

© Посохова К.А., Вольська А.С., Чернухіна О.О.

УДК: 615.212.099:616.36-091.8-085.225.2/.272.4]-092.9

Посохова К.А., Вольська А.С., Чернухіна О.О.

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського, кафедра фармакології з клінічною фармакологією (майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна)

ЗМІНИ ГІСТОЛОГІЧНОЇ БУДОВИ ПЕЧІНКИ ПРИ ЇЇ УРАЖЕННІ ПАРАЦЕТАМОЛОМ ТА ПРИЗНАЧЕННІ ТІОТРИАЗОЛІНУ ТА АЦЕТИЛЦИСТЕЇНУ

Резюме. В експериментах на білих щурах-самцях встановлено, що попередники біосинтезу глутатіону тіотриазолін та ацетилцистеїн зменшують порушення гістологічної структури печінки, які виникають при гострому парацетамоловому гепатиті.

Ключові слова: печінка, парацетамол, тіотриазолін, ацетилцистеїн.

Вступ

Медикаментозні ураження печінки є важливою медичною проблемою [Буеверов, 2002; Бабак, 2008]. Незважаючи на існуюче переконання лікарів та пересічних людей у безпечності такого популярного анальгетика/антипіретика як парацетамол (ПАР), ураження печінки, які він може спричинити при використанні не лише у великих, але й у середньотерапевтичних дозах, нерідко стають фатальними [Бабак, 2008; Mortensen, Cullen, 2002]. В якості засобу антидотної терапії при гострому ПАР гепатиті використовують ацетилцистеїн, що, завдяки наявності у його молекулі сульфгідрильних груп і відновленню ендogenous пулу глутатіону, частково здатен зменшити прояви ураження, викликані гепатотоксичним продуктом біотрансформації ПАР - N-ацетил-p-бензохіноніміном [Mortensen, Cullen, 2002; Mahadevan et al., 2006]. Проте, цей засіб не завжди дає належний лікувальний ефект. Комбіноване ж його використання з ПАР з профілактичною метою обмежується доволі високими алергізуючими властивостями [Mahadevan et al., 2006]. Тому актуальним залишається пошук ефективних способів попередження та корекції ураження печінки, яке викликає ПАР, серед тіоловмісних сполук, здатних знешкодити токсичні продукти метаболічного перетворення ПАР. Одним з перспективних препаратів такої дії є тіотриазолін, який з успіхом використовується в якості гепатопротектора при ураженні печінки різної етіології, проявляючи потужні антиоксидантні та цитопротекторні властивості [Нейко, Шевчук, 1998; Шевчук, 1998; Мазур и др., 2005].

Метою даного дослідження було з'ясування змін гістологічної структури печінки при її гострому ураженні парацетамолом та при лікувально-профілактичному призначенні тіотриазоліну і ацетилцистеїну.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 170-200 г, яких утримували за стандартних умов харчового, температурного та світлового режимів виварію. Піддослідних тварин розділили на групи: 1 - інтактні, 2 - тварини, яким вводили внутрішньошлунково парацетамол (1250 мг/кг, що становило ? LD50, у вигляді суспензії у 2 % розчині крохмального гелю,

протягом 2 дб), 3 і 4 - тварини, яким вводили відповідно ацетилцистеїн і тіотриазолін (внутрішньоочеревинно, по 150 мг/кг і по 100 мг/кг маси тварини; 2, 7, 14 дб), 4 - тварини, яким вводили (внутрішньоочеревинно, починаючи з 1 дня введення парацетамолу, 2, 7, 14 дб). Гістологічні дослідження проводили на 3, 8 та 15 доби після моделювання патології, для цього шматочки тканини печінки фіксували у 10 % нейтральному розчині формаліну. Отримані на санному мікротомі зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, характер і глибину морфологічних змін документували за допомогою мікроскопа ЛОМО Биолам-И і системи виводу зображень гістологічних препаратів. Роботу виконували відповідно до правил Європейської конвенції про гуманне ставлення до лабораторних тварин (European convention the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes - Consul of Europe. Strasbourg, 1986) та загальних принципів експериментів на тваринах, ухвалених І національним конгресом з біоетики [European Convention ..., 2012].

Результати. Обговорення

Відомо, що для печінки характерна значна структурна і функціональна неоднорідність. Існування анатомічно розділених популяцій перипортальних, проміжних і перивенозних гепатоцитів пояснює те, яким чином в межах одного органа і при наявності лише одного типу паренхіматозних клітин, вдається поєднувати численні і часто протилежно спрямовані метаболічні процеси [Сердюков и др., 2008].

При гістологічному дослідженні печінки тварин, яким вводили парацетамол, виявлено, що часточкова структура досліджуваного органа була порушеною. Центральні вени розширювались і містили незначну кількість еритроцитів. Синусоїди візуалізувались слабо, проте в місцях, де просвіти проглядалась, можна було побачити поодинокі макрофаги (рис. 1).

Ядра різних форм та розмірів, в основному гіперхромні, спостерігались у переважаючій більшості клітин. Судини портальних трактів значно розширювались, містили помірну кількість еритроцитів (див. рис. 1). Периваскулярні простори були із ознаками набряку та

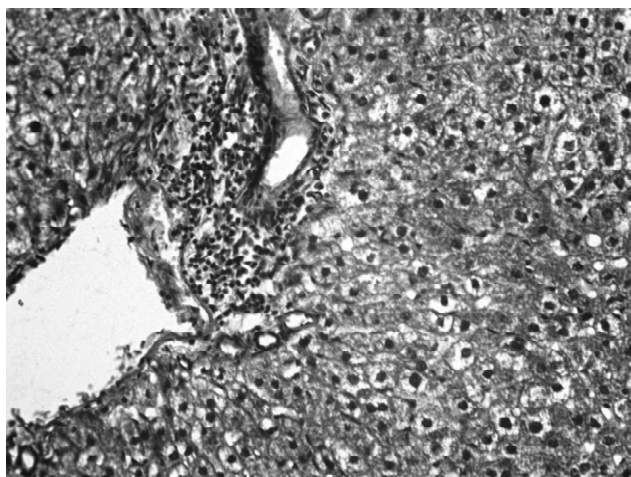


Рис. 1. Гістологічна структура печінки тварини при дії парацетамолу (у дозі 1250 мг/кг протягом двох діб). Гематоксилін-еозин. x200.

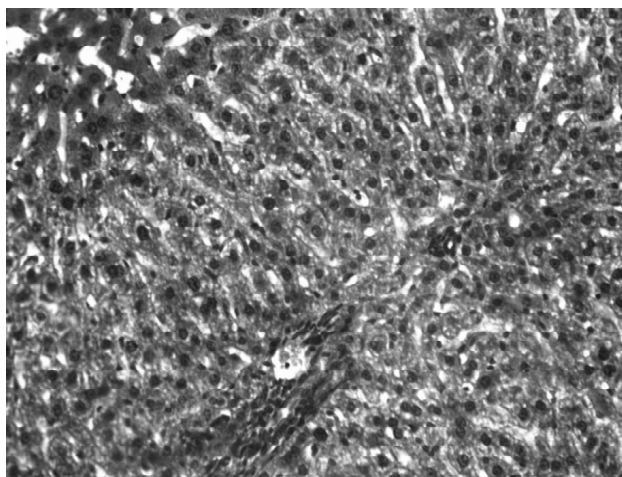


Рис. 2. Гістологічна структура печінки тварини при дії парацетамолу (у дозі 1250 мг/кг, 8 доба експерименту). Гематоксилін-еозин. x200.

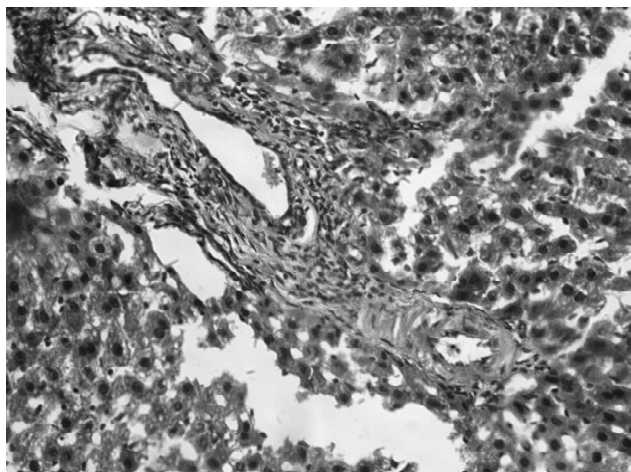


Рис. 3. Гістологічна структура печінки тварини при дії парацетамолу (у дозі 1250 мг/кг, 15 доба експерименту). Гематоксилін-еозин. x200.

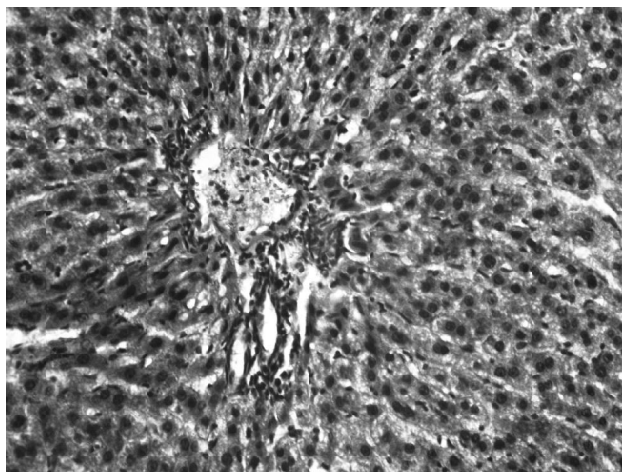


Рис. 4. Гістологічна структура печінки тварини при дії парацетамолу (у дозі 1250 мг/кг протягом двох діб) та ацетилцистеїну (у дозі 150 мг/кг протягом двох діб). Гематоксилін-еозин. x200.

містили виражені лімфо-гістіоцитарні інфільтрати. Балкова організація клітин була порушеною. Гепатоцити мали різну форму та розміри, цитоплазма їх була неоднорідною, місцями просвітленою, дрібнозернистою або не контурувалась, із ознаками гіаліново-крапельної білкової дистрофії (див. рис. 1).

На 8 добу експерименту мікроскопічно ядра гепатоцитів візуалізувались добре, були гіперхромними, спостерігались у переважній більшості клітин. В центролобулярних зонах в гепатоцитах переважали дистрофічно-некротичні зміни. Судини портальних трактів помірно розширювались, містили незначну кількість еритроцитів. Відмічено помірно виражений набряк периваскулярних просторів та їх лімфогістіоцитарну інфільтрацію. Синусоїди візуалізувались слабо, в їх просвітах можна було спостерігати незначну кількість макрофагів. Балкова організація гепатоцитів була збереженою частково. Клітини мали різну форму та структуру. Їх цитоплаз-

ма переважно була просвітленою із ознаками гіаліново-крапельної білкової дистрофії (рис. 2).

При гістологічному дослідженні тканини печінки уражених парацетамолом тварин, яким проводили забір на 15 добу після моделювання патології, ми спостерігали, що структура печінкової часточки була збереженою частково. Центральні вени значно розширювались, проте не містили еритроцитів. Синусоїди візуалізувались слабо, в їх просвітах спостерігались поодинокі макрофаги, еритроцити були відсутніми. Відмічався стромальний набряк (рис. 3).

Балкова структура гепатоцитів була збереженою частково. Цитоплазма клітин - зерниста, неоднорідної структури із ознаками гіаліново-крапельної дистрофії. Ядра клітин просвітлені, з чітко оконтурованими ядерцями, в переважній більшості клітин були збереженими. Портальні тракти розширені за рахунок перидуктивного та вираженого периваскулярного набряку (див.

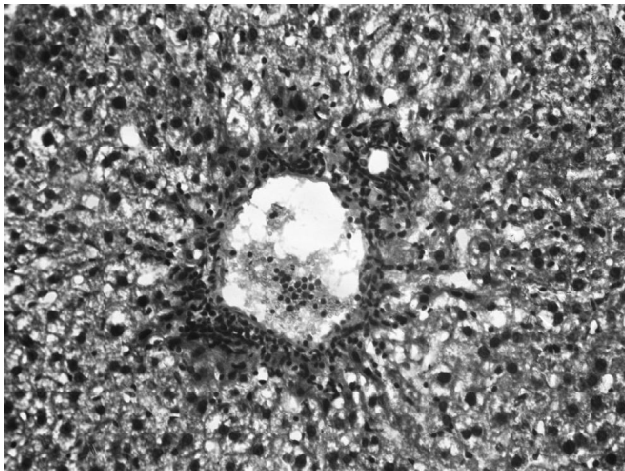


Рис. 5. Гістологічна структура печінки тварини при дії парацетамолу (у дозі 1250 мг/кг протягом двох діб) та ацетилцистеїну (у дозі 150 мг/кг протягом 7 діб). Гематоксилін-еозин. x200.

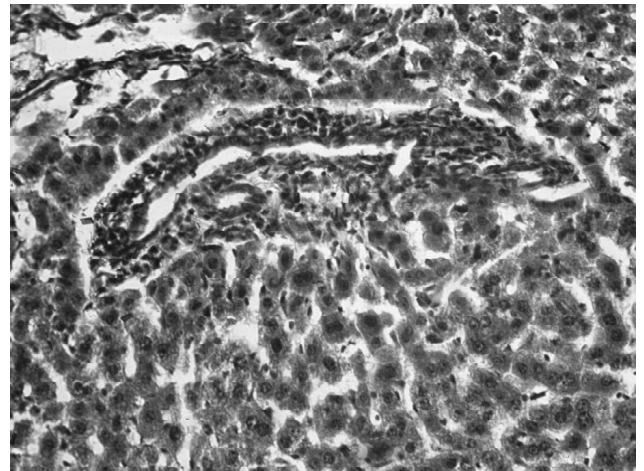


Рис. 6. Гістологічна структура печінки тварини при дії парацетамолу (у дозі 1250 мг/кг протягом двох діб) та ацетилцистеїну (у дозі 150 мг/кг протягом 14 діб). Гематоксилін-еозин. x200.

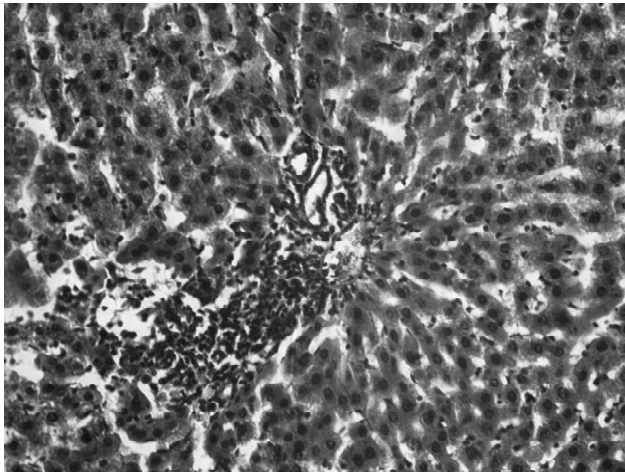


Рис. 7. Гістологічна структура печінки тварини при дії парацетамолу (у дозі 1250 мг/кг протягом двох діб) та тіотриазоліну (у дозі 100 мг/кг протягом двох діб). Гематоксилін-еозин. x200.

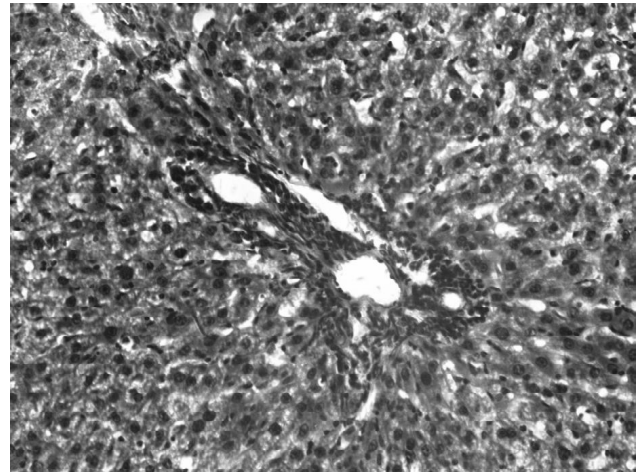


Рис. 8. Гістологічна структура печінки тварини при дії парацетамолу (у дозі 1250 мг/кг протягом двох діб) та тіотриазоліну (у дозі 100 мг/кг протягом 7 діб). Гематоксилін-еозин. x200.

рис. 3). Мала міра виражена лімфо-гістіоцитарна інфільтрація стромы. В периваскулярних просторах контурувались формування сполучної тканини.

Особливості структурних змін печінки при ураженні парацетамолом та в процесі його корекції антиоксидантами є критерієм, який дозволяє зробити об'єктивні висновки про ефективність застосованих препаратів, що може бути основою для обґрунтування розробки нових комбінованих засобів, призначених для ефективної профілактики токсичних уражень печінки парацетамолом.

При гістологічному дослідженні печінки експериментальних тварин, корекцію гепатотоксичної дії парацетамолу у котрих проводили введенням ацетилцистеїну протягом 2 діб у дозі 150 мг/кг (рис. 4), виявлено, що часточкова структура була порушеною. Центральні вени розширювались і містили незначну кількість еритроцитів. Синусоїди візуалізувались слабо, проте в місцях, де

просвіти проглядались, можна було побачити поодинокі макрофаги.

Балкова організація клітин була порушеною. Гепатоцити мали різну форму та розміри, цитоплазма їх була неоднорідною, місцями просвітленою, дрібнозернистою або не контурувалась, із ознаками гіаліново-крапельної білкової дистрофії (див. рис. 4). Ядра різних форм та розмірів, в основному гіперхромні, спостерігались у переважаючій більшості клітин. Судини портальних трактів значно розширювались, містили помірну кількість еритроцитів (див. рис. 4). Периваскулярні простори були із ознаками набряку та містили виражені лімфо-гістіоцитарні інфільтрати.

При гістологічному дослідженні структури печінки при застосуванні парацетамолу та ацетилцистеїну на 8 добу експерименту виявлялися осередки із збереженою часточковою будовою органа. Центральні вени

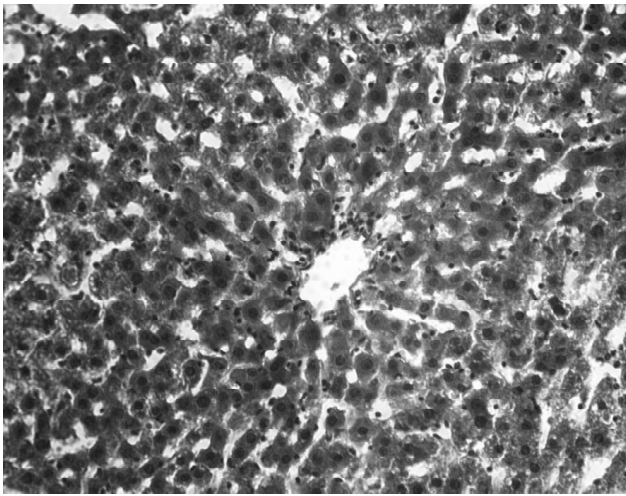


Рис. 9. Гістологічна структура печінки тварини при дії парацетамолу (у дозі 1250 мг/кг протягом двох діб) та тіотриазоліну (у дозі 100 мг/кг протягом 14 діб). Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

значно розширювались та містили незначну кількість еритроцитів. В периваскулярних полях спостерігався набряк, накопичення великої кількості макрофагів та лімфоїдно-гістіоїдних інфільтратів. В центролобулярних гепатоцитах переважали явища дистрофічно-некротичних змін. Просвіти синусоїдів візуалізувались мало, проте у них можна було виявити незначну кількість макрофагів (рис. 5).

Балкова організація гепатоцитів була збереженою частково. Цитоплазма переважної більшості клітин залишалась просвітленою, зернистою, в окремих клітин спустошеною, мала місце виражена гіаліново-крапельна білкова дистрофія. Ядра клітин мали різну форму, проте були гіперхромними і виявлялись у переважачої більшості гепатоцитів (див. рис. 5).

При гістологічному дослідженні структури печінки експериментальних тварин, яким для корекції гепатотоксичної дії парацетамолу ацетилцистеїн вводили протягом 14 діб у дозі 150 мг/кг, відмічено, що просвіти центральних вен помірно розширені та деформовані. Синусоїди в переважній більшості полів зору також були розширеними і не містили еритроцитів та макрофагів. Периферичні гепатоцити залишались збереженими. Серед них спостерігалися двоядерні паренхіматозні печінкові клітини. Виявлялися також осередки гепатоцитів з переважно однаковими розмірами, зернистою просвітленою цитоплазмою, місцями спустошеною та із ознаками гіаліново-крапельної дистрофії. Межі цих клітин були нечіткими, а ядра гіперхромними. Відмічався помірно виражений перивазальний та стромальний набряк (рис. 6).

При гістологічному дослідженні структури печінки експериментальних тварин, яким корекцію гепатотоксичної дії парацетамолу проводили тіотриазоліном протягом 2 діб у дозі 100 мг/кг, виявлено, що часточкова структура була певною мірою збережена. Центральні

вени розширювались та містили незначну кількість еритроцитів. У периваскулярних зонах скупчувалась незначна кількість макрофагів. Центролобулярні гепатоцити не містили виражених змін. Синусоїди добре візуалізувались, у їх просвітах можна було побачити незначну кількість макрофагів, еритроцити не виявлялись. Балкова організація клітин була збереженою. Переважна більшість гепатоцитів мали однакові правильної форми розміри клітин, цитоплазма однорідна, ядра добре візуалізувались, були гіперхромними та виявлялись у всіх клітинах (рис. 7).

Портальні тракти були розширеними переважно за рахунок набряку та виражених лімфо-гістіоцитарних інфільтратів, які розміщувались периваскулярно. Судини портальних трактів незначно розширювались, містили помірну кількість еритроцитів, спостерігався помірно виражений набряк перивазальних тканин.

При гістологічному дослідженні структури печінки експериментальних тварин, яким корекцію гепатотоксичної дії парацетамолу проводили тіотриазоліном протягом 7 діб у дозі 100 мг/кг, також виявлялися патологічні зміни, які проявлялися меншою мірою, ніж у попередній групі. Структура печінкової часточки була збереженою частково. Центральні вени розширювались, проте не містили еритроцитів. Центролобулярні гепатоцити не ушкоджувались, проте в периваскулярному просторі виявлялась помірна кількість макрофагів.

Синусоїди візуалізувались слабо на всьому протязі часточки, в їх просвітах можна було побачити еритроцити. Балкова організація гепатоцитів була збереженою частково. Відмічалась зернистість печінкових паренхіматозних клітин. Цитоплазма їх з наявністю гіаліново-крапельної білкової дистрофії. Ядра збережені переважно у всіх паренхіматозних печінкових клітинах, добре контурувались, в окремих гепатоцитах вони були гіперхромними. Судини портальних трактів помірно розширені, еритроцитів в них не відмічалось. Периваскулярні простори з помірно вираженим набряком з незначною лімфо-гістіоцитарною інфільтрацією (рис. 8).

При гістологічному дослідженні структури печінки експериментальних тварин, яким корекцію гепатотоксичної дії парацетамолу проводили введенням тіотриазоліну протягом 14 діб у дозі 100 мг/кг, відмічено збереження структури печінкової часточки. Центральні вени дещо розширювались та містили в просвітах поодинокі еритроцити. Центролобулярні гепатоцити були збереженими, проте в периваскулярному просвіті спостерігались накопичення макрофагів.

Аналогічна картина спостерігалась і у просвітах синусоїдів, де зустрічались як поодинокі еритроцити, так і достатня кількість макрофагів. Балкова організація гепатоцитів була збереженою, паренхіматозні печінкові клітини однотипні, структура цитоплазми однорідна, місцями дрібнозерниста із ознаками незначної білкової дистрофії, особливо в центральних частинах часточки. Ядра добре контуровані, окремі гіперхромні -

виявлялись у всіх клітинах. Портальні тракти дещо розширювались за рахунок незначного розширення судин, помірного перивазального та перидуктивного набряків. У перивазальних тканинах локалізувалися лімфо-гістіоцитарні інфільтрати (рис. 9).

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Введення дослідним тваринам парацетамолу у дозі 1250 мг/кг призводить до виражених судинних розладів, дистрофічних та некробіотичних змін централобулярних гепатоцитів, лімфо-гістіоцитарної інфільтрації портальних трактів, порушень часточкової структури печінки. Найбільш виражені структурні зміни у досліджуваному органі спостерігаються на 2 та 7 доби експерименту, з деяким зменшенням морфологічних порушень печінки на 14 добу досліджень.

2. Поєднане введення білим щурам парацетамолу та ацетилцистеїну супроводжується помірними судинними розладами, деяким зменшенням ступеня вира-

женості дистрофії, некробіозу гепатоцитів, лімфо-гістіоцитарної інфільтрації, частковим збереженням балкової організації гепатоцитів.

3. Тіотриазолін при його лікувально-профілактичному введенні при ураженні печінки парацетамолом більшою мірою, ніж ацетилцистеїн, сприяє регресуванню патогістологічних змін печінки, істотно зменшуючи прояви дистрофії та некробіозу паренхіматозних печінкових клітин, осередки лімфоїдно-гістіоїдної інфільтрації портальних трактів, стимуляції регенераторних процесів у досліджуваному органі.

Грунтуючись на отриманих результатах та даних літератури, можна стверджувати, що встановлення гепатопротекторних властивостей тіотриазоліну та ацетилцистеїну при ураженні печінки парацетамолом є основою для подальшого дослідження гепатозахисних властивостей цих препаратів та інших попередників синтезу глутатіону з метою розробки та створення ефективних комбінованих засобів, здатних ефективно попереджувати гостре ураження печінки парацетамолом.

Список літератури

- Бабак О.Я. Лекарственные поражения печени: вопросы теории и практики /О.Я.Бабак //Ліки України.- 2008.- №2 (118).- С.96-101.
- Буеверов А.О. Общие представления о лекарственных поражениях печени /А.О.Буеверов //Клин. перспективы гастроэнтерол., гепатол.- 2002.- №4.- С.7-11.
- Клиническое применение тиотриазолина в терапии /И.А.Мазур, Н.А.Волошин, И.С.Чекман [и др.] //Сучасна гастроентерологія.- 2005.- №5 (25).- С.76-79.
- Нейко Є.М. Тіотриазолін як засіб патогенетичної терапії хронічного гепатиту /Є.М.Нейко, І.М.Шевчук // Журнал АМН України. -1998.- Т.4, №4.- С.736-744.
- Шевчук І.М. Комплексна патогенетична терапія хронічного гепатиту з використанням тіотриазоліну / І.М.Шевчук //Вісник проблем медичної реабілітації та фізіотерапії.- 1998.- №4-5.- С.23.
- European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes, 18 March 1986 [Electronic resource] //Council of Europe. Treaty Office.- Mode of access: <http://www.conventions.coe.int/Treaty/en/Treaties/Html/123.htm>.- Date of access: 15.09.2012.
- Сердюков Я.К. Патолого-анатомічні та гістологічні зміни в печінці щурів за медикаментозного гепатиту /Я.К.Сердюков, О.М.Литвиненко, В.А.Грищенко //Сучасні проблеми токсикології.- 2008.- №2.- http://medved.kiev.ua
- Mortensen M.T. Acetaminophen Recommendation /M.T.Mortensen, J.L.Cullen //Pediat.- 2002.- Vol.110, №3.- P.646.
- Mahadevan S.B. Paracetamol induced hepatotoxicity /S.B.Mahadevan, P.J.McKiernan, P.Davies //Archives of Disease in Childhood.- 2006.- Vol.91.- P.598-603.

Посохова Е.А., Вольская А.С., Чернухина А.А.

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ЕЕ ПОРАЖЕНИИ ПАРАЦЕТАМОЛОМ И НАЗНАЧЕНИИ ТИОТРИАЗОЛИНА И АЦЕТИЛЦИСТЕИНА

Резюме. В экспериментах на белых крысах-самцах установлено, что предшественники биосинтеза глутатиона тиотриазолин и ацетилцистеин уменьшают нарушения гистологической структуры печени, возникающие при остром парацетамолом гепатите.

Ключевые слова: печень, парацетамол, тиотриазолин, ацетилцистеин.

Posokhova K.A., Volska A.S., Chernuhina O.O.

CHANGES OF HISTOLOGICAL STRUCTURE OF THE LIVER AT ITS AFFECTION WITH PARACETAMOL AND PRESCRIPTION THIOTRIAZOLIN AND ACETYLCYSTEINE

Summary. It was found in experiments on albino rats that precursors of Glutathione biosynthesis Acetylcysteine and Thiotriazolin reduce violation of liver histological structure in acute paracetamol hepatitis.

Key words: liver, Paracetamol, Thiotriazolin, Acetylcysteine.

Стаття надійшла до редакції 22.05.2013 р.

Посохова Катерина Андріївна - д.мед.н., професор, завідувач кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського державного медичного університету імені І.Я.Горбачевського; kposokhova@gmail.com; (0352) 523987;
Вольська Аліна Станіславівна - асистент кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського державного медичного університету імені І.Я.Горбачевського; 3777alina@rambler.ru; (0352) 523987;
Чернухіна Олена Олександрівна - к.мед.н., асистент кафедри внутрішньої медицини Тернопільського державного медичного університету імені І.Я.Горбачевського; chernuhinao@tdmu.edu.te.ua; (0352) 523987.