

УДК: 616.8 – 009: 616.36 – 0.92.9

Луценко Р.В., Важнича О.М., Дев'яткіна Т.О.

ВПЛИВ ПІРАЦЕТАМУ НА СТАН ЯДЕРЦЕВОГО АПАРАТУ ГЕПАТОЦИТІВ ПРИ ГОСТРОМУ СТРЕСІ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Кафедра експериментальної та клінічної фармакології

Ключові слова: пірацетам, гепатоцити, ядереце, стрес.

Відомо, що стрес закономірно супроводжується ушкодженням органів шлунково-кишкового тракту. Класичною ознакою стресу є виразкоутворення в шлунку [10]. Під впливом стресорних факторів відбуваються зміни в тканинах порожнини рота, в підшлунковій залозі, кишечнику [2, 11]. Гострий стрес супроводжується порушенням дезинтоксикаційної і білірубінотворюючої функцій печінки, викликає гіперферментемію [7]. З метою корекції негативного впливу екзогенних чинників на функції печінки запропоновано численні нові препарати різних хімічних груп (флавоноїди, аміноцукри, координаційні сполуки металів та інші) [3, 5, 9]. Однак за цих умов можуть бути використані й гепатопротекторні властивості відомих лікарських засобів, зокрема, пірацетаму. Описано, що препарат запобігає стресорним ушкодженням печінки [4], але внутрішньоклітинні механізми такого впливу досліджені недостатньо і потребують подальшого вивчення.

Мета роботи – дослідити вплив пірацетаму на стан ядерецевого апарату клітин печінки білих щурів за умов гострого стресу.

Матеріали та методи дослідження. Експерименти проведено на 29 нелінійних білих щурах-самцях масою 200 - 250 г. До експерименту тварин утримували в стандартних умовах віварію. Щурів було розділено на 3 групи: 1 група – інтактні (9 тварин); 2 група – гострий стрес із ін'єкцією 0,9 % розчину натрію хлориду (10 тварин); 3 група – гострий стрес із введенням пірацетаму (10 тварин). Гострий стрес моделювали шляхом іммобілізації щурів на спині протягом 3-х годин. Для попередження стресорних порушень за 30 хв до початку стресу внутрішньоочеревинно вводили пірацетам у дозі 100 мг/кг.

Використовували 5% розчин препарату в ампулах по 5 мл (“Дарниця”, Київ, Україна). Евтаназію здійснювали через 1,5 год після завершення дії стресорного фактору шляхом забору крові з серця до його зупинки під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Печінку тварин розрізали і з поверхні розрізу робили відбитки на предметному склі. Препарати-відбитки висушували при кімнатній температурі, фіксували метанолом і фарбували азур-еозином за Романовським-Гімзе [8]. Цитологічні препарати досліджували за умов світлової мікроскопії з об. 20 – 90^x і ок. 10^x. Серед 500 неушкоджених гепатоцитів підраховували кількість клітин, у ядрах яких відсутні ядерця, наявні від 1-го до 7-и та більше ядерць. Обчислювали відсоток кожного виду гепатоцитів і будували гістограми розподілу клітин за кількістю ядерць для контрольної і дослідної груп [1]. Результати обробляли методами варіаційної статистики за стандартними програмами [6].

Результати та їх обговорення. Мікроскопічна картина препаратів-відбитків з печінки була представлена неушкодженими гепатоцитами, ядрами з залишками цитоплазми та окремими ядрами. Зустрічалися ядра без ядерць. Кожне ядерце являло собою комплексне, інтенсивно забарвлене утворення в ядрі.

Результати дослідження клітин печінки показали, що в тварин інтактної групи більшість гепатоцитів (24%) мали по 1-му ядерцю (рисунок). Кількість без'ядерцевих і 2-ядерцевих гепатоцитів була приблизно однакова і становила відповідно 20% і 19%. При цьому лише незначна частина клітин мала 6 і більше ядерць.

Стрес істотно впливав на стан ядерцевого апарату гепатоцитів. Під впливом іммобілізації профіль гістограми розподілу цих клітин за кількістю ядерць порушився порівняно з таким у інтактних тварин (див. рис.). Кількість без'ядерцевих гепатоцитів була в 1,4 рази менша у порівнянні з контролем ($p < 0,1$). При цьому представництво 1- і 2-ядерцевих гепатоцитів вірогідно збільшилось ($p < 0,05$). Кількість 3-ядерцевих клітин також зросла в 1,4 рази ($p < 0,1$). Водночас кількість гепатоцитів, які мали 4 ядерця, зменшилась у 2,1

рази ($p < 0,001$). Число гепатоцитів з 5-ма ядрцями знизилось в 1,5 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$). Стресорний вплив також викликав вірогідне зменшення кількості гепатоцитів, що мали 6 і більше ядерець.

Профілактичне застосування пірацетаму сприяло збереженню звичайної кількості ядерець у ядрах гепатоцитів (див. рис.). Профіль гістограми розподілу клітин печінки за кількістю ядерець наблизився до такого в інтактних тварин. Зокрема, кількість 2-ядерцевих гепатоцитів зменшилась в 1,2 рази порівняно зі стресом без корекції ($p < 0,05$). Представництво 4-ядерцевих клітин зросло в 2,8 рази ($p < 0,01$), 5-ядерцевих у 2,3 рази порівняно з патологічним фоном ($p < 0,05$). Число 6 і 7-ядерцевих гепатоцитів збільшилось у 2,7 та 4,3 рази відповідно ($p < 0,01$).

Оскільки в процесах синтезу клітинних білків ядрце є місцем утворення рибосомних РНК і рибосом, можна вважати, що зумовлені стресом зміни “ядерцевого профілю” гепатоцитів убик 1- і 2-ядерцевих клітин вказують на зниження білоксинтетичної активності печінки [13]. Імовірно, ці зміни зумовлені надлишком глюкокортикоїдів при стресі та їх катаболічною дією [10].

Запобіжний вплив пірацетаму на ядерцевий апарат клітин печінки при гострому стресі співпадає з даними стосовно дії препарату на обмін макромолекул (нуклеїнових кислот і білків) у центральній нервовій системі [12]. Виявлене збільшення представництва багатоядерцевих клітин при введенні препарату свідчить про посилення синтезу білку порівняно з контролем. Воно вказує, що передумовою зростання білоксинтезуючої активності в печінці є збільшення інтенсивності транскрипції. Вочевидь, провідний механізм такої дії пірацетаму – його гальмівний вплив на центральні ланки стрес-синдрому, зменшення рівня глюкокортикоїдів і адреналіну в організмі та усунення їх катаболічного впливу на печінку. На користь цього свідчить нормалізація маси тимусу і надниркових залоз, зареєстрована в тварин, яким перед стресом вводили пірацетам [7]. Попередження пірацетамом стресорних порушень ядерцевого апарату гепатоцитів і пов'язаних з ним змін інтенсивності синтезу білків, може становити основу нормалізуючого впливу

препарату на дезінтоксикаційну функцію печінки [7]. Воно підтверджує доцільність застосування пірацетаму для профілактики стресорних ушкоджень печінки і необхідність вивчення його дії за умов іншої гепатичної патології.

Висновки:

1. В інтактних щурів розподіл гепатоцитів за кількістю ядерців характеризується перевагою 1-ядерцевих клітин.
2. Гострий стрес поглиблює перевагу клітин печінки з малою кількістю ядерців.
3. Ноотропний засіб пірацетам, введений перед стресом у дозі 100 мг/кг, сприяє збереженню нормальної кількості ядерців у ядрах гепатоцитів лабораторних тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия.- М.: Медицина, 1990. - 384 с.
2. Вакуленко С.В. Особливості активності гідролітичних ферментів підшлункової залози при гострому стресі та при введенні тимопентину і контрикалу: Автореф. дис... канд.. биол. наук. – К., 1998. – 16 с.
3. Герасимова О.О. Експериментальне дослідження впливу на процеси вільнорадикального окиснення нового гепатопротектора піфламіну // Медична хімія. – 2001. – Т.3, №1. – С. 44 – 47.
4. Дев'яткіна Т.О., Луценко Р.В. Стресорні пошкодження печінки і їх корекція пірацетамом // Міжвідомчий збірник “Гастроентерологія”. – 2001. – Вип. 32. – С. 235-240.
5. Журавель Е.В. Экспериментальное обоснование коррекции лиоливым лекарственных поражений печени // Провизор. – 1998. - №14. – С. 54-55.
6. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel.- К: Морион, 2000.-320 с.
7. Луценко Р.В. Попередження ушкоджень печінки при гострому стресі за допомогою нейротропних засобів: Автореф. ... дис. к. мед. н. – К., 2003. – 20 с.

8. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. - Л.: Медицина, 1969. - 422 с.
9. Мисюрева С.В. Поиск и фармакологическое изучение природных и синтетических флавоноидов, аminosахаров и их производных как потенциальных гепатопротекторов: Автореф. ... дис. к. фарм. н. – Купавна, 2001. – 26 с.
10. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии // Пат. физиол. и эксперим. терапия. - 2000. - №. 2. - С. 24-31.
11. Тарасенко Л. М. Скрипник И.Н., Непорада К.С. Параллелизм метаболических нарушений в тканях желудка и пародонта при стрессорных воздействиях // Бюл. эксперим. биологии и медицины – 2000. – Т.130, №7. – С. 31-34.
12. Тушмалова Н.А., Безленкин В.Г., Кокаева Ф.Ф., Тагиев А.И. Влияние пираретама на внеплановый синтез ДНК мозга // Докл. АН СССР.– 1991.– Т.32, № 3. – С. 761-762.
13. Шкурупий В.А. Ультраструктура клеток печени при стрессе. - Новосибирск: Изд. “Наука”, Сиб. отд., 1989. - 144 с.

ВЛИЯНИЕ ПИРАЦЕТАМА НА СОСТОЯНИЕ ЯДРЫШКОВОГО АППАРАТА ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ОСТРОМ СТРЕССЕ

Луценко Р.В., Важничая Е.М., Девяткина Т.А.

В экспериментах на белых крысах-самцах изучено распределение гепатоцитов по количеству ядрышек при остром иммобилизационном стрессе (3 часа) и его профилактике пирарцетамом (100 мг/кг). Цитологические препараты печени окрашивали азур-эозином по Романовскому-Гимзе. Показано, что у интактных животных большинство гепатоцитов имели по 1-му ядрышку (24%). Количество безъядрышковых и 2-ядрышковых клеток составляло 20% и 19% соответственно. Незначительная часть гепатоцитов имела 6 и больше ядрышек. При стрессе представительство 1- и 2-ядрышковых клеток увеличилось за счёт снижения числа гепатоцитов, в ядрах которых было более 4-х ядрышек. Введение пирарцетама за 30 мин до стресса способствовало сохранению нормального распределения клеток печени по количеству ядрышек. Такие изменения указывают на способность пирарцетама предотвращать стрессорные нарушения синтеза макромолекул в печени.

THE INFLUENCE OF PYRACETAM ON THE STATUS IN ACUTE OF HEPATOCYTES' NUCLEOLI APPARATE

Lutzenko R.V., Vazhnichaya Ye.M., Devyatkina T.A.

In experiments in albino male rats it was studied the distribution of hepatocytes according to the number of nucleoli under the conditions of acute immobilization stress (3hr) and its prophylaxis by pyracetam (100 mg/kg). The cytological preparations of the liver were coloured with azur-eosine by the method of Romanovsky-Himsa. It was shown that the majority of hepatocytes had 1 nucleolus (24%). The number of cells without nucleolus (20%) was similar to the same of cells with 2 nucleoli (19%). Unsignificant part of hepatocytes had 6 or more nucleoli. In stress the part of cells with 1 or 2 nucleoli increased at the expense of decreasing of the number of hepatocytes with 4 and more nucleoli. Pyracetam's direction 30 min before the stress caused the maintance of nomal distribution of hepatocytes according

fo the nambes of nucleoli. Such changes indicate the ability of pyracetam to prevent stressoric disorders of macromolecules' synthesis in the liver.

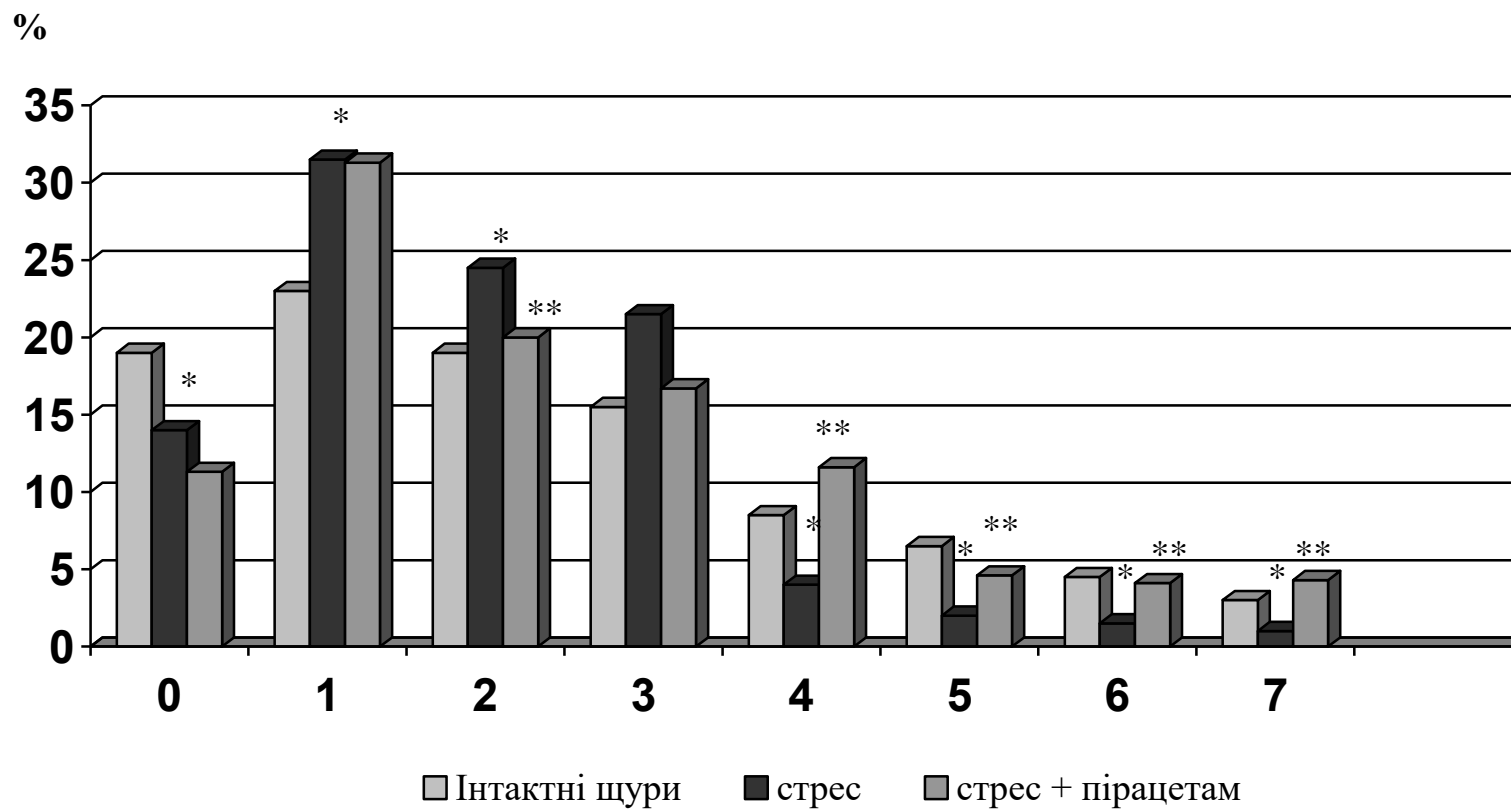


Рис. Вплив пірацетаму на розподіл гепатоцитів за кількістю ядерців при гострому стресі.

1. По осі абсцис – кількість ядерців у ядрі;
2. По осі ординат – відсоток ядер гепатоцитів з певною кількістю ядерців;
3. $p < 0,05$ у порівнянні: * - з інтактними тваринами; ** - зі стресом.

ЗАЯВКА

На участь у науково-практичній конференції “Нові вітчизняні розробки лікарських засобів для гастроентерології”

Прізвище, ім’я, по-батькові: Луценко Руслан Володимирович.

Наукове звання: кандидат медичних наук.

**Місце роботи, посада: Українська медична стоматологічна академія,
кафедра експериментальної та клінічної
фармакології, асистент.**

Контактна адреса: вул. Курчатова,4, кв. 16. м. Полтава, 36034

Тел. (дом.) 8 0532241969;

Тел. (роб.) 8 0532562059.

Так **Усна доповідь.**

19.05.04.