

Анализ эффективности применения новой аминокислотной смеси при гелиотриновом поражении печени по данным морфологических методов исследований

Сайфутдинова З.А.¹, Каримов Х.Я.², Саидов А.Б.²

¹Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр гематологии, Узбекистан, Ташкент

²Ташкентская медицинская академия, Узбекистан

Sayfutdinova Z.A.¹, Karimov Kh.Ya.², Saidov A.B.²

¹Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Hematology, Uzbekistan, Tashkent

²Tashkent Medical Academy, Uzbekistan

Analysis of the effectiveness of the use of a new amino acid mixture in heliotrinic liver damage according to the data of morphological research methods

Резюме. Увеличение заболеваемости гепатитом и циррозом печени связано с широким применением сорных растений в составе злаков, к числу которого и относится гелиотроп опушенноплодный (*Heliotropium dasycarpum leddeb*), содержащий гепатотоксические алкалоиды пирролизидинового яда. Острая гелиотриновая интоксикация будет воспроизведена путем однократного введения крысам подкожно сублетальной дозы гелиотрина, приготовленного из расчета 40 мг на 100 г массы тела. По достижению получения заданной патологии контрольной группе вводился «Инфезол 40», а опытной – новый аминокислотный препарат. Инфузионная терапия будет проведена путем введения кровезаменителей в хвостовую вену крысам в дозе 5 мл/кг массы тела в течение 5 дней. При гелиотриновом гепатите в ткани печени возникает комплекс нескольких патологических процессов. Наблюдаются незначительное морфологическое увеличение ткани печени, округление краев, утолщение консистенции печени. Микроскопически фрагменты печени немного увеличены. Полости синусоид имеют разную ширину, увеличены вокруг некротических гепатоцитов и фагоцитируются макрофагами. В частности, сукцинат натрия в «специальном плазмозамещающем» растворе основан на стабилизации клеточной мембраны: четкие и гладкие границы мембраны гепатоцита. По сравнению с гепатоцитами, наблюдаемыми в инфузионном растворе «Инфезола 40», эффектом сукцината натрия (антиоксидант) и маннита (стабилизатор мембраны) в «специальном плазмозамещающем» растворе было уменьшение синусоидальных и интерстициальных полостей при 10–14 мкм. Стабилизация мембраны гепатоцитов является результатом утилизации избыточной жидкости в синусоидальных полостях и полостях Диссе. Гистологические исследования, проведенные при гелиотриновом поражении печени, показали высокую эффективность разработанной аминокислотной смеси на основе сукцината натрия и маннитола в сравнении с традиционными препаратами, применяемыми для лечения токсических гепатитов, что дает основание рекомендовать данный препарат и в клинических исследованиях.

Ключевые слова: гелиотрин, токсическое поражение печени, инфезол, аминокислотные смеси, крысы.

Медицинские новости. – 2021. – №7. – С.

Summary. The increase in the incidence of hepatitis and liver cirrhosis is associated with the widespread use of weeds in cereals, including the pubescent heliotrope (*Heliotropium lasiocarpum*), containing hepatotoxic alkaloids of pyrrolizidine poison. Acute heliotrin intoxication will be reproduced by a single subcutaneous administration of a sublethal dose of heliotrin to rats, prepared at the rate of 40 mg per 100 g of body weight. Upon reaching the desired pathology, the control group will be administered the drug «Infesol 40», and the experimental one – a new amino acid drug. Infusion therapy will be carried out by injecting blood substitutes into the tail vein of rats at a dose of 5 ml/kg of body weight for 5 days. With heliotrinic hepatitis, a complex of several pathological processes occurs in the liver tissue. There is a slight morphological increase in liver tissue, rounding of the edges, thickening of the liver consistency. Microscopically, liver fragments are slightly enlarged. Sinusoidal cavities have different widths, are enlarged around necrotic hepatocytes and are phagocytosed by macrophages. In particular, sodium succinate in a “special plasma-substituting” solution is based on the stabilization of the cell membrane: clear and smooth borders of the hepatocyte membrane. Compared to the hepatocytes observed in the infusion solution of «Infesol 40», the effect of sodium succinate (antioxidant) and mannitol (membrane stabilizer) in the “special plasma-substituting” solution was a decrease in sinusoidal and interstitial cavities at 10–14 μm. Stabilization of the hepatocyte membrane is the result of the utilization of excess fluid in the sinusoidal and Disse cavities. The histological studies carried out in heliotrinic liver damage have shown the high efficiency of the developed amino acid mixture based on sodium succinate and mannitol in comparison with traditional drugs used to treat toxic hepatitis, which gives reason to recommend this drug in clinical trials.

Keywords: heliotrin, toxic liver damage, infesol, amino acid mixtures, rats.

Meditsinskie novosti. – 2021. – №7. – P.

В проблеме региональной патологии Средней Азии, в частности Узбекистана, инфекционно-аллергические и токсические гепатиты и циррозы занимают одно из центральных мест. Увеличение заболеваемости гепатитом и циррозом печени связано с широким применением сорных растений в составе злаков, к числу которого и относится гелиотроп опушенноплодный (*Heliotropium dasycarpum leddeb*), содержащий гепатотоксические алкалоиды пирролизидинового яда [3, 5, 7]. Как известно, гелиотриновое поражение

печени характеризуется острой печеночной недостаточностью или переходом в асцитную форму цирроза печени. Это не случайно, ведь именно изменения, происходящие при гелиотриновом поражении печени похожи на те, которые наблюдаются в клинике при поражении печени вирусной инфекцией. Как известно, нарушения при гелиотриновом поражении печени проявляются гиперферментемией при биохимическом исследовании трансаминаз (АЛТ, АСТ, щелочная фосфатаза, билирубин) [1]. В патоморфологической характеристике

печени при экспериментальном поражении гелиотрином на первый план выступают нарушения микроциркуляции ткани печени, нарушения балочного строения центральнобулярных печеночных долек с развитием обширных центротубулярных некрозов [4].

Применяемые в настоящее время инфузионные препараты, содержащие незаменимые и заменимые аминокислоты, отвечают всем требованиям, предъявляемым к аминокислотным растворам. Однако отсутствуют данные, касающиеся критериев их выбора и сравнительной

Рисунок 1 Морфология печени крыс, получавших питательный рацион в нормальных условиях

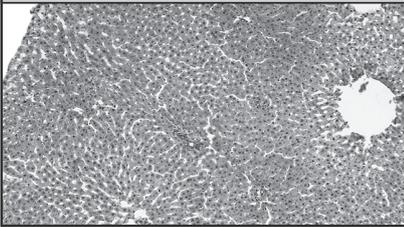


Рисунок 2 Ткань печени. Центральная вена. Гепатоциты расположены столбчатым рядом, цитоплазма окрашена однородно. В гепатоцитах ядра расположены в центре. Синусоидальные промежутки почти одинаковой ширины. Были идентифицированы клетки Купфера. Диссальные полости одинаковой ширины. Окраска: гематоксилином и эозином. 10x40

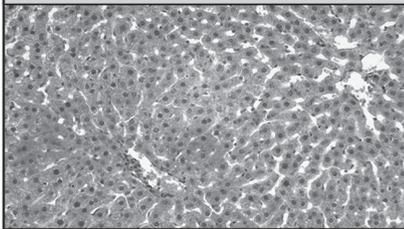
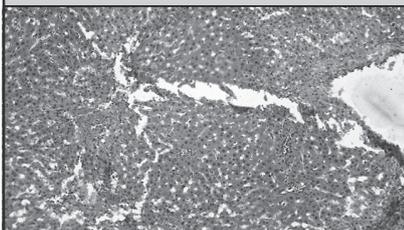


Рисунок 3 Общий вид ткани печени при остром гелиотриновом гепатите. На общем фоне большинство синусоидальных пространств увеличены различными способами. Нарушена преобладающая структура гепатоцитов. В гепатоцитах выявляются вспышки жировой дистрофии. Очаги лейкоцитарной инфильтрации выявляются в скоплениях и полостях небольших базофильных телец вокруг синусоидальной стенки. Окраска: гематоксилином и эозином. 4x10



клинической эффективности в интенсивной терапии критических состояний. Очевидно, что в широкой клинической практике предпочтение будут иметь растворы аминокислот, содержащие антиоксиданты, которые обладают наилучшими фармакологическими характеристиками. В последнее время большое внимание уделяется биоэнергетическим антиоксидантным комплексам, способным восстанавливать метаболизм в клетках, влиять на жизнедеятельность организма в целом. Это позволит врачам

правильно применять растворы аминокислот и грамотно строить программу парентерального питания [2]. Высокая стоимость таких зарубежных препаратов ограничивает их широкое использование в медицине. В связи с этим разработка отечественных, более совершенных метаболических средств коррекции гомеостаза имеет большое значение для отечественной медицины.

В научно-исследовательском институте гематологии и переливания крови Министерства здравоохранения Узбекистана был разработан кровезаменитель, содержащий аминокислоты и антиоксидантный комплекс с широким спектром действия, способный к синтезу белков, мобилизации энергетических и пластических ресурсов, оптимизации деятельности физиологических систем, ускорению процессов восстановления при тяжелых заболеваниях различной этиологии, связанных с нарушениями белково-энергетического обмена. Однако отсутствуют сведения на гистологическом уровне, доказывающие эффективность выбранной стратегии лечения, что и послужило актуальностью данного исследования.

Цель исследования – оценить по морфологическим параметрам эффективность применения новой аминокислотной смеси при экспериментальном токсическом гепатите, вызванном применением гелиотрина.

Материалы и методы

Для изучения эффективности действия нового аминокислотного кровезаменителя при токсическом гепатите использованы половозрелые белые крысы-самцы, содержащиеся в стандартных условиях вивария.

Острая гелиотриновая интоксикация была воспроизведена путем однократного введения крысам подкожно сублетальной дозы гелиотрина, приготовленного из расчета 40 мг на 100 г массы тела. По достижению получения заданной патологии контрольной группе вводили «Инфезол 40», а опытной – новый аминокислотный препарат. Инфузионная терапия проведена путем введения кровезаменителей в хвостовую вену крысам в дозе 5 мл/кг массы тела в течение 5 дней.

Токсический гепатит был воспроизведен путем подкожного введения гелиотрина (25 мг/100 г) (Абдуллаев Н.Х., Каримов Х.Я., 1979). По достижению получения заданной патологии контрольной группе будет вводить «Инфезол 40», а опытной – новый аминокислотный кровезаменитель. Морфологическое изучение

Рисунок 4 Ткань печени при остром гелиотриновом гепатите. Деструктивно-некротически измененные гепатоциты. Увеличены синусоидальные пространства. Слабо развитая нейтрофильная инфильтрация. Окраска: гематоксилином и эозином. 20x10

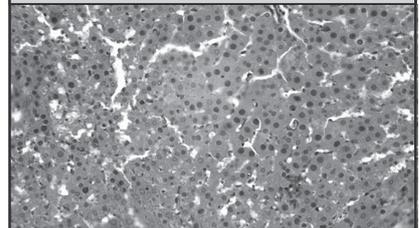


Рисунок 5 Печень крыс, получавших раствор «Инфезола-40» при гелиотриновом гепатите. Восстанавливается столбчатая структура гепатоцитов. Цитоплазма гепатоцитов на общем фоне выглядит одинаково с очаговой окраской. Расцветка почти такая же. Выявляется жировая дистрофия в виде слабо развитых капелек. Поразному увеличены синусоидальные пространства. Окраска: гематоксилином и эозином. 4x10

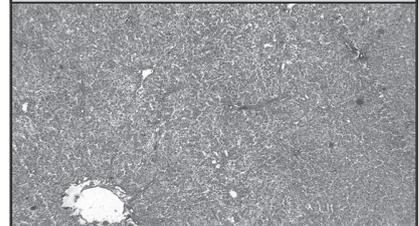
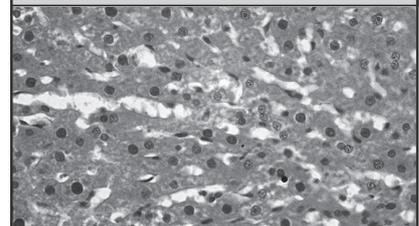


Рисунок 6 Большинство гепатоцитов выглядит одинаково. Выявляются митотические очаги вокруг гепатоцитов с моноклеточным некрозом. Цитоплазма гепатоцитов относительно более темная. Синусоидальные пространства увеличены цилиндрически. Клетки Купфера имеют неопределенный контур. Диссальные полости в большинстве своем сужены. Окраска: гематоксилином и эозином. 40x10



печени проводилось на световом микроскопе Olympus CX22HAL. Микропрепараты приготавливались традиционным способом, окрашенные гематоксилином и эозином на парафиновых срезах.

Результаты и обсуждение

В течение 2 месяцев после воздействия гелиотрина наблюдались явления дистрофии паренхимы печени, через 3–4 месяца определялся хронический гепа-

Рисунок 7 Печень крысы с раствором «специального плазмозаменителя» при гелиотриновом поражении печени. Контуры плохо сформированной нейтрофильной инфильтрации вокруг триад четкие. Центральные вены средней степени наполненности. Двойная столбчатая структура гепатоцитов четкая и гладкая. Синусоидальные промежутки имеют одинаковую ширину. Ядра большинства гепатоцитов гиперхромного вида (контрастный оттенок). Окраска: гематоксилином и эозином. 10x10

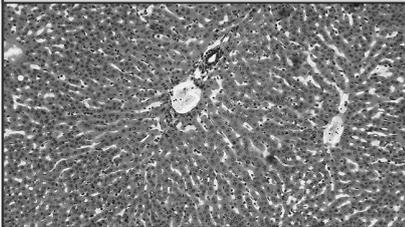
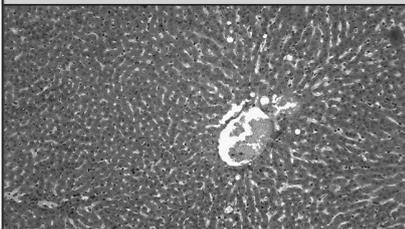


Рисунок 8 Печень крысы с раствором «специального плазмозаменителя» при гелиотриновом поражении печени. Интересно, что фрагмент печени выглядит практически идентично нормальному состоянию гистиоархитектоники. Синусоидальные промежутки имеют одинаковую ширину. Окраска: гематоксилином и эозином. 10x10



тит, а спустя 5 месяцев – цирроз печени. В дальнейшем у животных был обнаружен типичный цирротический процесс с нарушением дольковой структуры, наличием узлов регенерации, внутريدольковым разрастанием соединительной ткани и отщуриванием группы гепатоцитов.

При гелиотриновом гепатите в ткани печени возникает комплекс нескольких патологических процессов незначительное морфологическое увеличение ткани печени, округление краев, утолщение консистенции печени. Микроскопически фрагменты печени немного увеличены. Полости синусоид имеют разную ширину, увеличены вокруг некротических гепатоцитов и фагоцитируются макрофагами (рис. 4). Некоторые изменения наблюдаются также в эндотелиальных клетках, составляющих стенку синусоид. Происходит расширение трансэндотелиальных щелей и скопление базофильных телец вокруг стенки. Контуры клеток Купфера четко увеличены, а также

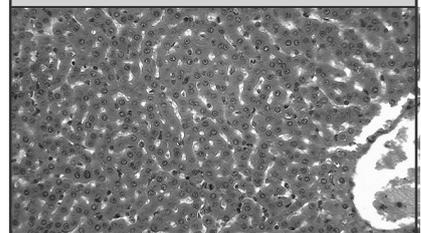
диссальные пространства. Установлено, что при размере 100x10 клетки Ито активируются и образуют опухоли, которые обращены к соседним синусоидальным полостям (если эксперимент продолжается в течение 20 дней, можно увидеть, что клетки Ито трансформируются, а это приводит к фиброгенезу и фиброзу печени). В нескольких гепатоцитах с отчетливой дистрофией обнаруживаются очаги колликвативного некроза. В цитоплазме гепатоцитов наблюдается развитие ацидофильных окрашенных белковых клеток и гидропная дистрофия, которая формируется на разных уровнях. В цитоплазме гепатоцитов выявляется развитие жировой дистрофии в виде капель разной степени. Форма фрагментов печени не изменилась, большая часть синусоидальных полостей увеличена, а в гепатоцитах вокруг центральной вены выявлены некроз и паранекроз относительно периферии. В поле зрения 10x10 всего 1–3 гепатоцита с 2 ядрами. Митотические очаги выявляются в 1–2 клетках. Здоровые гепатоциты вокруг некротических увеличиваются в размерах. Цитоплазма гепатоцитов подверглась плазморексису, ядра – кариорексису и кариолизу.

При гелиотриновом гепатите метаболиты, накапливающиеся в цитоплазме гепатоцитов, мы изучали при развитии гидропической дистрофии в результате токсического поражения гепатоцитов. Рассмотрим теперь на примере 6–8 микроформ возникновение ряда изменений в гепатоцитах при введении раствора «Инфезола 40» в организм крысы с данной патологией.

На рис. 5 гистиоархитектоника ткани печени реконструирована относительно ландшафта при гелиотриновом поражении печени: столбчатые пары гепатоцитов, относительно равномерная ширина синусоидальных выступов, относительно пролиферация гиперхромных ядерных гепатоцитов с 4–5 очагами митоза (рис. 6).

При гелиотриновом поражении печени наблюдалось восстановление морфофункционального состояния печени крысы при введении раствора «специального плазмозаменителя». В частности, сукцинат натрия в «специальном плазмозамещающем» растворе основан на стабилизации клеточной мембраны: четкие и гладкие границы мембраны гепатоцита, показанные на рисунках 7–8, образование более 15–25 гиперхромно окрашенных ядерных гепатоцитов в поле зрения 10x10. Развитие синусоидальных полостей одинаковой ширины, стабилизация утраченного

Рисунок 9 Печень крысы с раствором «специального плазмозаменителя». Ядро гепатоцитов в большинстве случаев имеет более крупный вид и контрастный гиперхромный вид. Окраска: гематоксилином и эозином. 20x10



функционального состояния доказано на рисунке 8. На рисунке 9 показано гомогенное ацидофильное окрашивание цитоплазмы гепатоцитов за счет регенерации и насыщения свободных белковых структур (ферментов) в цитоплазме. По сравнению с гепатоцитами, наблюдаемыми в инфузионном растворе «Инфезола 40», эффектом сукцината натрия (антиоксидант) и маннита (стабилизатор мембраны) в «специальном плазмозамещающем» растворе было уменьшение синусоидальных и интерстициальных полостей при 10–14 мкм. Стабилизация мембраны гепатоцитов является результатом утилизации избыточной жидкости в синусоидальных полостях и полостях Диссе.

Крупномасштабная 14-микроскопия выявила активацию клеток Ито между гепатоцитами.

Заключение

Гистологические исследования, проведенные при гелиотриновом поражении печени, показали высокую эффективность разработанной аминокислотной смеси на основе сукцината натрия и маннитола в сравнении с традиционными препаратами, применяемыми для лечения токсических гепатитов, что дает основание рекомендовать данный препарат и в клинических исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алимova Л.А., Бегманов С.А., Нигматов Н.Н., Абидова Н.А. // Вестник Новосибирского государственного педагогического университета. – 2014. – №5 (21). – С.80–87.
2. Богомолов П.О., Шульпекова Ю.О. // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2004. – №3. – С.20–27.
3. Akramova Ya.Z., Paizieva L.A., Khakimov Z.Z. // Med. J. Uzbekistan. – 2015. – N4. – P.114–118.
4. Bibik E.Yu., Shipilova N.V., Krivokolysko B.S., et al. // Morphological Almanac named after V.G. Kovesnikov. – 2019. – Vol.17, N4. – P.101–110.
5. Boboeva R.R., Mavlonov A.A., Juraeva G.B. Choleric // Eur. J. Mol. Clin. Med. – 2020. – Vol.7, Iss.3. – P.5188–5193.
6. Kayynbaeva A.K. // Bulletin KazNU series Ecological. – 2016. – Vol.35, N3. – P.42–48.
7. Khakimov Z.Z., Rakhmanov A.Kh., Safayeva Sh.T. // Med. J. Uzbekistan. – 2020. – N1. – S.42–45.

Поступила 17.03.2021 г.