

ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 615.9

К. О. Овнаниян¹, академик К. Г. Карагезян², В. Х. Мамиконян²,
А. С. Маргарян³

Сравнительный ультраструктурный анализ
цитопротекторного действия антиоксидантов на гепатоциты при
токсическом циррозе печени

(Представлено 20/IV 2009)

Ключевые слова: *антиоксидант, печень, ультраструктурный анализ, четыреххлористый углерод*

Печень в качестве центрального метаболического органа выполняет важную роль в обмене углеводов, жиров и протеинов и благодаря цитопротекторной клеточной кооперации и реакции на повреждающие факторы имеет большую способность к регенерации [1,2]. Несмотря на значительные успехи в области гепатологии [3-5], изучение механизмов повреждения и восстановления гепатоцитов печени на органном, клеточном и молекулярном уровнях в целом остается весьма актуальным.

В настоящее время для моделирования гепатозов и цирроза печени (ЦП) используются различные ксенобиотики, среди которых наиболее распространенным, считается четыреххлористый углерод (CCl₄) [6-9].

Учитывая необходимость расширения арсенала новых гепатопротекторных средств и важность проблемы профилактики и лечения токсических гепатозов и ЦП различной этиологии, мы ведем поиски наиболее эффективного природного антиоксиданта цитопротекторного действия.

Цель представленной работы заключается в выяснении характера ультраструктурных изменений, протекающих в гепатоцитах вследствие воздействия CCl₄, а также восстанавливающей защитной роли факторов растительного и химического происхождения в виде антиоксидантных начал из виноградных

косточек (АНВК), α -токоферола (α -Т) и тиосульфата натрия (ТСН) соответственно.

Материал и методы. Модель печеночной интоксикации воспроизведена на белых крысах-самцах массой 180-200 г внутриперитонеальным введением CCl_4 в концентрации 150 мкг/100 г живого веса. Предварительную сенсбилизацию факторами антиоксидантной активности производили введением АНВК, α -Т и ТСН. Для исследования в трансмиссионном электронном микроскопе были взяты тканевые образцы печени контрольных животных, а также подопытных крыс до и после воздействия CCl_4 , АНВК, α -Т и ТСН. Предварительная фиксация образцов проводилась в 2.5% растворе глютаральдегида на фосфатном буфере, а постфиксация – в 1% растворе четырехоксида осмия на том же буфере [10]. Образцы обезвоживались в растворах этанола с возрастающей концентрацией, пропитывались и заливались смесями арадитных смол. После полимеризации приготавливались ультратонкие срезы на микротоме "Reichert-Ultracut" с последовательным их окрашиванием растворами уранилацетата и цитрата свинца [11]. Исследование изготовленных препаратов и их микрофотографирование осуществлялось с помощью просвечивающего электронного микроскопа (ПЭВ) "Tesla BS-500" при напряжении 80 кВ.

Результаты и обсуждение. Ультраструктурный анализ гепатоцитов печени белых крыс контрольной группы установил характерную особенность гепатоцитов с выраженной депонирующей функцией. В их цитоплазме регистрируются большое количество полисом, гранулярный эндоплазматический ретикулум, везикулы, розеткообразные гранулы гликогена, в зоне которого обнаруживаются капли липида без ограничительной мембраны, лизосомы, митохондрии редкоортодоксальной конфигурации с нормальным строением матрикса и крист, а также ядро гепатоцитов с гетерохроматином и ядрышком гранулярно-фибрилярного строения (рис. 1) при нормальной конфигурации синусоидальных капилляров, структуры купферовских клеток и пространства Диссе.

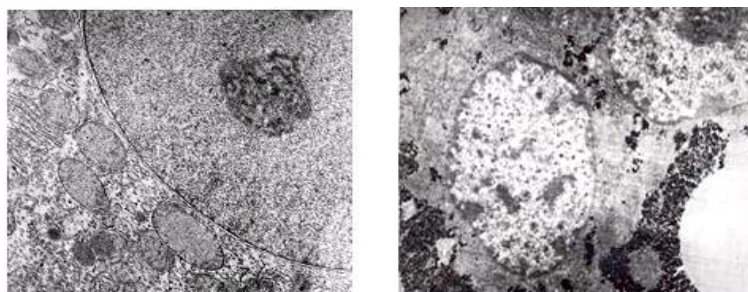


Рис. 1. Гепатоциты белой крысы (контрольная группа). ПЭВ. Ультратонкий срез.
Ув. 10 000.

Электронномикроскопическое исследование печени белых крыс после

индуцирования токсикоза печени выявило неспецифическое повреждение митохондриальной мембраны, набухание митохондрий с фрагментацией и деструкцией их крист (рис.2,а). В цитоплазме гепатоцитов отмечаются везикуляция, расширение цистерн эндоплазматического ретикулума и околоядерного пространства с пикнотично измененным ядром и маргинацией хроматина (рис.2,а), а также гиперплазией гранулярного эндоплазматического ретикулума и одновременной потерей рибосом, что приводит к трансформации гранулярного эндоплазматического ретикулума в гладкий (рис.2,б).

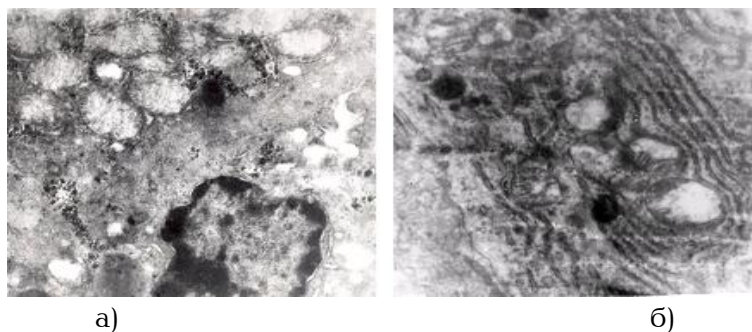


Рис. 2. Гепатоциты подопытной белой крысы с интоксикацией CCl_4 . ПЭВ. Ультратонкий срез. Ув. 10 000.

В гепатоцитах печени подопытных животных среди зон гликогена выявлены липидные капли различной величины и количества, свидетельствующие о жировой и вакуольной дистрофии этого органа. Выявлены резкое расширение синусоидального пространства, увеличение соединительнотканевых клеточных структур и в том числе коллагеновых фибрилл, пучки которых, заполняющие межклеточное пространство, свидетельствуют о наступлении начальной стадии ЦП (рис. 3).

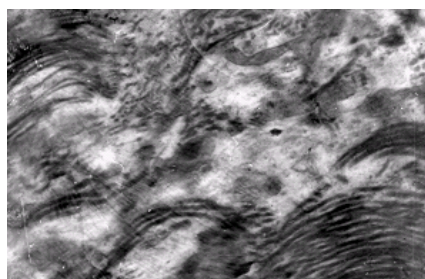


Рис. 3. Гепатоцит подопытной белой крысы с интоксикацией CCl_4 . Начальная стадия цирроза. ПЭВ. Ультратонкий срез. Ув. 10 000.

Отмеченные ультраструктурные изменения являются показателями активации энергетических, гликоген- и белоксинтезирующих процессов в гепатоцитах в ответ на повреждающий фактор [12].

Влияние АНВК выражалось в защитно-восстановительном действии на ультраструктуру митохондрий с уменьшением количества гепатоцитов с липидными включениями и их вакуолизации (рис. 4).

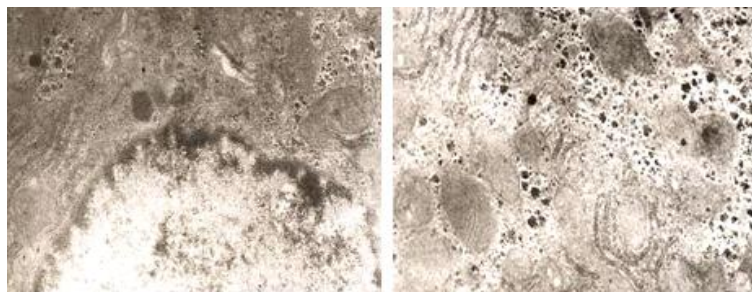


Рис. 4. Гепатоциты подопытной белой крысы с интоксикацией CCl_4 и после действия антиоксиданта растительного происхождения. ПЭВ. Ультратонкий срез. Ув. 10 000.

Ультраструктура гепатоцитов и клеточная организация синусоидального пространства после действия АНВК, а также α -Т и ТСН была ближе к картине интактных клеток.

Заключение. Таким образом, на модели печеночной интоксикации и ЦП исходя из характера ультраструктурных изменений митохондрий и других компартаментов гепатоцитов показан корригирующий эффект АНВК, а также α -Т и ТСН.

Ультраструктурная характеристика влияния АНВК свидетельствует о его цитопротекторных и антитоксических особенностях.

¹Институт молекулярной биологии НАН РА

²Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА.

³Институт биохимии им. Б.Х. Бунятына НАН РА

К. О. Овнаниян, академик К. Г. Карагезян, В. Х. Мамиконян, А. С. Маргарян

Сравнительный ультраструктурный анализ цитопротекторного действия антиоксидантов на гепатоциты при токсическом циррозе печени

Изучен эффект фактора растительного происхождения в виде антиоксидантных начал из виноградных косточек (АНВК) на ультраструктуру гепатоцитов печени белых крыс после индуцирования печеночной интоксикации четыреххлористым углеродом. Исследования ультраструктуры гепатоцитов печени после воздействия четыреххлористого углерода показали его роль в их динамической реструктуризации. На модели печеночной интоксикации показан цитопротекторный эффект, оказываемый АНВК, а также α -токоферолом и тиосульфатом натрия на ультраструктуру

гепатоцитов, что способствует ослаблению токсического воздействия различного происхождения.

**Կ. Օ. Նովնանյան, ակադեմիկոս Կ. Գ. Ղարազյոզյան, Վ. Խ. Մամիկոնյան,
Ա. Ս. Մարգարյան**

**Նեպարոցիտների վրա հակաօքսիդանտների բջջապաշտպանիչ
ազդեցության համեմատական ուլտրակառուցվածքային վերլուծությունը
թունածին ցիրոզի պայմաններում**

Ներկայացված աշխատանքը վերաբերում է ածխածնի քառաքլորիդով (CCl_4) մակածված լյարդի թունածին ցիրոզի վրա բուսական հակաօքսիդանտի (խաղողի կորիզներից անջատված պոլիֆենոլներ) պաշտպանիչ ազդեցության ուլտրակառուցվածքային վերլուծությանը:

Մեր հետազոտությունները ցույց են տվել CCl_4 -ի դերը լյարդի բջիջներում ընթացող կառուցվածքային փոփոխությունների շարժընթացում:

Բուսական հակաօքսիդանտը, ինչպես նաև α -տոկոֆերոլը և նապրիոմի թիոսուլֆատը ցուցաբերում են բարձր հեպատոպաշտպանիչ ակտիվություն լյարդի թունածին ցիրոզի մոդելի վրա, և կարելի է դրանք օգտագործել որպես փոփոխությունների թունավոր ազդեցությունը նվազեցնող համակողմանի միջոց:

**K. O. Hovnanyan, academician K. G. Karageuzyan, V. Kh. Mamikonyan,
A. S. Margaryan**

**Comparative Ultrastructural Analysis of Citoprotective Action of Bioantioxidants on
Hepatocits with the Toxic Cirrhosis**

It is studied the effect of a bioantioxidant (polyphenols from grape seeds) on the white rats hepatic cells ultrastructure after the intoxication by carbon tetrachloride (CCl_4).

Our studies in hepatic cells structure, after CCl_4 -intoxication, have shown the role of CCl_4 in the dynamic structural changes of them.

The plant antioxidant, α -tokoferol and thyosulphate Na show a high hepatoprotective effect on the ultrastructure of hepatic cells in an intoxicated liver model, and can be used as an universal attenuator in time of different xenobiotic-induced toxicoses.

Литература

1. *Дживанян К.А., Адамян Н.В.* - Российские морфологические ведомости. М. 2001. N 3-4. С. 26-27.
2. *Fausto N, Campbell J.S.* - Mech. Dev. 2003. V. 120. P. 117-130.

3. *Логинов А.С., Блок Ю.Е.* Хронические гепатиты и циррозы печени. М. Медицина. 1987. 272 с.
4. *Desmet V.J.* J.Hepatol. 2003. V. 39. P. 43-49.
5. *Powell E.E., Jonsson J.R., Clouston A.D.* - Hepatology. 2005. V. 42. P. 5-13.
6. *Симонян А.А., Маргарян А.С., Бадалян Р.Б., Овнанян К.О., Асатрян Р.Г., Карагезян К.Г.* - В сб.: Проблемы биохимии, молекулярной радиационной биологии и генетики. Ереван. 2007. С. 74-75.
7. *Yang Y., Harvey S.A., Gandhi C.R.* - J. Hepatol. 2003. V. 39. P. 200-207.
8. *Pandey S., Qujrati V.R., Shanker K., Singh N., Dhawan K.N.* - J. Exp. Biol. 1994. V. 32. N 9. P. 674-675.
9. *Cracium C., Ardelan A., Ciobanu C., Rusu M.A., Puica C., Tamas M., Cracium V.* - In: Proceedings of 13th European Microscopy Congress, Antwerp., Belgium, 2004. V. 3. P. 463-464.
10. *Sabatini D.d., Bensch K., Barnett R.J.* - J. Cell Biology. 1963. V. 17. P. 19-58.
11. *Venable J.H., Coggeshall R.* - J. Cell Biology. 1965. V. 25. P. 407-408.
12. *Саркисов Д.С.* Регенерация и ее клиническое значение. М. Медицина. 1970. 281 с.