

О.Н. Малах

Влияние предварительной гипобароадаптации на морфофункциональное состояние печени экспериментальных животных при токсическом воздействии

Несмотря на постоянное расширение арсенала медикаментозных методов лечения токсических гепатитов, продолжает оставаться актуальным поиск новых средств. Организм животного и человека обладает способностью отвечать на развитие патологического процесса и воздействию различных факторов внешней и внутренней среды защитными реакциями, которые обеспечивают регуляцию жизнедеятельности организма на разных уровнях его интеграции.

Применение гипобароадаптации для повышения резистентности организма к различным стрессорам, а особенно к воздействию ксенобиотиков, является одним из перспективных направлений современной медицинской науки. Оценка морфофункционального состояния печени – необходимое условие подобных исследований. Важным представляется и исследование гепатопротекторного эффекта, вызванного адаптацией к гипобарической гипоксии при токсическом поражении печени.

Доказано, что адаптация к гипоксическому воздействию оказывает множественные биологические эффекты на уровне целостного организма [1–2]. Сопоставление этих эффектов позволяет найти наиболее рациональный режим адаптации организма к гипоксии, с целью повышения его резистентности.

К настоящему времени отсутствуют данные, касающиеся изучения влияния гипобароадаптации на организм при токсическом поражении его печени, что делает данную работу актуальной. В связи с этим, целью нашего исследования было изучение влияния предварительной гипобароадаптации на организм, подвергшийся токсическому воздействию.

Эксперимент проведен на взрослых белых беспородных крысах массой 150–200 г, которые были разделены на 3 группы: 1-я группа – контрольные животные; 2-я группа – подопытные, подвергшиеся токсическому воздействию тетрахлорметана (CCl_4); 3-я группа – подопытные животные, с токсическим гепатитом, предварительно прошедшие курс адаптации к гипоксии в условиях барокамеры в течение 22-х дней.

Токсическое поражение печени вызывали введением тетрахлорметана. CCl_4 вводили однократно внутривентрикулярно через зонд в дозе 0,8 мл на 100 г массы в виде 50% масляного раствора. Забор материала у животных второй группы производили на третьи сутки после введения тетрахлорметана.

Предварительная адаптация к гипобарической гипоксии животных третьей группы осуществлялась в барокамере, в которой создавали давление, соответствующее условиям на высоте 3500 м над уровнем моря. Подъем крыс на заданную высоту осуществлялся со скоростью 8 м/с, а спуск производился со скоростью 5 м/с. В течение 22 суток животные проводили в барокамере еже-

дневно по одному часу с учетом времени на полный «подъем» и «спуск». На 23-й день вводили тетрахлорметан. После чего на 25-й день у животных третьей группы производили забор материала. Общее количество гипоксических сеансов для данной группы было равным 22.

Для морфологического анализа готовили гистологические препараты печени по методике [3]. На гистологических препаратах проводили общую оценку состояния печени с помощью компьютерного анализатора изображений BIOSCAN-NT (Республика Беларусь).

Биохимическое исследование сыворотки крови проводили при помощи диагностических наборов фирмы Cormay Diana (Польша) на автоматических анализаторах: спектрофотометр PV 1251С «Солар» (Республика Беларусь), спектрофотометр «CORMAY MULTI» (Польша), REFLOTRON (Германия). Были определены следующие показатели: холестерин общий (ХС), холестерин-ЛПВП (ХС-ЛПВП), холестерин-ЛПНП (ХС-ЛПНП), триглицериды, индекс атерогенности липидов, креатинин, билирубин общий, гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), общий белок, щелочная фосфатаза (ЩФ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), альбумин.

Таблица 1

Влияние предварительной адаптации к гипоксии на биохимические показатели у крыс с экспериментальным токсическим гепатитом

Показатель	Группа 1 (контроль)	Группа 2	Группа 3
ХС, ммоль/л	1,75±0,06	1,9±0,07	2,4±0,04* ⁰
ХС-ЛПВП, ммоль/л	0,75±0,02	0,6±0,08	1,52±0,04* ⁰
ХС-ЛПНП, ммоль/л	0,8±0,06	0,9±0,09	0,59±0,05* ⁰
Триглицериды, ммоль/л	0,3±0,01	0,75±0,06*	0,63±0,04*
ИАЛ	1,3±0,07	3,1±0,5*	0,6±0,04* ⁰
Общий белок, г/л	69,9±0,6	74,4±2,5	72,16±0,77*
Альбумин, г/л	28,02±0,3	26,7±0,3*	32,6±0,5* ⁰
Креатинин, мкмоль/л	64,96±0,6	73,4±1,75*	66,19±1,08 ⁰
Билирубин, мкмоль/л	0,42±0,01	9,6±1,6*	0,69±0,08* ⁰
АСТ, Е/л	257,3±11	100,1±26,6*	216,31±11,4* ⁰
АЛТ, Е/л	68,6±1,6	112,5±31,5	69,85±6
ГГТ, Е/л	4,1±0,2	21,3±3,2*	6,02±0,44* ⁰
ЩФ, Е/л	181,7±9,9	402±27,9*	330,8±21,8* ⁰

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ⁰ – $p < 0,05$ по сравнению со второй группой.

Влияние предварительной адаптации к гипоксии и токсического воздействия на организм крыс представлено в табл. 1. В результате токсического поражения печени CCl₄ имела место тенденция к повышению общего холестерина, что могло быть обусловлено задержкой выделяемого холестерина с желчью, вследствие сдавливания синусоидов клеточными инфильтратами в результате баллонной дистрофии или нарушения белкового обмена. Ряд авторов [1–2] указывают на снижение общего холестерина при токсическом гепатите. Наши исследования показали достоверное увеличение в 2,4 раза ин-

декса атерогенности липидов после однократного введения тетрахлорметана, что могло быть связано с исходным состоянием липидотранспортной системы. Вместе с тем ряд исследований указывает на снижение данного показателя при токсическом гепатите. Введение CCl_4 способствовало понижению уровня ХС-ЛПВП на 20% и повышению содержания ХС-ЛПНП на 12,5%. Следует отметить, что изменения данных показателей находятся в пределах нормы. Наряду с этим выявлено достоверное увеличение триглицеридов при токсическом гепатите на 150%. Повышение данного показателя подтверждается и другими авторами [4]. При обзорном изучении гистологических препаратов нами была выявлена жировая дистрофия.

Ожирение печени закономерно сопровождается понижением содержания белка в гепатоцитах, что приводит к снижению белоксинтетической функции печени. Так, было выявлено достоверное снижение альбуминов в сыворотке крови на 4,7% после введения тетрахлорметана. Вместе с тем имела место тенденция повышения уровня общего белка. Нарушение синтеза белка в печени при токсическом гепатите связано с повреждением паренхимы, что подтверждается наличием гидропической баллонной дистрофии, которая является выражением очагового колликвационного некроза.

Уровень креатинина после введения тетрахлорметана повысился на 13%. Следовательно, дистрофические изменения печеночных клеток могут быть обусловлены главным образом нарушениями энергетической системы гепатоцита, а не снижением ее белоксинтетической функции. Данное утверждение также подтверждается и тем, что максимальное число ядер приходится на два размерных класса 200–400 $\mu\text{м}^3$ и 400–600 $\mu\text{м}^3$ (табл. 2), что подтверждается и средним объемом гепатоцитов – $474,9 \pm 48,8 \mu\text{м}^3$ (в контрольной группе данный показатель составил $251,42 \pm 16,17$). Также следует отметить выраженную гетерогенность размеров ядер – у животных с токсическим гепатитом регистрировались ядра всех размерных классов, что является признаком прогрессирующего патологического процесса в печени в результате воздействия CCl_4 .

Таблица 2

Влияние предварительной адаптации к гипоксии на профиль распределения ядер гепатоцитов по объемным размерным классам у крыс с экспериментальным токсическим гепатитом

Объем ядра, $\mu\text{м}^3$	Количество ядер, %		
	Группа 1 (контроль)	Группа 2	Группа 3
80–200	$26 \pm 6,1$	$2,2 \pm 1,2^*$	$5,1 \pm 1,8^*$
200–400	$71,8 \pm 5,2$	$37,3 \pm 8,6^*$	$52,2 \pm 9,5$
400–600	$1,8 \pm 1,1$	$42,3 \pm 8,6^*$	$25,1 \pm 4,3^*$
600–800	$0,4 \pm 0,4$	$12,35 \pm 5,8^*$	$13 \pm 3,3^*$
800–1000	–	$5,85 \pm 4,5^*$	$4,6 \pm 2,9^*$

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Токсическое поражение печени приводит к нарушению ее пигментообразующей функции, что подтверждается увеличением билирубина в 22,9 раза.

При токсическом гепатите наблюдается преимущественная активность АЛТ [5–8], что также подтверждается нашими исследованиями, и является

свидетельством цитолитического процесса в печени. Это связано с развитием диффузного склерозирования. Также при токсическом гепатите повышается уровень ЩФ, что подтверждается данными литературы [9] и свидетельствует о холестатических изменениях в печени. Повышение данного показателя связано с дисфункцией мембран гепатоцитов или с застоем желчи вследствие некротических изменений в печени.

Изменения биохимических показателей при токсическом гепатите заключаются в увеличении содержания билирубина, триглицеридов и активности АЛТ и ЩФ, что приводит к тяжелому поражению печени по цитолитическому типу с холестатическим компонентом.

Предварительная бароадаптация при токсическом гепатите способствовала уменьшению уровня триглицеридов на 16%, ХС-ЛПНП на 52%, и индекса атерогенности в 2 раза, а также повышению антиатерогенной фракции липопротеидов высокой плотности на 61%, что свидетельствует об активации обратного транспорта холестерина. Вместе с тем анализ гистологических срезов не показал накопления липидов в гепатоцитах, в отличие от животных с токсическим гепатитом, где была выявлена жировая дистрофия. Таким образом, подтвердилось нормализующее действие предварительной адаптации к барокамерной гипоксии на липидный обмен при токсическом гепатите.

Выявлена положительная динамика белкового обмена у предварительно адаптированных животных. Так, содержание общего белка нормализовалось, а уровень альбумина повысился на 22,1%, чем у животных с токсическим гепатитом. Предварительная бароадаптация способствует нормализации креатинина при токсическом поражении печени. Таким образом, у предварительно адаптированных животных наблюдается повышение белоксинтетической функции печени, в отличие от животных с токсическим гепатитом, где наблюдается угнетение биосинтеза белка. Хотя у предварительно адаптированных животных при токсическом гепатите также наблюдалась гетерогенность ядер, как и у крыс с токсическим гепатитом, но сдвиг к увеличению числа ядер с большими объемами не такой резкий. Здесь значительный процент ядер ($52,2 \pm 9,5\%$) принадлежит классу $200-400 \text{ мкм}^3$, что подтверждается показателем среднего объема гепатоцита – $420,2 \pm 41,58 \text{ мкм}^3$.

Уровень билирубина после предварительной бароадаптации понизился на 93% по сравнению с неадаптированными животными. Результаты нашего эксперимента показали снижение активности ферментов цитолиза, причем для АЛТ имеет место тенденция к нормализации. Таким образом, предварительная адаптация к гипоксии при токсическом гепатите приводит к отсутствию эффекта цитолитичности, что подтверждается данными гистологических срезов, где морфологические изменения соответствуют норме. Вместе с тем было выявлено повышение уровня ферментов холестаза. Однако их активность была ниже, чем у животных с токсическим гепатитом, соответственно для ГГТ на 71,7% и для ЩФ – на 18%.

При отравлении тетрахлорметаном смертность животных составляла 35,8%. В то же время смертность после предварительной адаптации к гипоксии с последующим введением CCl_4 понизилась в 3,4 раза и составила 10,7%.

Таким образом, предварительная гипобароадаптация на высоте 3500 м вызывает гепатопротекторный эффект при токсическом воздействии на организм.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Айтбаев, Н.А.** Распространенность атерогенных дислипидемий среди горцев / Н.А. Айтбаев, Т.С. Мейманалиев // Кардиология. – 1992. – Т. 31, № 1. – С. 9–11.

2. **Gagnon, R.** Fetal endocrine responses to chronic placental embolization in the late-gestation ovine fetus / R. Gagnon, J. Challis, L. Johnston, L. Fraher // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1994. – Vol. 170, № 3. – P. 929–938.
3. **Сапожников, А.Г.** Гистологическая и микроскопическая техника: руководство / А.Г. Сапожников, А.Е. Доросевич. – Смоленск: САУ, 2000. – 476 с.
4. **Подымова, С.Д.** Болезни печени: руководство для врачей / С.Д. Подымова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1993. – 544 с.
5. **Влияние хлоридно-гидрокарбонатной натриевой минеральной воды Рычал-Су на некоторые физиологические и биохимические показатели печени крыс с экспериментальным токсическим гепатитом** / И.Ш. Эмирбеков, Ю.А. Огурцов, В.А. Макаров, С.А. Реккандт // *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечеб. физ. культуры.* – 2001. – № 5. – С. 24–26.
6. **Amacher, D.E.** Serum transaminase elevations as indicators of hepatic injury following the administration of drugs / D.E. Amacher // *Regul Toxicol Pharmacol.* – 1998. – Vol. 27, № 2. – P. 119–130.
7. **Antihepatotoxic activity of *Rosmarinus tomentosus* in a model of acute hepatic damage induced by thioacetamide** / M. Galisteo, A. Soares, M. del Pilar Montilla e.a. // *Phytother Res.* – 2000. – Vol. 14, № 7. – P. 522–526.
8. **Bleeding gastric ulcers and acute hepatitis: 2 simultaneous adverse reactions due to nimesulide in a case** / S. Tejos, N. Torrejon, H. Reyes, M. Meneses // *Rev Med Chil.* – 2000. – Vol. 128, № 12. – P. 1349–1353.
9. **The efficacy of hepatoprotective agents in experimental chronic hepatitis** / A.S. Saratikov, A. Vengerovskij, N.O. Baturina, V.S. Chuchalin // *Eksp Klin Farmakol.* – 1996. – Vol. 59, № 1. – P. 24–26.

S U M M A R Y

Changes of biochemical indexes at a toxic hepatitis lie in augmentation of the contents of a bilirubin, triglycerides and activity alaninaminotransferase and an alkaline phosphatase that results in a severe injury of a liver for cytolytic phylum with holestatik an ingredient. Preliminary hypobaroadaptation at height of 3500 m above sea level within 22 days at toxic influence promotes normalization of a morphofunctional state of a liver of experimental animals. At a venenating with a tetrachlor-methane the mortality of animals compounded 35,8%. At the same time, the mortality after preliminary acclimatization to a hypoxia with subsequent injection CCl₄ was declined in 3,4 times and has made 10,7%. Pre-award hypobaroadaptation has hepatoprotective effect at a toxic lesion of a liver.

Поступила в редакцию 8.01.2007