

ВЛИЯНИЕ ГИПОПИНЕАЛИЗМА НА ОСОБЕННОСТИ МИКРОСТРУКТУРЫ ПЕЧЕНИ И РАЗВИТИЕ АТЕРОГЕННОЙ ДИСЛИПИДЕМИИ

Кузьминова И. А., Кондаков И. К.¹, Гальчинская В. Ю.¹, Бондаренко Л. А.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского АМН Украины», г. Харьков;

¹ГУ «Институт терапии им. Л. Т. Малой АМН Украины», г. Харьков

Хорошо известно, что осложнения атеросклероза, несмотря на проводимую современную гиполипидемическую терапию, лидируют среди других нозологических причин в структуре смертности населения во всем мире. Общеизвестно, что одним из основных факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и атеросклероза является дислипидемия [1, 2]. Среди причин возникновения дислипидемий принято рассматривать прежде всего нарушения режима питания с избыточным потреблением продуктов, содержащих холестерин, стрессы, малоподвижный образ жизни [3]. Гораздо реже в научных работах уделяется внимание нарушениям светового режима, когда люди часто и длительно находятся ночью при свете, что препятствует формированию у них ночного пика мелатонина [4]. Вместе с тем, в последние годы появились достаточно убедительные данные, на основании которых установлена причинно-следственная связь между дефицитом мелатонина в организме и развитием патологических процессов в сердечно-сосудистой системе (ССС) [5].

В наших предыдущих исследованиях, проведенных на молодых половозрелых кроликах, было установлено, что по мере развития гипопинеализма, характеризующегося прежде всего усилением дефицита мелатонина в организме, возникает и про-

грессирует патология ССС [6, 7]. У этих животных на фоне нарушений гормональной регуляции развивается артериальная гипертензия [8], эндотелиальная дисфункция [9], хроническая сердечная недостаточность [7], атеросклероз [10].

Несомненным является тот факт, что печень играет важную роль в развитии нарушений жирового обмена. Реализация чередования синтеза и катаболизма холестерина и липопротеидов в печени происходит благодаря ферментам, активность которых имеет четко выраженные суточные ритмы, а осциллятором биологических ритмов в организме является пинеальная железа, которая осуществляет свое регулирующее влияние на метаболические процессы, прежде всего, посредством гормона мелатонина [5, 11, 12]. Однако работ, посвященных изучению влияния мелатониновой недостаточности на функционирование печени, крайне мало, что и обуславливает целесообразность проведения исследований в данном направлении.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы явилось установление характера влияния гипопинеализма на нарушения морфофункционального состояния печени и развитие дислипидемий в зависимости от поступления в организм экзогенного холестерина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 40 молодых половозрелых кроликах-самцах породы «шиншилла».

Изучены 4 группы кроликов, а именно:

I — интактные, которых содержали в условиях естественной смены дня и ночи на стандартном рационе;

II — кролики, которых содержали в условиях естественной смены дня и ночи, но на холестериновой диете («холестериновая» модель атеросклероза [13]);

III — кролики, которых содержали в условиях длительного круглосуточного освещения на стандартном рационе (экспериментальный гипопинеализм, который лежит в основе развития «безхолестериновой» модели атеросклероза [14]);

IV — кролики, которых содержали в условиях длительного круглосуточного освещения и на холестериновой диете (экспериментальная модель ИБС [15]).

Продолжительность эксперимента составляла 5 месяцев. В опытах использовали кристаллический холестерин, который вводили перорально в дозе 200 мг/кг массы тела по схеме: 5 дней — введение холестерина, 2 дня — отдых. Круглосуточное освещение осуществляли путем использования естественного солнечного света днем и электрического освещения ночью. Интенсивность освещения в клетках составляла

30–40 люкс. Кровь для исследований собирали из краевой вены уха.

В исходном состоянии и далее ежемесячно в крови определяли концентрацию общего холестерина (ОХС) и холестерина в составе липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП). Концентрацию ОХС определяли при помощи наборов фирмы «Simko Ltd» (Украина), ХС ЛПНП рассчитывали по формуле общепринятым методом [16]. Концентрации липидов определяли на фотоэлектроколориметре ФЭК-56 М. Работу с животными и их выведение из эксперимента проводили в соответствии с «Общими этическими принципами проведения экспериментов на животных» [17].

Для оценки морфофункционального состояния печени у животных брали кусочки органа и фиксировали их в 10 % формалине, после чего заливали в парафин. Полученные срезы толщиной не более 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизон, проводили PAS-реакцию [18, 19] на накопление гликогена.

При проведении статистической обработки данных для проверки нормальности распределения использовали критерий W Шапиро-Уилка. Поскольку представленные в работе количественные данные имели нормальное распределение, анализ полученных данных проводили с использованием критерия t Стьюдента [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, характеризующие изменения концентрации липидов в крови у контрольных и подопытных животных, приведены в таблице.

Из таблицы следует, что через 5 месяцев после начала эксперимента уровень атерогенных фракций липидов у всех подопытных животных значительно изменен. Так, длительное скормливание холестерина кроликам (группа II) вызывало у них стойкую гиперхолестеринемию и гипербеталипопротеинемию (642 и 835 % относительно кон-

трольных величин), что вполне согласуется с данными, имеющимися в научной литературе [3]. В группе животных, которых содержали в условиях длительного круглосуточного освещения на стандартном рационе (группа III), через 5 месяцев также отмечалось значительное увеличение концентрации в крови как ОХС (в 3 раза), так и ХС ЛПНП (в 3 раза), хотя оно и было менее выраженным, чем в предыдущей (II) группе наблюдения.

Наибольший интерес в плане изучения

**Показатели липидного спектра крови у кроликов
после 5-месячного раздельного и сочетанного воздействия
холестериновой нагрузки и круглосуточного освещения**

Группа животных	Условия эксперимента	Стат. показ.	Показатель липидного спектра, моль/л	
			ОХС	ХС ЛПНП
I	интактный контроль	n	10	10
		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$1,75 \pm 0,18$	$1,14 \pm 0,12$
II	холестериновая нагрузка	n	10	10
		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$11,24 \pm 0,28$	$9,52 \pm 0,98$
III	круглосуточное освещение	P_{I-II}	< 0,001	< 0,001
		n	10	10
		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$5,20 \pm 0,66$	$3,48 \pm 0,36$
IV	холестериновая нагрузка + круглосуточное освещение	P_{II-III}	< 0,001	< 0,001
		P_{II-IV}	< 0,001	< 0,001
		n	10	10
		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$16,20 \pm 1,16$	$12,36 \pm 1,32$
IV	холестериновая нагрузка + круглосуточное освещение	P_{III-IV}	—	—
		P_{III-IV}	< 0,001	< 0,001
		P_{III-IV}	< 0,001	< 0,001

патогенеза атеросклероза представляет IV группа кроликов, к которым применили сочетанное воздействие — холестериную нагрузку на фоне гипопинеализма, индуцированного круглосуточным освещением. У них концентрация ОХС в крови к концу 5 месяца увеличивалась более, чем в 9 раз, а содержание холестерина в составе атерогенных липопротеинов (ХС ЛПНП) было более, чем в 10 раз выше по сравнению с соответствующими показателями в контрольной группе.

Поскольку не только скармливание холестерина, но и круглосуточное освещение способны вызывать увеличение циркулирующих в крови атерогенных фракций липопротеинов у подопытных животных, то сочетание этих неблагоприятных факторов привело к наиболее ярко выраженным изменениям и развитию атерогенной дислипидемии.

Несмотря на то, что известен факт на-

рушения холестеринового обмена при атеросклерозе, трудно определить, какие именно причины определяют гиперхолестеринемии при гипопинеализме. Большое значение при этом имеет характер ассимиляции и трансформации экзогенного холестерина в печени, что в свою очередь обуславливает ее исключительно важную роль в происхождении нарушений липопротеинового обмена.

Проведенные макро- и микроскопические исследования структуры печени у контрольных и подопытных животных показали следующее.

Макроскопически у интактных кроликов печень эластичная, гладкая, обычного цвета. Гистологически в гепатоцитах центральных зон печеночных долек отмечается скопление большого количества зерен гликогена. В портальных трактах — незначительная лимфоцитарная инфильтрация, желчные протоки расширены и содержат

умеренное количество желчи (рис. 1а). Аргирофильный каркас центральной вены образован утолщенными, ровными волокнами, от которых в паренхиме долек ответвляются тонкие извитые волокна, которые принимают также участие в формировании опорного каркаса печени (рис. 2а).

У кроликов, которых содержали на холестериновой диете, печень изменяла свою окраску и становилась цвета «мокрой глины», плотной и увеличенной в объеме. На разрезе определялась охряно-желтая зернистость. Ведущее место среди патологических процессов в печени у кроликов этой группы занимают жировая инфильтрация и разрастание как междольковой, так и внутريدольковой соединительной ткани (рис. 3а); одновременно регистрируется некоторое уменьшение интенсивности PAS-реакции. На периферии печеночных долек гепатоциты обнаруживаются преимущественно в состоянии жировой дистрофии либо некроза (рис. 1б). Приведенные данные полностью согласуются с известными из литературы и свидетельствуют о том, что при экспериментальном атеросклерозе в печени накапливается большое количество холестерина, что отражается на ее гистоструктуре [11, 12]. Приведенные результаты служат контролем для последующих экспериментов (группа сравнения).

У кроликов, которых содержали при длительном круглосуточном освещении (экспериментальная модель гипопинеализма), на аутопсии обнаруживается, что печень гладкая, желтоватого цвета, на разрезе — с желтоватым крапом. Микроскопически в ней отмечается полнокровие центральных вен и капилляров печеночных балок. Имеет место баллонная дистрофия, а также обнаруживаются начальные некробиоти-

ческие изменения гепатоцитов, преимущественно в центральных отделах печеночных долек с дисконкомплексацией в этих участках печеночных балок и началом формирования мостовидных и ступенчатых некрозов (рис. 1с). Гибель гепатоцитов сопровождается разрастанием грубоволокнистой соединительной ткани. Интенсивность PAS-реакции снижена (рис. 2б). Приведенные данные свидетельствуют о том, что изменения липидного спектра крови при гипопинеализме, по-видимому, обусловлены прежде всего структурными и функциональными изменениями в печени.

У кроликов, которых содержали в условиях круглосуточного освещения и на атерогенной диете, печень уменьшена в объеме, уплотнена, поверхность ее бугристая. Гистологически в печени таких животных ведущее место занимают жировая дистрофия и некроз гепатоцитов на фоне разрастания соединительной ткани и формирования ложных долек, характерных для начальных стадий цирроза (рис. 1д, 3б). Интенсивность PAS-реакции в ткани резко снижена. Результаты этой серии исследований указывают на то, что сочетанное влияние избыточного потребления холестерина и длительного круглосуточного освещения вызывает наиболее выраженные деструктивные изменения в печени, характеризующиеся как стеатогепатоз и даже начальная стадия цирроза.

Таким образом, на основании данных, полученных в этом исследовании, представляется возможным утверждать, что избыточное поступление холестерина в организм на фоне гипопинеализма вызывает морфофункциональные изменения в печени, ведущие постепенно к ее разрушению.

ВЫВОДЫ

1. Торможение мелатонинобразующей функции пинеальной железы круглосуточным освещением само по себе вызывает выраженные изменения метаболизма липидов. Применение световой экспозиции у живот-

ных на фоне холестериновой диеты значительно усиливает развитие биохимических изменений липидного метаболизма, которые лежат в основе механизма атеросклеротических повреждений.

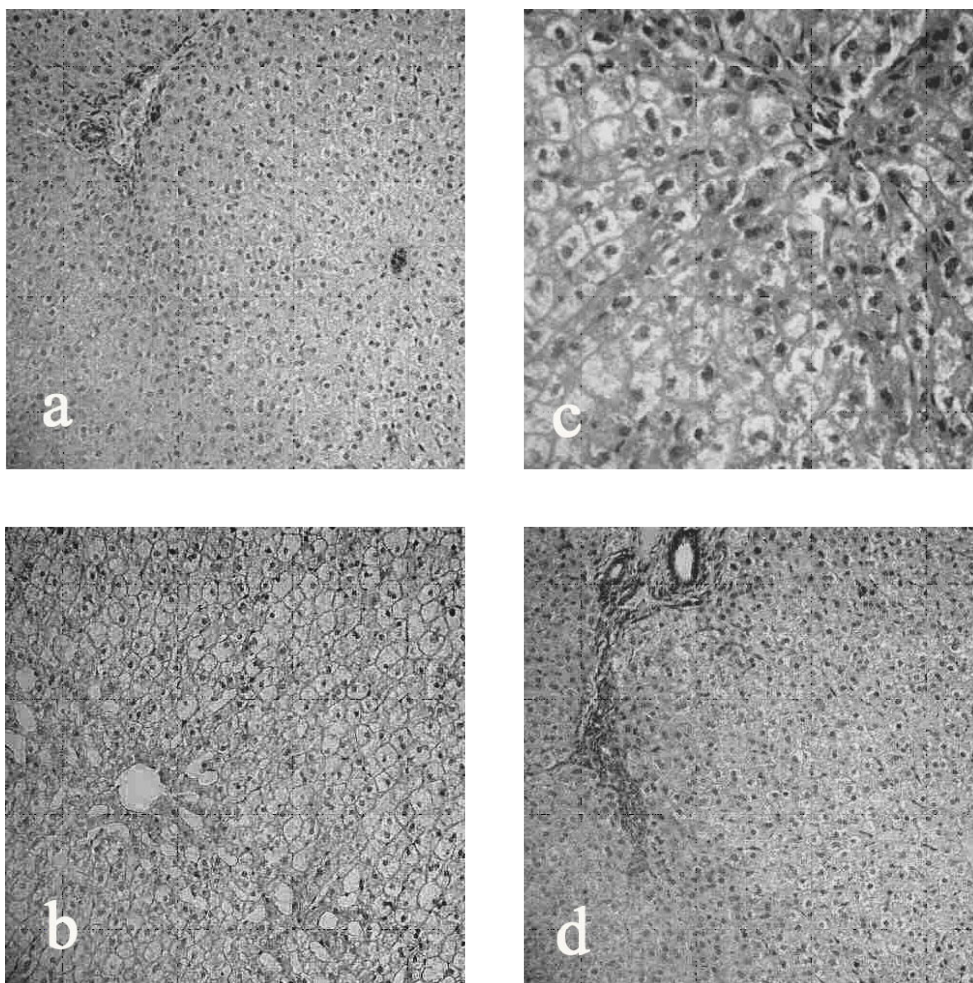


Рис. 1. Морфологические особенности печени кроликов, подвергнутых длительному круглосуточному освещению и/или холестериновой нагрузке. Микрофото. Окраска гематоксилин-эозином; а — контроль, $\times 200$; б — холестериновая диета, $\times 200$; с — круглосуточное освещение, $\times 400$; д — холестериновая диета и круглосуточное освещение, $\times 200$.

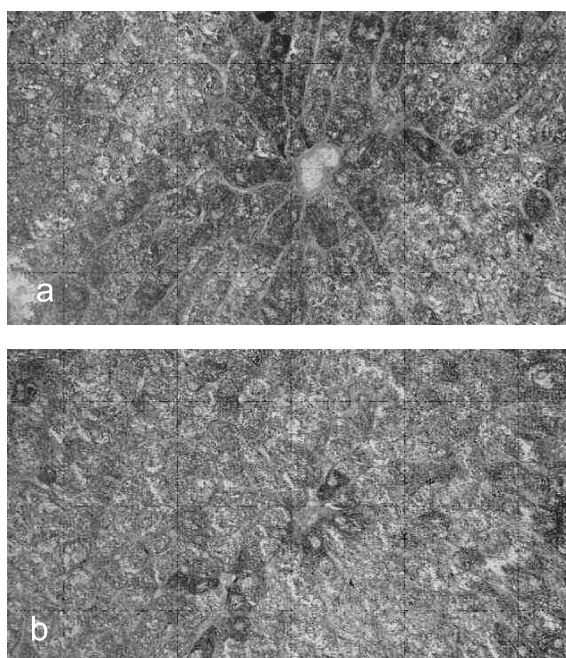


Рис. 2. Интенсивность PAS-реакции в печени контрольных и подопытных кроликов. Микрофото. а — контроль, $\times 400$; б — круглосуточное освещение, $\times 200$.

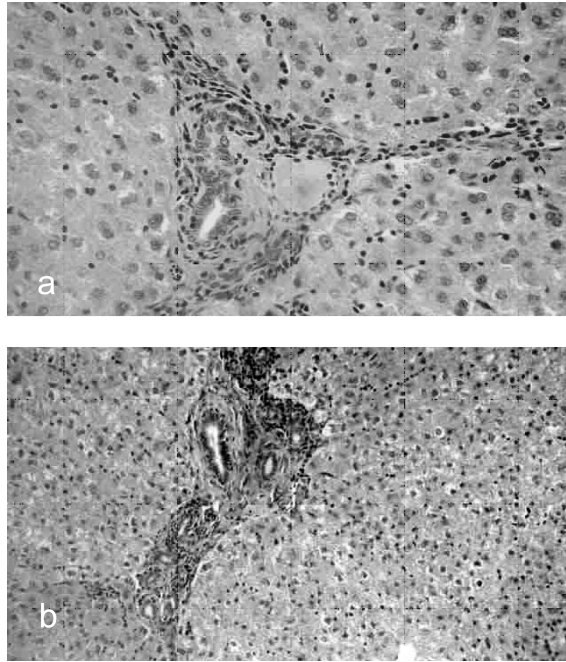


Рис. 3. Усилення міждолькового соединительнотканного каркаса и наличие круглоклеточной инфильтрации в печени подопытных кроликов. Микрофото. Окраска по Ван Гизон; а — холестериновая диета, $\times 400$; б — холестериновая диета и круглосуточное освещение, $\times 400$.

2. У животных, которых содержали в условиях атерогенной диеты, ведущее место среди патологических процессов в печени занимают жировая инфильтрация и разрастание как междольковой, так и внутридольковой соединительной ткани, уменьшение интенсивности PAS-реакции.

3. Для животных с гипопинеализмом ха-

рактерны баллонная дистрофия и начальные некробиотические изменения гепатоцитов преимущественно в центральных отделах печеночных долек.

4. Круглосуточное освещение в сочетании с атерогенной диетой приводит к формированию начальных стадий цирроза печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Звенигородская Л. А. Гиполипидемическая терапия у больных с неалкогольной жировой болезнью печени: место гепатопротекторов [Текст] / Л. А. Звенигородская, Н. В. Мельникова // Гастроэнтерология. — 2009. — № 1. — С. 32–36.

2. Аронов Д. М. Лечение и профилактика атеросклероза [Текст] / Д. М. Аронов. — М.: Триада, 2000. — 208 с.

3. Климов А. Н. Липопротеиды, дислипидемии и атеросклероз [Текст] / А. Н. Климова, Н. Г. Никульчева. — СПб.: Питер Пресс, 1995. — 304 с.

4. Reiter R. J. Melatonin: the Chemical Expression of Darkness [Text] / R. J. Reiter // Mol. Cell. Endocrinol. — 1991. — Vol. 79. — P. 153–158.

5. Мелатонин и сердечно-сосудистая система [Текст] / Н. К. Малиновская, Ф. И. Комаров, С. И. Раппопорт [и др.] // Мелатонин в норме и при патологии. — М.: ИД Медпрактика-М, 2004. — С. 85–101.

6. Роль светового стрессу в прискореному розвитку експериментального атеросклерозу [Текст] / І. К. Кондаков, В. Ю. Гальчинська, Л. А. Бондаренко [та ін.] // зб. наук. пр. співроб. КМАПО ім. П. Л. Шупика. — К., 2004. — Вип. 13, кн. 3. — С. 168–175.

7. Гіпопінєалізм як чинник прискореного старіння

серцево-судинної системи [Текст] / Л. О. Бондаренко, І. К. Кондаков, А. І. Гладкова [та ін.] // Буковинський вісник. — 2009. — Т. 13, № 4. — С. 41–44.

8. Нові підходи до вивчення патогенезу артеріальної гіпертензії: роль пінеальної залози [Текст] / Л. О. Бондаренко, В. Ю. Гальчинська, Т. М. Бондар [та ін.] // Пробл. ендокрин. Патології. — 2004. — № 3. — С. 75–82.

9. Пінеальна железа и эндотелиальная функция аорты: фотобиологические аспекты [Текст] / Ю. И. Караченцев, Л. А. Бондаренко, И. К. Кондаков [и др.] // Пробл. ендокрин. патології. — 2004. — № 4. — С. 49–58.

10. Кузьминова И. А. Динамика изменений липидного спектра крови в условиях экспериментального гипопинеализма [Текст] / И. А. Кузьминова, Л. А. Бондаренко // Пробл. ендокрин. Патології. — 2006. — № 4. — С. 49–55.

11. Ефимова Н. И. Состояние печени при атеросклерозе [Текст] / Н. И. Ефимова // Атеросклероз и инфаркт миокарда. — М.: [б. и.], 1956. — С. 171–179.

12. Epidemiology and risk factors for fatty liver [Text] / S. Bellentani [et al.] // Steatohepatitis (NASH and ASH), Kluwer Academic Publishers. — 2001. — Vol. 3. — P. 3–10.

13. Аничков Н. Н. Новые данные по вопросу о патологии артериосклероза (атеросклероза) [Текст]

// Н. Н. Аничков // Русский врач. — 1915. — № 8. — С. 184–186.

14. Пат. 64243 А UA, МПК 7 G09B 23/28. Спосіб моделювання ішемічної хвороби серця [Текст] / В. В. Гаргін, В. Ю. Гальчінська, І. К. Кондаков [та ін.] (UA); заявник і патентовласник Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України, Інститут терапії АМН України (UA). — № 2003043381; заявл. 15.04.03; опубл. 16.02.04, Бюл. № 2 — 10 с.

15. Пат. 20383 UA, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання інволютивних процесів у пінеальній залозі [Текст] / Л. О. Бондаренко, Г. І. Губіна-Вакулик, Н. М. Сотник (UA); заявник і патентовласник Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України (UA). — № 2006 08742; заявл. 04.08.06; опубл. 15.01.07, Бюл. № 1 — 8 с.

16. Лабораторные методы исследования в клинике [Текст] / под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 325 с.

17. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах [Текст] / під ред. А. Г. Резнікова // Ендокринологія. — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 142–145.

18. Лили Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия [Текст] / Р. Лили. — М.: Мир, 1960. — 648 с.

19. Микроскопическая техника [Текст]: руководство / под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Перова. — М.: Медицина, 1996. — 544 с.

20. Гланц С. Медико-биологическая статистика [Текст] / С. Гланц. — М.: Практика, 1998. — 459 с.

ВПЛИВ ГИПОПИНЕАЛИЗМУ НА ОСОБЛИВОСТІ МІКРОСТРУКТУРИ ПЕЧІНКИ ТА РОЗВИТОК АТЕРОГЕННОЇ ДІСЛІПІДЕМІЇ

Кузьміна І. А., Кондаков І. К.¹, Гальчінська В. Ю.¹, Бондаренко Л. О.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України», м. Харків;

¹ДУ «Інститут терапії ім. Л. Т. Малої АМН України», м. Харків

В роботі представлено результати дослідження, в якому статевозрілих самців кролів утримували в умовах цілодобового освітлення протягом 5 місяців та/або холестеринового навантаження. Показано, що тривале пригнічення мелатонінутворюючої функції пінеальної залози світлом призводить до виникнення змін ліпідного метаболізму, а застосування світлової експозиції на тлі холестеринової дієти значно посилює та прискорює розвиток біохімічних змін ліпідного метаболізму і викликає морфофункціональні зміни в печінці, які призводять до її руйнування.

К л ю ч о в і с л о в а: гіпопінеалізм, ліпідний метаболізм, печінка.

ВЛИЯНИЕ ГИПОПИНЕАЛИЗМА НА ОСОБЕННОСТИ МИКРОСТРУКТУРЫ ПЕЧЕНИ И РАЗВИТИЕ АТЕРОГЕННОЙ ДИСЛИПИДЕМИИ

Кузьмина И. А., Кондаков И. К.¹, Гальчинская В. Ю.¹, Бондаренко Л. А.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского АМН Украины», г. Харьков;

¹ГУ «Институт терапии им. Л. Т. Малой АМН Украины», г. Харьков

В работе представлены результаты исследования, в котором половозрелых кроликов-самцов содержали в условиях круглосуточного освещения в течение 5 месяцев в/или холестериновой нагрузки. Показано, что длительное подавление мелатонинобразующей функции пиенальной железы светом само по себе вызывает выраженные изменения метаболизма липидов, а применение световой экспозиции у животных на фоне холестериновой диеты значительно усиливает и ускоряет развитие биохимических изменений липидного метаболизма и вызывает морфофункциональные изменения в печени, ведущие постепенно к ее разрушению.

К л ю ч е в ы е с л о в а: гипопинеализм, липидный метаболізм, печень.

**THE INFLUENCE OF HYPOPINEALISM ON FEATURES OF THE LIVER
STRUCTURE AND DEVELOPMENT of ATEROGENIC DISLIPIDEMIA**

I. A. Kuzminova, I. K. Kondakov¹, V. Yu. Galchinskaya¹, L. A. Bondarenko

SI «V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of the AMS of Ukraine», Kharkiv;

¹SI «L. T. Malaya Institute of Therapy of the AMS of Ukraine», Kharkiv

The paper offers the results of research in matured male rabbits by keeping them in conditions of round-the-clock illumination during 5 months and / or on cholesterol diet. Long-time suppression of the melatonin-producing function of the pineal gland by means of light causes pronounced changes in the lipid metabolism and the use of light exposure to the animals against the background of the cholesterol diet significantly enhances and accelerates the development of biochemical changes in the lipid metabolism and causes the morphofunctional changes in the liver, leading in its gradually destruction.

К е y w o r d s: hypopinealism, lipid metabolism, liver.