

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНОГО ГЕРОПРОТЕКТОРА НА КОМПЕНСАТОРНУЮ РЕГЕНЕРАЦИЮ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ЧАСТИЧНОЙ ГЕПАТЭКТОМИИ У КРЫС

А.П. Рыжак¹

Б.И. Кузник²

Г.А. Рыжак¹

*¹⁾ Санкт-Петербургский институт
биорегуляции и геронтологии
СЗО РАМН*

*²⁾ Читинская государственная
медицинская академия*

e-mail: galina@gerontology.ru

Репаративные процессы в печени при старении значительно замедляются вследствие перенесенных заболеваний и негативного хронического воздействия токсических веществ. В экспериментальной модели частичной гепатэктомии у крыс показано, что природный геропротектор Вентвил, созданный на основе экстракта из печени телят, способствует усилению митотической активности гепатоцитов, свидетельствующей об ускорении репаративных процессов в печени.

Ключевые слова: природный геропротектор, гепатэктомия, регенерация печени.

Введение. В последние годы одной из активно разрабатываемых проблем геронтологии является изучение структурно-функциональных возрастных изменений печени, а также изучение ассоциированных со старением патологических состояний и заболеваний этого органа. В связи с этим важным является изучение морфологических изменений печени и её функциональных характеристик с возрастом, а также проведение экспериментальных исследований, направленных на исследование функциональных характеристик печени и возможных путей их улучшения.

Печень вовлечена во многие патологические процессы, и её повреждение вызывает значительные нарушения метаболизма, иммунного ответа, детоксикации и антимикробной защиты. В индукции гибели клеток печени наиболее часто принимают участие химические и иммунные факторы. Степень гепатоцитотоксичности химических агентов зависит от их концентрации и локализации гепатоцитов в печеночной дольке. При этом химические токсиканты могут взаимодействовать с макромолекулами клеточных мишеней непосредственно либо опосредованно через реактивные метаболиты.

При старении гепатоциты функционируют в условиях высоких концентраций реактивных и токсических форм лекарственных препаратов, на которые приходится до 25 % всех случаев цитотоксических повреждений печени. Причем лекарственные препараты оказывают проапоптотическое действие не только на гепатоциты, но и на синусоидальные эндотелиальные клетки. Отмечена избирательная токсичность ксенобиотиков в отношении клеток эндотелия сосудов печени, но не гепатоцитов. Обнаружено значительное сходство патоморфологической картины печеночной паренхимы при лекарственных повреждениях и хроническом (в том числе алкогольном) гепатите, холестазе и циррозе печени.

В возрастных изменениях особое значение имеют сдвиги на двух уровнях: изменения в регуляции работы генов и изменения в нервной и гормональной регуляции.

Некоторые авторы рассматривают старение как процесс адаптации к изменяющимся условиям внутренней среды. Наиболее постоянным проявлением таких адаптационных процессов при старении являлось увеличение клеток в объеме наряду с наличием неизменных клеток и клеток, подвергшихся различной степени дистрофии. В процессе старения печень претерпевает существенные морфологические и функциональные изменения. Несмотря на значительное общее снижение веса, в печени происходит относительное увеличение содержания жира. В стенках кровеносных сосудов наблюдается разной степени выраженности увеличение коллагеновых волокон, количество капилляров на единицу площади печени после 60 лет снижается в 3-4 раза, что приводит к значительному уменьшению регионарного кровотока. Изменяется также содержание ряда важнейших микроэлементов в печеночных клетках.



Разнообразны и функциональные изменения печени при старении. Снижается её протеинсинтетическая активность: уменьшается содержание альбуминов, увеличивается количество глобулинов, уменьшается синтез нуклеиновых кислот. Ослабевает гликогенсинтезирующая функция печени и понижается её устойчивость к действию ядов.

Кроме того, значительные изменения претерпевают регенерационные возможности печеночной ткани, что приводит к снижению клиренса большинства токсических веществ и лекарственных препаратов [19].

Достоверно установлено повышение частоты заболеваний печени с возрастом: у лиц старше 65 лет этот показатель значительно выше [16]. Многие авторы связывают эту закономерность с уменьшением объема ткани и повышенным отложением пигментов в цитоплазме, в частности, липофусцина [18]. Изменения затрагивают не только гепатоциты, но и купферовские клетки и синусоиды, в которых отмечают псевдокапилляризацию и фенестрацию. В сосудах печени частой находкой является субэндотелиальное отложение коллагена [20].

Таким образом, представленные в литературе данные по морфологическим и функциональным изменениям печени при старении достаточно информативны. В частности, известно, что возрастные изменения печени способствуют развитию её патологических состояний, а их частота значительно увеличивается с возрастом.

В то же время, достаточно плохо изученной остается проблема регуляции функций печени при старении.

Целью настоящего исследования было изучить влияние пептидного биорегулятора Вентвила, созданного на основе экстракта из печени животных, в различных дозировках на регенераторную активность гепатоцитов при частичной гепатэктомии у крыс в экспериментальной модели *in vivo*.

Материалы и методы исследования. Пептидный биорегулятор Вентвил получен методом экстракции из печени телят и представляет собой комплекс низкомолекулярных пептидных фракций с молекулярной массой до 5000 Да.

Исследование проведено на 28 белых беспородных крысах-самцах с массой тела 150-200 г. Животные методом рандомизации были разделены на 4 группы: 1 группа – интактные животные; 2 группа – контроль (крысы, которым была произведена частичная гепатэктомия с удалением 2/3 печени); 3 группа – прооперированные животные, которым после частичной гепатэктомии вводили подкожно через 2 и 24 часа после операции по 0,1 мг Вентвила на крысу в 0,5 мл стерильного 0,9 % физиологического раствора NaCl; 4 группа – прооперированные животные, которым после частичной гепатэктомии вводили подкожно через 2 и 24 часа после операции по 0,01 мг Вентвила на крысу в 0,5 мл стерильного 0,9 % физиологического раствора NaCl

В эти же сроки животным 1 и 2 групп вводили стерильный физиологический раствор в том же объеме.

Прооперированные крысы были выведены из опыта действием эфира через 32 и 96 часов после операции. В это же время выводили из опыта и крысы контрольной группы. Печень крыс фиксировали в формалине. После окраски препаратов гематоксилином и эозином определяли митотический индекс в клетках печени, а также количество полиплоидных клеток, находящихся в S-фазе клеточного цикла (количество делящихся клеток).

Результаты исследования. Результаты исследования представлены в таблице.

Изучение митотической активности клеток регенерирующей печени через 32 часа после частичной гепатэктомии показало, что у животных 2 контрольной группы после частичной гепатэктомии и введения физиологического раствора число митозов и клеток в S-фазе клеточного цикла увеличивалось по сравнению с показателями в печени здоровых животных, однако эти отличия не были достоверны ($p > 0,05$). В подопытных группах крыс, которым после частичной гепатэктомии вводили Вентвил в двух дозировках, через 32 часа после операции количество митозов увеличилось в 1,7 раза; доля клеток, синтезирующих ДНК, увеличилась в 1,9 раза, а общая сумма делящихся клеток – в 1,8 раза по сравнению с соответствующим показателем в контроле; $p < 0,05$ для всех показателей.



При изучении препаратов печени через 96 часов после гепатэктомии оказалось, что у животных 2, 3 и 4 групп наблюдалось значительное усиление митотической активности гепатоцитов по сравнению с показателями у интактных животных. При сравнении показателей подопытных (третьей и четвертой) и контрольной (второй) групп выяснилось, что у крыс, которым вводили Вентвил в обеих дозировках, наблюдалось количество митозов, в 2,4 раза большее, чем у крыс, получавших физиологический раствор (контрольная группа) ($p < 0,05$). Количество клеток, находящихся в S-фазе митотического цикла, у крыс подопытных групп не отличалось достоверно от количества гепатоцитов в S-фазе в контрольной группе, однако в целом количество делящихся клеток через 96 часов после гепатэктомии в регенерирующей печени крыс, которым вводили Вентвил, было на 75% больше, чем у крыс после введения физиологического раствора ($p < 0,05$).

Таблица

Группа животных	Срок исследования		Митотический индекс	% клеток, находящихся в фазе синтеза ДНК	Общее количество делящихся клеток
Интактные животные + физ. раствор	-		0,682±0,013	1,752±0,463	3,403±0,498
Контроль (частичная гепатэктомия + физ. раствор)	32 ч	До	0,431±0,019	1,043±0,127	1,474±0,143
		После	1,364±0,595	2,063±0,474	3,427±1,066
	96 ч	До	0,417±0,053	0,924±0,091	1,342±0,060
		После	2,012±0,146*	3,417±0,295*	5,429±0,388*
Частичная гепатэктомия + Вентвил	32 ч	До	0,449±0,065	0,872±0,101	1,321±0,156
		После	2,316±0,451*	3,885±0,838*	6,197±1,274*
	96 ч	До	0,296±0,085	0,984±0,139	1,278±0,125
		После	4,850±0,336*#	4,667±1,312*	9,513±1,608*#

* – $p < 0,05$ по сравнению с показателем до операции;

– $p < 0,05$ по сравнению с показателем у животных контрольной группы.

Таким образом, установлено, что при введении крысам пептидного биорегулятора Вентвила в дозировках 0,1 мг на крысу (10-кратная терапевтическая доза для человека) и 0,01 мг на крысу (терапевтическая доза для человека) через 32 и 96 часов после частичной гепатэктомии наблюдалось усиление митотической активности гепатоцитов, свидетельствующее об ускорении репаративных процессов в печени. Это подтверждает перспективность применения пептидного биорегулятора Вентвила для профилактики и коррекции возрастных нарушений печени у людей старших возрастных групп.

Литература

1. Михайлова, О.Н. Возрастные изменения экспрессии ферментов метаболизма гормонов и других эндогенных субстратов в печени и влияние стресса / О.Н. Михайлова, Л.Ф. Гуляева, Л.М. Филиппенко // Тез. докл. второй науч. конф. с междунар. участием «Эндокринная регуляция физиологических функций в норме и патологии». – Новосибирск, 2002.
2. Степанов, Ю.М. Система Fas/Fas-лиганд. / Ю.М. Степанов, А.А. Фильченков, Н.Е. Кушлинский // Дн.: ДИА. – 2000. – 48 с.
3. Хавинсон, В.Х. Тетрапептид, стимулирующий функциональную активность гепатоцитов, фармакологическое средство на его основе и способ его применения / В.Х. Хавинсон // Описание изобретения к патенту Российской Федерации RU (11) 2166957 (13) С1. – 2001.



4. Anantharaju, A. Aging Liver. A review. / A. Anantharaju, A. Feller, A. Chedid // *Gerontology*. – 2002. – Vol. 48. – N.6. – P. 343-353.
5. Bakala, H. Changes in rat liver mitochondria with aging: Lon protease-like activity and Nε-carboxymethyllysine accumulation in the matrix. / H. Bakala (and oth.) // *FEBS Journal*. – 2003. – Vol. 270. – N. 10. – P. 2295-2302(8).
6. Barzilai, N. The Pathophysiology of diabetes in aging. // N. Barzilai, M. Hawkins // In: *Diabetes mellitus in the elderly* (ed: James W. Cooper). By The Haworth Press Inc. – 1999. – P. 5-20.
7. Chetrit, J. Protective effect of an apoptosis inhibitor in a new model of hepatitis induced by interleukin-4 in the rat. / J.Chetrit, A. David, C. Guillot et al. // *Gastroenterol. Clin. Biol.* – 1999. – V. 23. – P. 1021-1027.
8. Couteur, L.E. Age-related changes in the liver sinusoidal endothelium: a mechanism for dyslipidemia. / L.E. Couteur (and oth.) // *Ann N Y Acad Sci.* – 2007. – Vol. 1114. – P. 79-87.
9. Jackson, R.A. Influence of aging on hepatic and peripheral glucose metabolism in human. / R.A. Jackson (and oth.) // *Diabetes*. – 1988. – Vol. 37. – P. 119-129.
10. Jansen, P.L. Liver disease in the elderly. / P.L. Jansen // *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 16. – N.1. – P. 149-158.
11. Lewis, J.H. Drug-induced liver disease / J.H. Lewis // *Curr. Progr. Med.* – 1999. – V. 2. – P. 249-258.
12. Lindmark, B., Eriksson S. // *Clin. chim. Acta.* – 1985. – Vol. 152. – P. 261-269.
13. Molpeceres, V. Melatonin is able to reduce the apoptotic liver changes induced by aging via inhibition of the intrinsic pathway of apoptosis / V. Molpeceres (and oth.) // *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences.* – 2007. – Vol. 62. – P. 687-695.
14. Regev, A. Liver disease in the elderly / A. Regev, E.R. Schiff. // *Gastroenterol Clin North Am.* – 2001. – Vol. 30. – N.2. – P. 547-563.
15. Rust, C. Apoptosis and liver disease / C. Rust, G.J. Gores // *Am. J. Med.* – 2000. – V. 108. – P. 567-574.
16. Schmucker, D.L. Age-related changes in liver structure and function: implications for disease? / D.L. Schmucker // *Exp Gerontol.* – 2005. – Vol. 40. – N.5. – P. 650-659.
17. Schmucker, D.L. Aging and the liver: an update / D.L. Schmucker // *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* – 1998. – Vol. 53. – N.5. – P. 315-320.
18. Sersté, T. Ageing and the liver / T. Serste, N. Bourgeois // *Acta Gastroenterol Belg.* – 2006. – Vol. 69. – N.3. – P. 296-298.
19. Wynne, H.A. Age-related changes in liver, gall bladder and pancreas / H.A. Wynne // *Reviews in Clinical Gerontology.* – 2002. – Vol. 12. – N.12. – P.12-20.
20. Yoneda, M. Central regulation of hepatic function by neuropeptides / M. Yoneda, H. Watanobe, A. Terano // *A.J Gastroenterol.* – 2001. – Vol. 36. – N.6. – P. 361-367.
21. Yoshikawa, M. Glycyrrhizin inhibits TNF-induced, but not Fas-mediated, apoptosis in the human hepatoblastoma line HepG2. / M. Yoshikawa (and oth.) // *Biol. Pharm. Bull.* – 1999. – V.22. – P. 951-955.
22. Zeeh, J. The aging liver: structural and functional changes and their consequences for drug treatment in old age / J. Zeeh, D. Platt // *Gerontology.* – 2002. – Vol.48. – N.3. – P. 121-127.
23. Zeeh, J. The aging liver: consequences for drug treatment in old age / J. Zeeh // *Arch Gerontol Geriatr.* – 2001. – Vol.32. – N.3. – P. 255-263.

NATURAL GEROPROTECTOR INFLUENCE AT COMPENSATORY LIVER REGENERATION AFTER PARTIAL HEPATECTOMY IN RATS

A.P. Ryzhak¹

B.I. Kuznik²

G.A. Ryzhak¹

¹⁾ *St. Petersburg Institute
of Bioregulation and Gerontology,
NMB of RAMS*

²⁾ *Chita State
Medical Academy*

e-mail: galina@gerontology.ru

Reparative processes in the aging liver slow down significantly due to an illness and chronic adverse effects of toxic substances. In an experimental model of partial hepatectomy in rats showed that the natural geroprotector Ventvil that is based on an extract of calf liver, enhances mitotic activity of hepatocytes, indicating the acceleration of reparative processes in the liver.

Key words: natural geroprotector, hepato-ectomy, liver regeneration.