усиливает белоксинтезирующую функцию гепатоцитов [5]. М.Н. Архипова [1] доказала, что применение цеолитов в виде биологически активного вещества (БАВ) «Трепел» особенно эффективно в комплексе с другими БАВ. В своей работе она использовала препарат «Сувар», созданный в лаборатории химического факультета Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова на основе природных терпентоидов. Использование его в животноводстве показало, что он обладает стимулирующим действием. Применение «Трепела» и «Суvara» в комплексе способствует активации ряда функциональных систем организма у млекопитающих, оказывает ростостимулирующее и иммуномодулирующее действие.

Действие БАВ «Трепела» и «Суvara» на регенерацию печени ранее практически не изучалось, поэтому целью настоящей работы явилось исследование их влияния на регенерацию печени после механической травмы этого органа у крыс.

Материал и методы. Исследование проведено в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР) на 110 белых беспородных крысятах 18-суточного возраста массой 19–23 г, которым под глубоким эфирно-масочным наркозом через кожу производили прокол печени. Прокол осуществляли в правом подреберье в месте проекции печени стальной иглой длиной 8 см и диаметром 0,2 см, которая на расстоянии 0,5 см имела металли-

ческий ограничитель, препятствующий более глубокому проникновению иглы в орган. В результате во всех наблюдениях были получены стереотипные участки повреждения. Сразу после операции к основному рациону животным добавляли БАВ «Трепел» из расчета 1,25 мг/кг и «Сувар» — 50 мг/кг. Контролем служили 90 крысят того же возраста, которые после аналогичного прокола печени находились на основном рационе питания. Животных выводили из эксперимента в сроки от 1 до 30 сут. При вскрытии животных печень извлекали полностью, из неё вырезали кусочки размером 1×1 см, которые фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин, серийные срезы окрашивали гематоксилином – эозином и по Ван-Гизону. Для оценки пролиферативных процессов в печени подсчитывали количество митотически делящихся и двуядерных гепатоцитов на 7000 клеток при увеличении 900. В этих же полях зрения подсчитывали гепатоциты с признаками дистрофических изменений.

Статистическую обработку цифровых данных проводили с использованием программы «Статистика» и привлечением пакета программ Microsoft Office (Word и Excel).

Результаты исследования. Микроскопически через 1 сут после нанесения травмы у подопытных животных участок повреждения был представлен щелевидной полостью, заполненной эритроцитами и погибающими гепатоцитами. В сохранившейся ткани печени, особенно вблизи места повреждения, часто обнаруживались гепатоциты с дистрофическими изменениями. Через 3–5 сут вокруг травмы появлялось небольшое количество клеток, характерных для воспалитель-

ной реакции. С 5-х суток зона повреждения была представлена полостью, по краю которой располагалось небольшое количество лимфоидных клеток и (с 7–9-х суток) — фибробластов. На 9-е и, особенно, на 11-е сутки среди клеток начинали проследиваться тонкие волокна, окрашивающиеся по Ван-Гизону в бледно-розовый цвет. Размеры полости с 5-х по 11-е сутки постепенно уменьшались. На 15-, 20-е и 30-е сутки на месте погибшей ткани печени обнаруживалось небольшое разрастание соединительной ткани.

У контрольных крысят с 3-х суток вокруг очага повреждения появлялось большое количество лимфоидных клеток. Фибробласты начинали преобладать в клеточном инфильтрате с 7-х и, особенно, с 9-х суток; при этом по периферии проследивались тонкие волокна. Постепенно развивающаяся соединительная ткань заполняла участок травмы, и на 11-е сутки он полностью замещался рубцовой тканью. Очаг склероза визуально был значительно больше, чем у подопытных животных.

После операции у животных обеих групп в сохранившейся ткани печени обнаруживались гепатоциты с дистрофическими изменениями различной степени выраженности. Если в 1-е сутки после операции количество таких гепатоцитов у животных обеих групп было приблизительно одинаковым (27% и 29%), то через 3 сут у подопыт-

Количественная характеристика гепатоцитов у крысят контрольной и подопытной групп в различное время после нанесения травмы печени ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, %)

Исследованный показатель	Время после операции (сут)	Группы животных	
		Подопытная — с добавлением к рациону питания биологически активных веществ	Контрольная — находившаяся на обычном рационе питания
Доля митотически делящихся гепатоцитов	1	1,4±0,3	0
	3	3,6±0,7	3,1±1,5
	5	6,4±2,8*	4,5±2,1
	7	6,3±2,6*	3,8±1,9
	9	5,6±2,7*	0,9±0,4
	11	4,5±3,4	0
	15	0,80±0,11	0
Доля двуядерных гепатоцитов	1	15,6±2,8	16,2±2,4
	3	17,3±2,8	16,4±2,1
	5	17,3±2,3	17±3
	7	31±6	28±5
	9	32±4	29±5
	11	39±6	31±6
	15	41±6	28±4
	20	37±5	33±4
30	38±4	28,2±2,6	

* Различия по сравнению с контролем значимы при $P < 0,001$.

ных крысят их насчитывалось 29%, у контрольных животных — 45%, а через 5 сут — соответственно 5% и 23% от всех подсчитанных клеток. Через 7 сут у подопытных крысят гепатоциты с дистрофическими изменениями отсутствовали; в контроле они в этот срок наблюдения ещё прослеживались (до 8%).

После нанесения механической травмы в сохранившейся ткани печени отмечено активное митотическое деление гепатоцитов, при этом у крысят подопытной группы их доля значимо больше, чем в контроле. Кроме этого, у них митотически делящиеся клетки начинают проследиваться в печени раньше и прослеживаются дольше, чем в контроле (таблица). В контрольной группе увеличивается и доля двуядерных гепатоцитов (см. таблицу).

Обсуждение полученных данных. В результате проведенной работы обнаружено, что заживление повреждения печени у животных обеих групп протекало принципиально одинаково. В 1-е сутки после операции у животных место травмы было представлено дефектом ткани печени, заполненным эритроцитами и погибающими гепатоцитами. В дальнейшем вокруг очага повреждения возникала клеточная воспалительная реакция, которая постепенно приобретала преимущественно фибробластический характер. Вокруг места повреждения начинала развиваться заполняющая дефект грануляционная ткань. В итоге на месте погибшего участка печени обнаруживалась соединительная ткань.

Вместе с тем, у подопытных и контрольных животных заживление участка травмы имело существенные различия. Так, можно считать установленным, что БАВ защищают сохранившуюся ткань печени от развития в ней альтеративных процессов, о чём свидетельствует значительно меньшая доля дистрофически измененных клеток в сохранившейся ткани печени у подопытных животных.

БАВ уменьшают интенсивность экссудативной реакции на появление в печени очага повреждения. Это документируется наличием вокруг некротического фокуса у подопытных животных лишь слабой воспалительной реакции. Они также оказывают ингибирующее действие на количество фибробластов, замедляют сроки их появления вокруг очага повреждения и, таким образом, тормозят коллагеногенез.

При этом БАВ усиливают митотическую активность гепатоцитов в сохранившейся ткани у крысят подопытной группы.

Одним из показателей интенсификации регенераторных процессов в печени является увеличе-

ние в органе числа двуядерных гепатоцитов [6, 9]. Рост числа двуядерных клеток в нашем исследовании возникает по мере затихания митотического деления гепатоцитов и сохраняется до конца эксперимента. У подопытных крысят это увеличение имеет более выраженный характер.

Таким образом, выполненная работа показала, что БАВ «Трепел» и «Сувар» создают благоприятные условия для заживления механической травмы печени у 18-суточных крысят и активизируют регенераторные процессы. Механизм стимуляции регенерации печени БАВ, на наш взгляд, связан с изменением гормонального фона организма крыс. Рядом исследователей [1, 2] доказано, что «Трепел» и «Сувар» обладают ростостимулирующим свойством. При этом происходит гипертрофия и ряда эндокринных желёз: надпочечников (преимущественно их коры) и щитовидной железы (фолликулярного эпителия и самих фолликулов). Всё это приводит к увеличению продукции соответствующих гормонов. Избыток содержания глюкокортикоидов, таким образом, объясняет отсутствие отчетливо выраженной реактивно-воспалительной реакции вокруг очага травмы и торможение коллагеногенеза у подопытных крысят. Йодсодержащие гормоны щитовидной железы, активизируя все виды обмена, резко усиливают клеточный метаболизм и стимулируют пролиферацию гепатоцитов. Активно делящиеся гепатоциты на фоне замедленного развития соединительной ткани обуславливают замещение дефекта органа. Следствием этого является то, что очаг развившейся здесь соединительной ткани по размерам значительно меньше аналогичного очага, образовавшегося на месте повреждения печени у контрольных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипова М.Н. Становление и развитие функциональных систем у боровков в биогеохимических условиях Чувашского центра с назначением биогенных соединений: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Чебоксары, 2008.
2. Григорьев С.Г. Становление и развитие морфофизиологического состояния продуктивных животных в биогеохимических условиях Чувашской Республики: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Чебоксары, 2009.
3. Иванов Г.И. и Григорьева Т.Е. Результаты исследований Чувашского отдела НИВИ Нечерноземной зоны РФ по применению трепелов Первомайского месторождения в животноводстве и ветеринарии. В кн.: Изучение и использование кремнистых пород Чувашии. Чебоксары, Изд-во Чувашск. гос. ун-та им. И.Н. Ульянова, 1998, с. 49–54.
4. Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В.Г., Фоменко С.Е. и др. Эффективность применения диприла для восстановления функционального состояния печени после поражения этиловым спиртом. Гиг. санит., 2002, № 1, с. 56–60.

5. Махаммед З. и Стручко Г.Ю. Изучение влияние целитсо-держашего трепела на биоаминосодержащие структуры тимуса, а также на иммунобиохимические и гематологические параметры крови. В кн.: Изучение и применение трепелов и диатомитов. Чебоксары, Изд-во Чувашск. гос. ун-та им. И.Н. Ульянова, 2000, с. 44–60.
6. Романова Л.К. Регуляция восстановительных процессов. М., Изд-во Московск. ун-та, 1984.
7. Саратиков Л.С. Гепатопротективные свойства лохеина. Растительные ресурсы, 2004, т. 40, № 2, с. 133–138.
8. Скребков Г.П. Об использовании трепела в качестве биологически активной пищевой добавки комплексного оздоровительного действия и в лечебных целях: В кн.: Прикладное применение трепелов. Чебоксары, Изд-во Чувашск. гос. ун-та им. И.Н. Ульянова, 1999, с. 9–17.
9. Солопаев Б.П. Регенерация нормальной и патологически изменённой печени. Горький, Волговятское книжное изд-во, 1980.
10. Шарипов К.О. Роль органических производных селена в регуляции антиокислительных процессов печени при экспериментальном токсическом гепатите. Вопр. биол. мед. фармакол. химии, 2002, № 3, с 40–44.
11. Ichihara A. Mechamisms controlling growth of hepatocytes in primary culture. Dig. Dis. Sci., 1991, v. 36, № 4, p. 489–493.
12. Michalopoulos G.K. and Zarnegav R. Hepatocyte growth factor. Hepatology, 1992, v. 15, № 1, p. 149–155.

Поступила в редакцию 17.02.2011
Получена после доработки 17.05.2011

LIVER REGENERATION AFTER ITS MECHANICAL INJURY IN RATS RECEIVING BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES «TREPЕL» AND «SUVAR»

L.P. Romanova and I.I. Malyshev

The effect of biologically active substances (BAS) «Trepel» and «Suvar» on liver regeneration 1–30 days after its mechanical injury was studied using histological and morphometric methods in 110 rat pups aged 18 days. The control group comprised 90 animals that received no treatment following liver injury. It was shown that both BAS studied inhibited the inflammatory reaction around the injury focus, suppressed collagenogenesis and activated hepatocyte proliferation. This resulted in the significant substitution of the damaged area by the hepatocytes, that was absent in the control animals. In animals treated with BAS, the numbers of binucleated and mitotically dividing hepatocytes was increased, while the amount of hepatocytes with dystrophic changes was reduced. Authors associate the positive effect of BAS on liver structure regeneration with their growth-promoting activity, resulting in the hypertrophy of different organs, including the thyroid and the adrenal glands, that is accompanied by an excessive production of the respective hormones displaying their physiological actions.

Key words: *liver, mechanical trauma, regeneration, biologically active substances*

Department of Pathological Anatomy, I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary