



Морфофункциональная характеристика печени и поджелудочной железы при воздействии гепатопротектора Ремаксол на фоне острого алкогольного воздействия у крыс

С.Н. Стяжкина, д.м.н., проф., Т.Г. Глушкова, к.б.н., Н.А. Кирьянов, д.м.н., проф., Д.В. Зайцев, к.м.н., С.И. Ленцова, М.А. Горбунова

Адрес для переписки: Светлана Николаевна Стяжкина, sstazkina064@gmail.com

Для цитирования: Стяжкина С.Н., Глушкова Т.Г., Кирьянов Н.А. и др. Морфофункциональная характеристика печени и поджелудочной железы при воздействии гепатопротектора Ремаксол на фоне острого алкогольного воздействия у крыс. Эффективная фармакотерапия. 2024; 20 (2): 26–29.

DOI 10.33978/2307-3586-2024-20-2-26-29

Цель – изучить влияние гепатопротекторного лекарственного препарата Ремаксол на морфологию печени и поджелудочной железы, а также на биохимические показатели сыворотки крови у крыс с воздействием на них алкоголя.

Материал и методы. Исследование проведено на половозрелых самцах белых лабораторных крыс, разделенных на три группы: первая (контрольная, $n = 2$) – интактные животные; вторая (экспериментальная, $n = 5$) – с моделированием острого панкреатита на фоне алкогольного отравления путем ежедневного введения 40%-го водного раствора этанола в дозе 5 мг/кг веса в течение семи суток без лечения; третья (экспериментальная, $n = 5$) – с воздействием алкоголя и введением препарата Ремаксол в дозе 5 мг/кг веса ежесуточно в течение еще семи дней. Проведено морфологическое исследование печени, ее макроструктуры, измерены диаметры гепатоцитов и ацинусов поджелудочной железы у животных опытных и контрольной групп, оценены биохимические параметры.

Результаты. Непродолжительное (семь суток) алкогольное воздействие в меньшей степени влияет на размеры гепатоцитов, чем на размеры ацинусов поджелудочной железы; ацинусы поджелудочной железы оказались более реактивными на токсическое воздействие алкоголя; на фоне незначительных морфометрических различий выражено изменение морфологических признаков клеток и органов; в печени и поджелудочной железе наблюдались признаки воспалительной реакции (набухание клеток, инфильтрация лимфоцитами), в крови – лейкоцитоз.

Заключение. Гистологическая картина печени и поджелудочной железы животных на фоне лечения Ремаксолом показала снижение токсического влияния 40%-го спирта на гепатоциты и панкреатоциты, нормализацию их морфологических показателей.

Ключевые слова: алкогольное воздействие, печень, поджелудочная железа, гепатопротектор, Ремаксол

Введение

Алкоголь остается одним из наиболее значимых этиологических факторов из-за разрушающего влияния на ткани поджелудочной железы и печени. Алкогольная болезнь печени (АБП) и хронический панкреатит (ХП) в настоящее время являются одними из актуальных и значимых проблем медицины. Заболеваемость ХП в мире составляет 1,6–23 случая на 100 тыс. населения в год, в развитых странах от АБП умирает около 2 млн человек, многие из которых (15–20%) погибают от ослож-

нений АБП и ХП. К летальному исходу также могут приводить вторичные нарушения пищеварения и инфекционные осложнения заболевания.

АБП представляет собой спектр болезненных состояний, который включает стеатоз (жировая дистрофия печени), стеатогепатит, а в тяжелых случаях – фиброз или цирроз печени. На более поздних стадиях АБП отложение коллагена и регенеративные узелки могут привести к развитию фиброза и цирроза печени [1]. Велика вероятность роста заболеваемости гепатоцеллюлярной карциномой



лиц с АБП, у которых цирроз трансформируется в рак печени в 1–2% случаев ежегодно. Клеточные и молекулярные механизмы алкогольного поражения печени до настоящего времени остаются не до конца изученными, однако накопленный опыт позволяет утверждать, что заболевание формируется в результате взаимодействия комплекса поведенческих и генетических факторов с факторами окружающей среды [2]. Важно отметить, что стеатоз, алкогольный гепатит и фиброз печени до стадии цирротической трансформации являются обратимыми состояниями, достигаемыми стойким отказом от спиртного [3] и проведением гепатопротекторной лекарственной терапии.

Современный арсенал лекарственных средств, обладающих протективным воздействием на печень при ее повреждении различной этиологии, довольно широк и включает как лекарственные формы растительного происхождения, так и синтетические лекарственные средства. В клинической практике одним из эффективных гепатопротекторов является Ремаксол – препарат, в состав которого входят янтарная кислота, метионин, инозин и никотинамид. Янтарная кислота участвует в энергообеспечении и восстанавливает НАД-зависимое клеточное дыхание [4]. Помимо гепатопротекторного действия, Ремаксол оказывает антиоксидантное действие вследствие увеличения синтеза макроэргов и повышения устойчивости мембран клеток к перекисному окислению липидов [5]. В ряде исследований отражено влияние алкоголя на печень и поджелудочную железу, но отсутствуют работы, показывающие морфологические изменения органов при токсическом действии алкоголя и лечении Ремаксолом.

Цель исследования – изучить влияние гепатопротекторного лекарственного препарата Ремаксол на морфологию печени и поджелудочной железы крыс.

Материал и методы

Исследование проведено на половозрелых белых лабораторных крысах мужского пола массой тела 210–370 г. Животные были разделены на три группы: первая (контрольная, $n=2$) – интактные животные; вторая (экспериментальные животные, $n=5$) – с моделированием острого панкреатита на фоне алкогольного отравления посредством ежедневного введения 40%-го водного раствора этанола в дозе 5 мг/кг веса в течение семи суток без лечения; третья (экспериментальные животные, $n=5$) – с воздействием алкоголя и введением препарата Ремаксол в дозе 5 мг/кг веса ежесуточно в течение еще семи дней. Животные всех трех групп находились в условиях вивария на стандартном рационе, без добавления молока.

Животных выводили из эксперимента на восьмой (первая группа) и на 15-й день (вторая и третья группы) для сравнения действия препарата Ремаксол на внутренние органы и оценки их состояния после лечения. Для гистологического исследования печени, поджелудочной железы и крови проводили общий и биохимический анализы. Изъятые органы подвергали стандартной гистологической проводке и окраске гематоксилин-эозином. С помощью окуляр-микрометра оценивали форму, размеры гепатоцитов и размеры ацинусов поджелудочной железы.

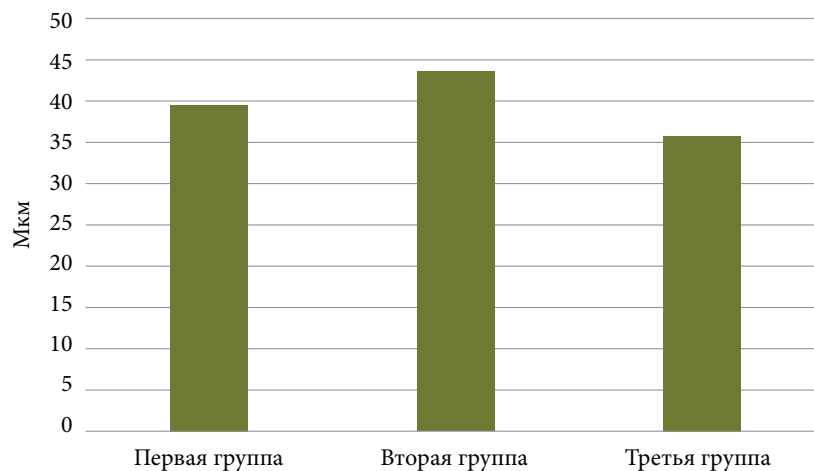


Рис. 1. Размеры ацинусов поджелудочной железы ($p \geq 0,05$)

Результаты

Повышение уровня биохимических показателей (аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, амилазы, липазы и общего билирубина) в плазме подтверждает наличие алкогольного повреждения у экспериментальных животных [6].

Вследствие воздействия алкоголя происходит увеличение синтеза ферментов ацинарными клетками поджелудочной железы для дальнейшего синтеза пищеварительных и лизосомальных ферментов, обуславливающих возникновение острого панкреатита [7]. Оценка результатов морфометрических измерений печени и поджелудочной железы показала следующие результаты: средние размеры ацинусов поджелудочной железы у экспериментальных животных и у интактных животных контрольной группы составили $43,6 \pm 0,06$ и $39,5 \pm 0,05$ мкм соответственно; у крыс, получавших препарат Ремаксол, средний размер ацинусов поджелудочной железы составил $35,8 \pm 0,05$ мкм (рис. 1).

Морфометрия гепатоцитов показала, что размеры клеток печени у крыс с острым алкогольным повреждением без лечения и у крыс, получавших Ремаксол, составили $22,9 \pm 0,05$ и $22,45 \pm 0,05$ мкм соответственно, тогда как размеры клеток у интактных животных – $24,05 \pm 0,05$ мкм (рис. 2).

При гистологическом исследовании печени и поджелудочной железы обнаружено, что печень животных второй группы соответствует микроскопической картине алкогольного гепатита на начальных стадиях. Выявлены гистиолимфоцитарная инфильтрация внутридольковой стромы, нарушение строения балок печени, дистрофия гепатоцитов. При изучении препаратов поджелудочной железы выявлены участки инфильтрации лимфоцитами. **Контроль.** Микроскопическая структура печени сохранена. Печеночные балки построены из гепатоцитов с гомогенной цитоплазмой и однотипными ядрами. Синусы не расширены, клетки Купфера в небольшом количестве. Портальные тракты представлены прослойками соединительной ткани. Кровеносные сосуды и желчные протоки сохранены (рис. 3).

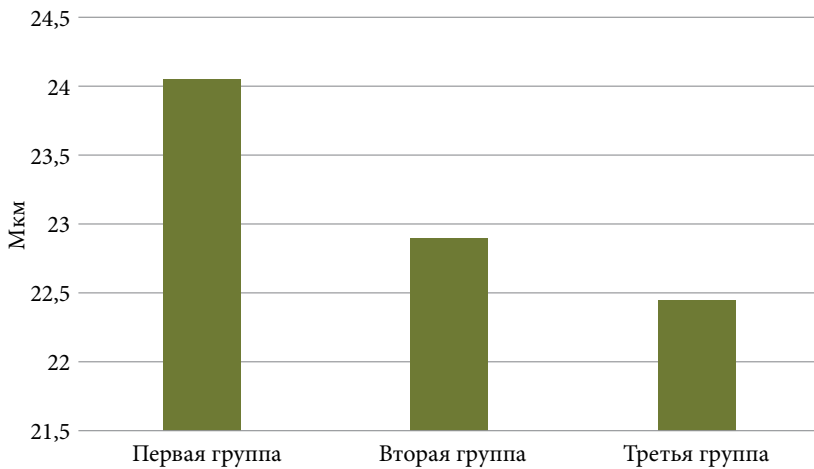


Рис. 2. Размеры гепатоцитов ($p \geq 0,05$)

Действие спирта на печень. Балочная структура печени сохранена, однако гепатоциты находятся в состоянии дистрофии и некроза; синусы расширены, а количество клеток Купфера увеличено. На отдельных участках вокруг погибших гепатоцитов наблюдается скопление макрофагов (рис. 4, 5).

Восстановление печени под воздействием Ремаксоло. Балочное строение печени сохранено. Отдельные гепатоциты находятся в состоянии дистрофии и некроза, однако увеличено количество гепатоцитов с крупными ядрами, а многие гепатоциты содержат два ядра. Описанные изменения можно рассматривать как интенсификацию процессов регенерации.

Обсуждение

Несмотря на кратковременность введения 40%-го спирта (семь дней), алкогольное повреждение в эксперименте сопровождается в большей степени функциональными нарушениями, однако в органах также были обнаружены и некоторые морфологические изменения: диаметр ацинусов поджелудочной железы. В контрольной группе среднее значение данного показателя составило $39,5 \pm 0,05$ мкм (см. рис. 1). Производилось измерение > 100 срезов ацинусов с максимальным диаметром (не измерялись срезы краевых зон ацинусов) в разных областях гистологиче-

ского препарата [8]. В экспериментальной группе исследуемые показатели составили $43,6 \pm 0,06$ мкм, что достоверно отличается от контрольных значений. Размеры аципоцитов увеличивались из-за набухания цитоплазмы и увеличения базофильной зоны клеток. Данная картина соответствует воспалительной стадии алкогольного панкреатита [9], когда алкоголь стимулирует функцию поджелудочной железы через усиление выделения секретина, гастрина и панкреозимина. Также в паренхиме органа наблюдалась инфильтрация лимфоцитами. После недельного применения терапии Ремаксолом размеры ацинусов поджелудочной железы экспериментальных животных уменьшились до $35,8 \pm 0,05$ мкм, что несколько ниже контрольных значений. Уменьшение диаметра ацинусов у группы пролеченных животных происходило вследствие абсолютного уменьшения апикальной (оксифильной) зоны аципоцитов, что, по мнению авторов, связано с активацией экзокринной функции в период восстановления после острого состояния.

При воздействии алкоголя балочное строение клеток печени было нарушено, гепатоциты находились в состоянии дистрофии и некроза. Наблюдалось скопление макрофагов вокруг погибших гепатоцитов, синусы расширены, количество клеток Купфера увеличено (см. рис. 4, 5).

Средний диаметр гепатоцитов в контрольной группе составил $24,05 \pm 0,05$ мкм, в группе с алкогольным повреждением без лечения – $22,9 \pm 0,05$ мкм (см. рис. 2). Большая часть таких клеток сосредоточена на периферии печеночных долек.

После применения Ремаксоло было отмечено восстановление балочной структуры печени, однако еще сохранены гепатоциты в состоянии дистрофии (рис. 6). Балочное строение печени сохранено, отдельные гепатоциты в состоянии дистрофии и некроза. Однако увеличено количество гепатоцитов с крупными ядрами, много двуядерных гепатоцитов, во многих гепатоцитах ядра гиперхромные. Описанные изменения можно рассматривать как интенсификацию процессов регенерации.

Препарат Ремаксол, основным действующим веществом которого является янтарная кислота, оказывает положительный эффект на состояние гепатоцитов и экзокринной части поджелудочной железы. По данным литературы, в основе гепатопротекторного действия препарата

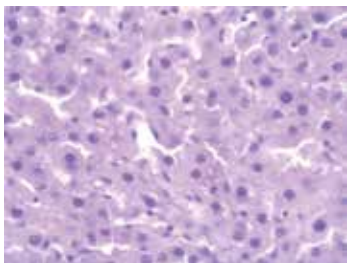


Рис. 3. Балочное строение печени сохранено. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

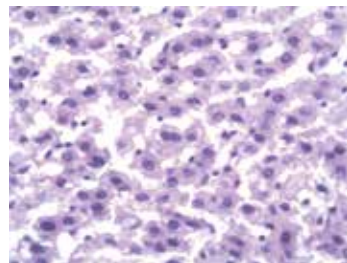


Рис. 4. Балочное строение нарушено. Гепатоциты в состоянии дистрофии и некроза. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

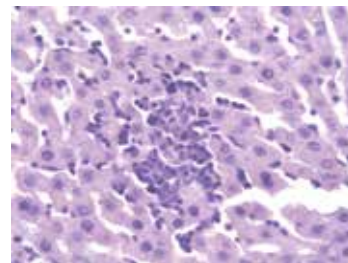


Рис. 5. Скопление макрофагов вокруг погибших гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

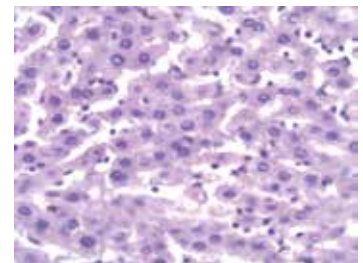


Рис. 6. Восстановление балочной структуры печени: еще сохранены гепатоциты в состоянии дистрофии, но во многих гепатоцитах ядра гиперхромные и много двуядерных гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$



лежит его способность уменьшать явления оксидативного стресса, подавлять избыточную фосфолипазную активность, уменьшать явления гипоксии [10]. Гистологическая картина печени и поджелудочной железы животных с острым алкогольным повреждением на фоне лечения Ремаксолом показала снижение токсического влияния 40%-го спирта на гепатоциты и панкреатоциты, нормализацию их морфологических показателей. Полученные результаты могут свидетельствовать об уменьшении воспалительного процесса в тканях поджелудочной железы, снижении вероятности возникновения отека паренхимы на фоне терапии препаратом Ремаксол.

Выводы

1. Влияние 40%-го этилового спирта вызывает признаки острого алкогольного повреждения печени и поджелудочной железы.
2. На фоне лечения Ремаксолом улучшаются морфологические показатели печени: восстанавливается балочная структура печени, появляются крупные гиперхромные ядра, что рассматривается авторами статьи как интенсификация процессов регенерации.
3. Непродолжительное (семь суток) алкогольное повреждение в большей степени влияет на размеры гепатоцитов, чем на размеры ацинусов поджелудочной железы. ☉

Литература

1. Massey V.L. Acute alcohol-induced liver injury. *Front. Physiol.* 2012; 3: 193.
2. Crawford J.M. Histologic findings in alcoholic liver disease. *Clin. Liver Dis.* 2012; 16 (4): 699–716.
3. Hofer B.S., Simbrunner B., Hartl L., et al. Alcohol abstinence improves prognosis across all stages of portal hypertension in alcohol-related cirrhosis. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2023; 21 (9): 2308–2317.
4. Мязин Р.Г., Емельянов Д.Н. Алкогольная болезнь печени: современный взгляд на диагностику и лечение. *Медицинский совет.* 2019; 14: 64–71.
5. Ильченко Л.Ю., Оковитый С.В. Ремаксол: механизмы действия и применение в клинической практике. *Архив внутренней медицины.* 2016; 2: 16–21.
6. Kamimura S., Gaal K., Britton R.S., et al. Increased 4-hydroxynonenal levels in experimental alcoholic liver disease: association of lipid peroxidation with liver fibrogenesis. *Hepatology.* 1992; 16 (2): 448.
7. Pharmacy M.V., Wilson J.S., McCogan G.V., et al. Ethanol-induced changes in the level of matrix RNA correlate with the glandular content of pancreatic enzymes. *J. Lab. Clin. Med.* 1995; 125 (5): 634.
8. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990.
9. Щербakov П.Л. К вопросу о панкреатите. *Лечащий врач. Гастроэнтерология.* 2011; 7: 20–24
10. Власов А.П., Муратова Т.А., Рубцов О.Ю. и др. Ремаксол в коррекции функциональных расстройств печени при остром билиарном панкреатите. *Антибиотики и химиотерапия.* 2015; 60: 5–6.

Morphofunctional Characteristic of the Hepar and Pancreas When Exposed to the Hepatoprotector Remaxol in Cases of Acute Alcohol Damage in Rats

S.N. Styazhkina, PhD, Prof., T.G. Glushkova, PhD, N.A. Kir'yanov, PhD, Prof., D.V. Zaitsev, PhD, S.I. Lentsova, M.A. Gorbunova

Izhevsk State Medical Academy

Contact person: Svetlana N. Styazhkina, sstazhkina064@gmail.com

Purpose of the study. To study the effect of hepatoprotective drug Remaxol on morphology of the liver and pancreas as well as on biochemical indices of blood serum in rats with alcohol damage.

Material and methods. The study was carried out on sexually mature male white laboratory rats divided into three groups: 1st control group – intact animals (2 rats); 2nd – experimental animals (5 rats), on which acute pancreatitis on the background of alcohol poisoning was modeled by daily administration of 40% aqueous ethanol solution at a dose of 5 mg/kg weight for 7 days without treatment; 3rd – experimental group (5 rats) with alcohol exposure and with administration of Remaxol at a dose of 5 mg/kg weight daily for another 7 days. Morphological study of the liver, its macrostructure was carried out, diameters of hepatocytes and pancreatic acinuses in animals of experimental and control groups were measured, biochemical parameters were estimated.

Results. Blood tests indicate acute alcohol poisoning in the experimental groups; short-term (7 days) alcohol damage has less effect on the size of hepatocytes than on the size of pancreatic acini; pancreatic acini were more reactive to the toxic effect of alcohol; against the background of insignificant morphometric differences, the morphological signs of cells and organs changed; in the liver and pancreas there were signs of inflammatory (swelling of cells in the liver and pancreas).

Conclusion. Histological picture of the liver and pancreas of animals with acute alcohol damage against the background of Remaxol treatment showed a decrease in the toxic effect of 40% alcohol on hepatocytes and pancreaticocytes, normalization of their morphological parameters.

Keywords: alcohol damage, liver, pancreas, hepatoprotector, Remaxol