

УДК [612.357.6:615.224]:616.831-005.4

## ВЛИЯНИЕ ГЛИБЕНКЛАМИДА НА РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ ГИСТОФИЗИОЛОГИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Ю.Х.-М. Шидиков, Г.И. Горохова, С.С. Сатиев, О.В. Волкович

Приведены сведения о межвидовых отличиях гистофизиологии печени. Приводятся результаты исследования ремоделирования печени при ишемии головного мозга. Изложены данные о влиянии глибенкламида на ремоделирование гистофизиологии печени при ишемии головного мозга с положительным эффектом.

*Ключевые слова:* глибенкламид; ишемия головного мозга; гистофизиология печени.

## БАШ МЭЭНИН ИШЕМИЯСЫНДА ГЛИБЕНКЛАМИДДИН БООРДУН ГИСТОФИЗИОЛОГИЯСЫН КАЙРА МОДЕЛДӨӨГӨ ТИЙГИЗГЕН ТААСИРИ

Ю.Х.-М. Шидиков, Г.И. Горохова, С.С. Сатиев, О.В. Волкович

Бул макалада боордун гистофизиологиясынын түрлөрүнүн ортосундагы айырмачылыктар жөнүндө маалыматтар берилген. Баш мээнин ишемиясында боорду кайра моделдөөнү изилдөөнүн жыйынтыктары берилген. Баш мээнин ишемиясында боордун гистофизиологиясын кайра моделдөөгө глибенкламиддин оң таасир тийгизгендиги тууралуу маалыматтар баяндалган.

*Түйүндүү сөздөр:* глибенкламид; баш мээнин ишемиясы; боордун гистофизиологиясы.

## INFLUENCE OF GLIBENCLAMIDE ON THE REMODELING OF HISTOPHYSIOLOGY OF THE LIVER IN CEREBRAL ISCHEMIA

Yu.Kh.-M. Shidakov, G.I. Gorokhova, S.S. Satiev, O.V. Volkovich

The work provides information on interspecific differences in histophysiology of the liver. The results of a study of liver remodeling in case of cerebral ischemia are presented. The presented data on the effect of glibenclamide on liver histophysiology remodeling in case of cerebral ischemia with a positive effect.

*Keywords:* glibenclamide; cerebral ischemia; histophysiology of the liver.

**Введение.** Литературные источники [1] и результаты собственных исследований [2–4] убеждают в том, что ишемические и травматические повреждения головного мозга сопрягаются с вегето-висцеральными нарушениями. Поэтому при интенсивной терапии сосудистых нарушений при травматических повреждениях головного мозга приходится учитывать возможное действие нейропротекторов на внутренние органы [5, 6]. В этом отношении особого внимания заслуживает глибенкламид – представитель второй генерации производных сульфонилмочевины.

Дело в том, что при ишемии головного мозга (ИГМ) стимулируется экспрессия на мембранах клеток-астроцитов неселективных  $Ca^{++}$  и АТФ-за-

висимых катионных каналов (NCCa-АТФ). При ИГМ запасы АТФ истощаются, проницаемость NCCa-АТФ каналов возрастает, что позволяет ионам натрия и молекулам воды поступать в клетки. Астроциты отекают, повышается внутричерепное давление, что повреждает нейроны головного мозга. Экспериментальные животные погибают.

Проницаемость NCCa-АТФ-каналов регулируется белком рецептором сульфонилмочевины – 1 (SUR-1) и может быть заблокирована глибенкламидом. Группа ученых [7] после окклюзии средней мозговой артерии, крысам подкожно вводили глибенкламид, что снизило смертность животных с 65 до 24 %. В настоящее время активно исследуются вопросы возможного побочного действия

глибенкламида при его использовании для лечения сахарного диабета 2-го типа (СД 2) и профилактики отека мозга [8].

Такая необходимость возникла в связи с тем, что К-АТФ-канал представляет собой гетеро-октамерный комплекс, слагающийся из двух компонентов: компонента, формирующего калиевый канал, Kir 6 × и рецептора сульфонилмочевины (SUR). Имеется ряд изоформ как Kir 6 × (Kir 6,1; Kir 6,2), так и SUR (SUR 1, SUR 2A, SUR 2B).

В большинстве тканей Kir 6,2 является образующей пару субъединицей (компонента), но связана с различными SUR-субъединицами. В поджелудочной железе и мозге Kir 6,2 ассоциирована SUR 1, в сердце и скелетных мышцах – SUR 2A, в гладких мышцах сосудов К-АТФ канал состоит из Kir 6,1 и с SUR 2B субъединиц [9]. Раз это так, то глибенкламид может отразиться на гистофизиологии печени при ишемии головного мозга, по крайней мере, двумя путями.

1. Рефлекторно путем коррекции нарушений нейрогуморальной регуляции функции печени из-за циркуляторной ишемии головного мозга.

2. Прямым действием на SUR 2B, К-АТФ-каналы гладкомышечных клеток и на NC Ca-АТФ-каналы эндотелиоцитов кровеносной системы печени.

Это, конечно, не исключает иные механизмы влияния препарата на ремоделирование печени на фоне ИГМ. Выяснение объективной роли этих предположений в эксперименте представляет теоретический интерес и практическое значение.

**Целью** настоящего сообщения является изложение результатов исследования влияния глибенкламида на ремоделирование гистофизиологии печени при ишемии головного мозга (ИГМ).

**Материал и методы.** Работа выполнена на белых беспородных крысах-самцах весом 200–250 г, которые составили три группы: 1-я – интактные, 2-я – с ИГМ, 3-я – с ИГМ на фоне введения глибенкламида. ИГМ моделировалась двухсторонней окклюзией общих сонных артерий под общим наркозом (калпосол 0,6 мг в/м). Глибенкламид вводился в дозе 10 мкг/кг *per os*. Через трое суток животных под наркозом выводили из эксперимента. Суправитально кровеносные сосуды части животных инъецировались взвесью черной туши в 10%-м растворе формалина с целью последующего изучения ангиоархитектоники и функциональной активности клеток Купфера, другая часть такой манипуляции не подвергалась. У всех животных проводился забор материала, который фиксировался в 10%-м нейтральном формалине в дальнейшем обезжизивался в спиртах возрастающей концентрации. Готовились парафиновые блоки, а из них – гистологические срезы толщиной 5–7 мкм с докраской

гемаоксилин-эозином и по Ван-Гизону. Просветленные и гистологические препараты изучены под японским микроскопом Olympus Vx40.

**Содержание** – экспериментальное вмешательство и выведение животных из опыта осуществлены согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (Приказ МЗ РФ от 19 июня 2003 года № 267).

**Результаты и обсуждение.** Структурная организация здоровой печени крыс и других животных, по существу, между собой не отличается. В то же время есть ряд особенностей, которые необходимо учитывать при оценке экспериментального материала. Например, границы между классическими печеночными дольками у крыс более четкие, чем у собаки [10, 11]. Напротив, у собак лучше выражены канальцы, расположенные, между гепатоцитами, а также относительно чаще встречаются диплоидные печеночные клетки.

В портальной области печени крыс расположено не по одной терминальной ветви, что характерно для печени собак, а по несколько терминальных ветвей печеночной артерии и воротной вены.

**Гистофизиология печени здоровой крысы в низкогорье.** Конечная ветвь печеночной вены, собирающая кровь из синусоидальных капилляров – центральная вена у крыс, – характеризуется чрезвычайной вариабельностью диаметра, контура стенки и количества крови в просвете. Поэтому использовать эти параметры при оценке результатов экспериментальных вмешательств не представляется возможным. В то же время для центральных вен здоровой печени крысы нехарактерна адгезия эритроцитов между собой и сосудистой стенкой, которая отмечается в эксперименте.

У крыс, как и у других животных, радиально от центральной вены отходят печеночные балки и синусоиды. Печеночные балки представляют собой два слоя анастомозирующих между собой тяжа гепатоцитов. Между гепатоцитами локализируются желчные канальцы, впадающие в протоки Геринга. По протокам Геринга желчь поступает в желчные протоки портальных областей. Каких-либо существенных отличий этих структур между животными нет.

Синусоиды, как и центральные вены, выстланы эндотелиальными клетками, и кровь, протекающая по ним, не соприкасается непосредственно с гепатоцитами. Они ограничены пространством Диссе, куда выдаются ворсинки гепатоцитов и где располагаются клетки Купфера (звездчатые макрофаги). Синусоиды собак более свободно анастомозируют между собой, чем у крыс (рисунок 1).

Напомним, что на месте стыка трех смежных классических долек расположена портальная

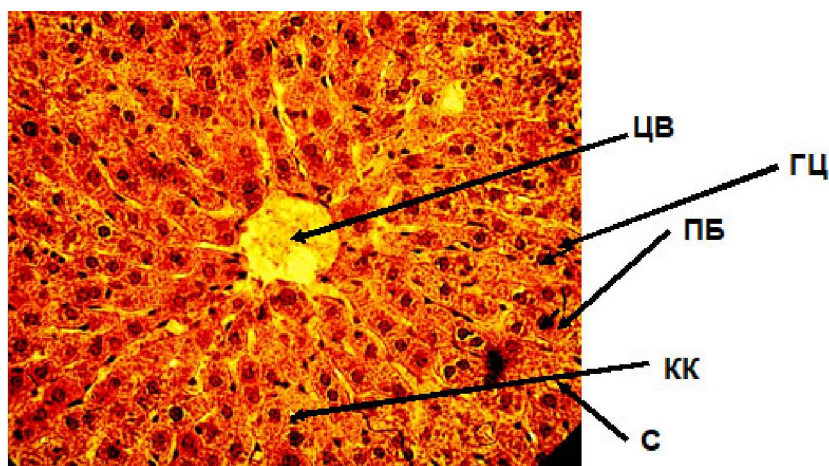


Рисунок (микрофото) 1 – Печеночная долька здоровой крысы: ЦВ – центральная вена; С – синусоид; ПБ – печеночная балка; ГЦ – гепатоцит; КК – клетка Купфера. Заливка в парафин, × 420

область, содержащая триаду печени (желчные протоки, ветви печеночной артерии, воротной вены, лимфатические сосуды). Она ограничена терминальной пластинкой, состоящей из гепатоцитов, которые у крыс выявляются отчетливее, чем у собак (рисунок 2).

Портальная область располагается в центре портальной дольки, представляющей собой треугольное образование, на вершинах которого располагаются центральные вены. В этой дольке кровь по синусоидам течет в сторону центральной вены, а желчь – в обратном направлении.

На гистологическом срезе выделяют участок ромбовидной формы (ацинус Раппопорта, или печеночный ацинус [10, 11]. Его длинной осью является линия, соединяющая центральные вены, короткой осью – линия, соединяющая портальные области.

Печеночный ацинус кровенаполняется терминальными ветвями печеночной артерии и воротной вены. Само собой разумеется, что гепатоциты, прилежащие к этим сосудам, лучше снабжаются кислородом и нутриентами, чем те, которые располагаются ближе к центральной вене.

**Ремоделирование печени при ИГМ.** Повреждение центральной нервной системы (ЦНС) вызывает реперкуссивное ремоделирование структурной организации и функциональной специализации внутренних органов [6]. При ИГМ ремоделирование охватывает структурно-функциональные образования (печеночные и портальные дольки, островки Раппопорта), трубчатую систему (печеночные артерии и вены, портальные вены, желчные протоки, лимфатические сосуды, микроциркуляторное русло), клетки (гепатоциты, звездчатые макрофаги) печени.

При обзоре гистологических препаратов обращает на себя внимание нечеткость контуров печеночных долек, тогда как в здоровой печени они хорошо выражены. Печеночные балки состоят из отекающих гепатоцитов, плотно прижатых один к другому, они сдавливают синусоидальные капилляры и желчные каналы, что ремоделирует архитектуру печеночной дольки. Это затрудняет отток крови по синусоидам в центральную вену и поставку желчи гепатоцитами в желчные каналы, а также глюкозу, белков, жиров и других веществ – в кровеносное русло. Типичное расположение печеночных балок и синусоидальных капилляров радиально вокруг центральной вены нарушается. Отличить гема- и билиарные полюса гепатоцитов не удастся. Отток крови из центральной вены в поддольковые вены затрудняется. Появляются своеобразные анастомозы между центральными венами и коллекторы, соединяющие центральные и поддольковые вены (рисунок 3).

Выраженные нарушения гемодинамики печеночных долек приводят к растройству трофики гепатоцитов. Прежде всего, это выражается разными видами дистрофии гепатоцитов в виде диспротеиноза, липидоза и углеводной дистрофии.

При рассмотрении портальной области обнаруживается клеточная инфильтрация вокруг триады печени, которая вклинивается в паренхиму печеночных долек. В результате этого обнаружить терминальные пластины, которые в норме окружают портальные области, не удастся. Радиально от триады печени в сторону печеночных долек тянутся фибриллярные структуры, которые включают элементы амилоидной дистрофии и фиброза (рисунок 4).

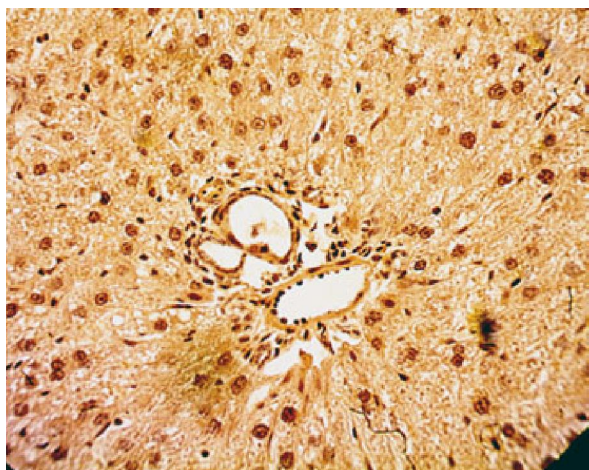


Рисунок (микрофото) 2 – Портальная область печени здоровой крысы, содержащая триаду печени. Заливка в парафин,  $\times 420$

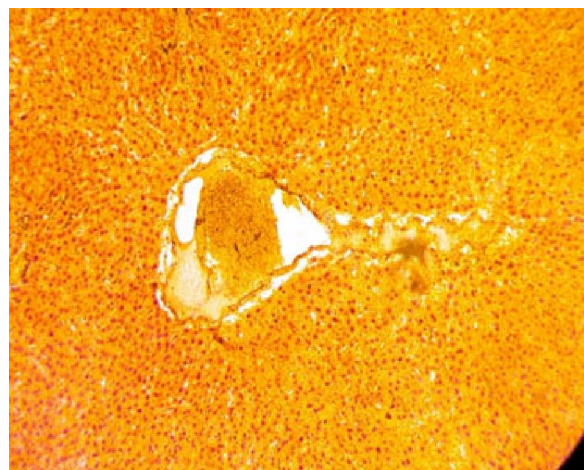


Рисунок (микрофото) 3 – Печеночная долька крысы с ишемией головного мозга. Контур печеночных долек нечеткие; печеночные балки сдавливают синусоиды, центральные вены содержат гравитационно-расслоенную кровь. Заливка в парафин,  $\times 100$

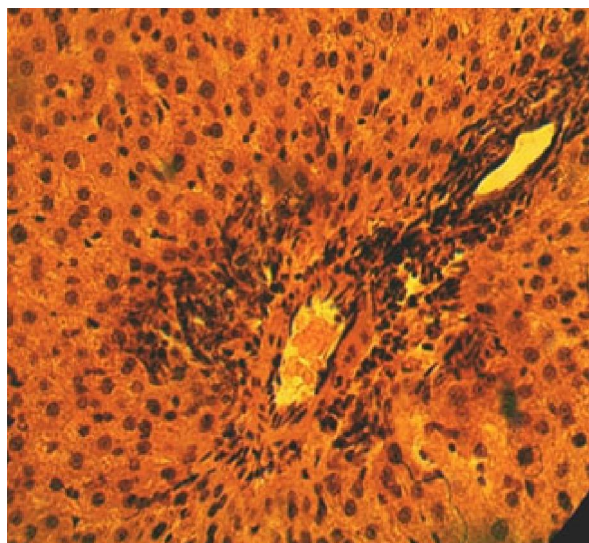


Рисунок (микрофото) 4 – Портальная область печени крысы с ишемией головного мозга. Клеточная инфильтрация и фибриальные структуры вокруг триады вклиниваются в паренхиму печени. Заливка в парафин,  $\times 400$

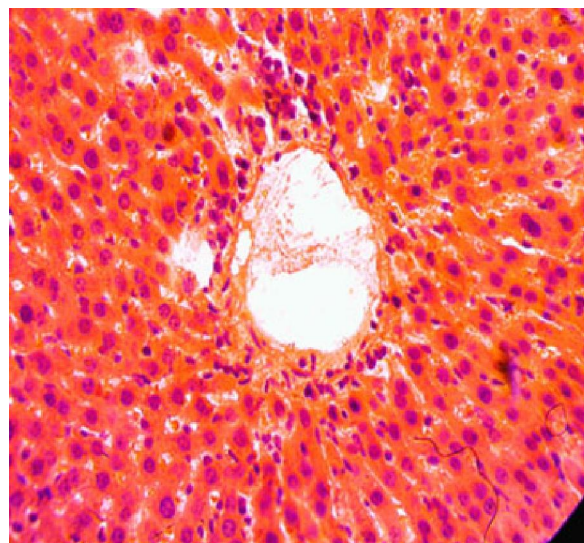


Рисунок (микрофото) 5 – Печеночная долька крысы с ишемией головного мозга на фоне применения глибенкламида. Типичное строение печеночных балок и синусоидов сохранено, фибриллярные структуры прикреплены к сосудистой стенке. Заливка в парафин,  $\times 400$

Портальная область располагается в центре портальной доли. Следовательно, отложение амилоида и фиброзной ткани в портальной области должно затруднять отток желчи по поддольковым желчным протокам в желчные протоки триады. Это несомненно сочетается с препятствием оттоку крови от ветвей воротной вены, расположенных в портальной области по поддольковым венам в синусоидальные капилляры. В итоге амилоидная дистрофия и фиброз портальной области нарушают отток желчи и приток крови в печеночную дольку.

В ацинусах Раппопорта располагаются терминальные ветви печеночной артерии и воротной вены, которые в результате сближения между собой печеночных долек, сдавливаются, кровоток по ним нарушается.

Ремоделирование затрагивает при ИГМ все компоненты трубчатой системы печени. Нами [12] было установлено, что кровоток в печени колеблется в широких пределах. У человека он составляет 1000–1500 мл/мин, у собак – 400–600 мл/мин, у кошек – 80–150 мл/мин, у крыс – 40–60 мл/мин. В перерасчете на единицу массы печени кровоток у человека, и животных составляет 100–130 мл/мин × 100 г. На воротную вену приходится 70–80 % от общего печеночного кровотока, что составляет 24,75 % МОК. Сопротивление кровотоку равняется 0,036 у. е., 20–30 % крови протекает по печеночной артерии, что в составляет 14,9 МОК. Объемная скорость кровотока по печеночной артерии равняется  $11,5 \pm 1,8$  мл/(мин · 100 г). Сопротивление кровотоку равно 0,8 у. е. Эти соотношения между портальным и печеночным кровотоками при ИГМ сдвигаются в сторону артериального, так как наблюдается гиповаскуляризация желудочно-кишечного тракта. Причем не исключено, что часть крови (больше, чем в норме), минуя перипортальное капиллярное сплетение, отводится прямо в терминальную печеночную венулу.

Структурной основой адаптации и компенсации нарушения внутрипеченочного кровообращения при ИГМ выступают васкулярные, интра- и экстраваскулярные преобразования. В портальной области конечные ветки печеночной артерии спазмируются без каких-либо грубых нарушений сосудистой стенки. Возможно, это способствует перебросу части артериальной крови в систему печеночной вены и обеспечивает сифонный эффект при откачке крови из центральных вен, которые являются конечными ветвями печеночной вены.

Внутрипеченочные ветви портальной вены находятся в состоянии дистонии, со стороны сосудистой стенки встречается десквамация эндотелиоцитов. В просвете ветвей портальной вены

обнаруживается стаз гравитационно-расслоенной крови и формирование фибриллярных структур.

Желчные протоки выглядят опустевшими, дистоничными с наличием повреждения эпителиальной выстилки.

Отдельные центральные вены резко дилатируются, эндотелиальный покров нарушается, и к этому участку пристает плазма крови посредством сформированных фибриллярных структур. Здесь отмечается имбибиция эритроцитов через сосудистую стенку, в результате которой эндотелиальный покров центральных вен отстает от печеночной паренхимы а образовавшееся пространство заполняется отечной жидкостью с элементами крови.

Ремоделирование гепатоцитов характеризуется выраженным полиморфизмом. Одни клетки увеличены, другие, напротив, уменьшены в размерах, хроматин одних ядер приобретает глыбчатый вид, другие в виде плотной массы располагаются в центре ядра, в третьих – вообще исчезает. Цитоплазма гепатоцитов в последнем случае подвергается просветлению и дистрофии.

Клетки Купфера более активно, чем в норме, фагоцитируют частицы туши и проявляются на гистологических препаратах в виде пятен неправильной формы и разной величины.

**Влияние глибенкламида на ремоделирование печени при ИГМ.** Simard с соавторами [7] исследовали эффекты низких доз глибенкламида на трех моделях ИГМ. Глибенкламид уменьшал общий объем повреждения на 53 % при тромбоэмболической ишемии, на 51 % снижал объем коркового повреждения при необратимой окклюзии средней мозговой артерии филаментом и на 41 % – объем коркового повреждения при временной окклюзии внутренней средней мозговой артерии.

Отсюда следовало ожидать позитивное действие препарата на ремоделирование печени при ИГМ. Тем более, ранее было установлено благоприятное влияние глибенкламида на состояние легких и почек, а также на физическую и эмоциональную активность крыс с ИГМ [13]. Однако результаты опытов оказались неоднозначными. Прежде всего потому, что глибенкламид по-разному повлиял на состояние отдельных структурных подразделений печени.

Наилучший эффект препарата обнаружен по отношению классической печеночной доли (рисунок 5). В отличие от данных опытов с ИГМ, но без применения препарата, типичное строение печеночных балок и синусоидальных капилляров не нарушено. Одновременно чаще встречаются двух- и трехъядерные гепатоциты вблизи портальной зоны. Размеры этих клеток, по сравнению с другими, увеличены (рисунок 6).

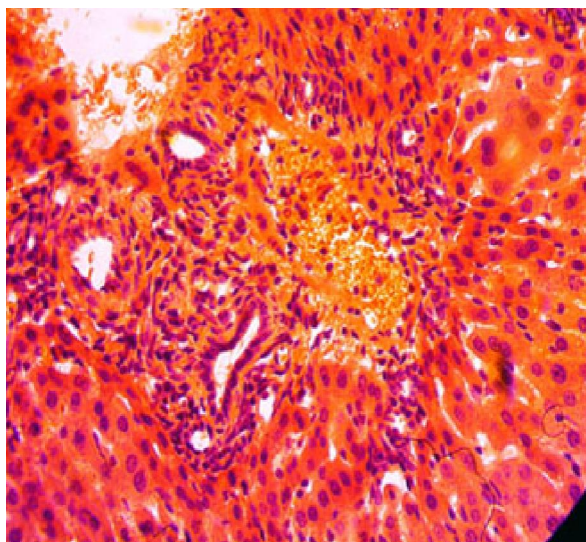


Рисунок (микрофото) 6 – Портальная область крысы с ишемией головного мозга на фоне применения глибенкламида. Триада печени характеризуется большим количеством желчных протоков. Вокруг портальной области видно большое количество диплоидных гепатоцитов. Заливка в парафин,  $\times 400$

В противоположность балкам и синусоидальным капиллярам центральные вены отличаются чрезвычайным полиморфизмом. На одних гистологических срезах они сохраняют свою округлую форму, дилатированы и плотно заполнены кровью с примесью инъекционной массы (рисунок 7). На других – центральные вены обычного диаметра. Эндотелиальная выстилка отечная с отложением рыхлой массы неизвестного происхождения на люминальной поверхности. В просвете залегают сгусток фибрина. В третьих, центральная вена теряет свои очертания. Эндотелиальная выстилка нарушается. В просвете содержится гравитационно-расслоенная кровь. В местах нарушения целостности эндотелия появляется полиморфно-клеточная инфильтрация. В-четвертых, резко суженные центральные вены заполнены расслоенной кровью. На таких препаратах отмечается увеличение размеров звездчатых макрофагов. Многие из них активно фагоцитируют зерна туши и выделяются как темные тени.

Портальная область отделена от прилежащей паренхимы терминальной пластинкой, состоящей, как и в норме, из плотно прилежащих гепатоцитов, которые чаще, чем другие печеночные клетки, содержат два и более ядра. Триада, расположенная в этой области, отличается от таковой в опытах

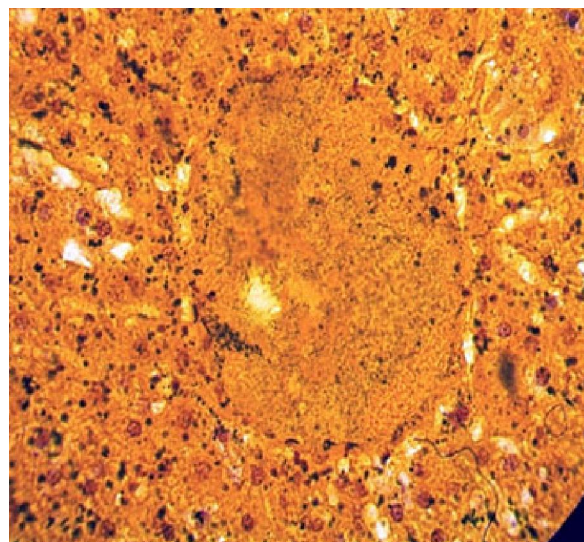


Рисунок (микрофото) 7 – Печеночная долька крысы с ишемией головного мозга на фоне применения глибенкламида. Центральная вена дилатирована, плотно забита кровью с примесью инъекционной массы. В паренхиме печени расположено множество клеток Купфера в виде темных пятен из-за фагоцитированной туши. Заливка в парафин,  $\times 400$

с ИГМ, но без применения глибенкламида, например, большим количеством мелких желчных протоков с эпителиальной выстилкой, состоящей из кубических цилиндрических клеток; полнокровием терминальных ветвей печеночной артерии, воротной вены.

#### Литература

1. Гафт П.Г. О некоторых вегетативно-висцеральных расстройствах при закрытой черепно-мозговой травме / П.Г. Гафт, Д.П. Примейко, К.М. Бугаева // Тез. докл. 2-го Всесоюзного съезда нейрохирургов. М., 1978. С. 278–279.
2. Шидаков Ю.Х.-М. Влияние глибенкламида на ремоделирование морфологии почек при ишемии головного мозга / Ю.Х.-М. Шидаков, Г.И. Горохова, Т.У. Халходжаев, М.Я. Ибрагимов, Ж.Б. Мадаминов // Вестник КРСУ. 2019. Т. 19. № 1. С. 100–105.
3. Шидаков Ю.Х.-М. Влияние глибенкламида на ремоделирование легких при ишемии головного мозга / Ю.Х.-М. Шидаков, Г.И. Горохова, О.В. Волкович, С.С. Сагиев, Д.З. Жанузаков // Вестник КРСУ. 2019. Т. 19. № 5. С. 113–120.
4. Горохова Г.И. Структурные изменения в легких при церебро-васкулярной патологии в эксперименте / Г.И. Горохова, А.М. Муратбекова,

- Б.Т. Маткеримова // Вестник КРСУ. 2017. Т. 17. № 7. С. 175–177.
5. Царенко С.В. Нейрореаниматология, интенсивная терапия черепно-мозговой травмы / С.В. Царенко. М.: ОАО Изд-во «Медицина», 2005. 352 с.
  6. Ладейщиков В.М. Функциональное состояние печени у больных с сочетанной черепно-мозговой травмой / В.М. Ладейщиков, А.С. Денисов, Н.Б. Щелокова и др. // Пермский медицинский журнал. 2007. Т. XXIV. № 3. С. 62–64.
  7. Simard J.M., Chen M., Tarasov K.V., Bhatta S., Ivanova S., Melnitchenko L., Tsybalyuk N., Wed G.A., Gerzanich V. Newly expressed SUR1-regulated NCCa-ATP channel mediates cerebral edema after ischemic stroke // Nature Med. April. 2006. Vol. 12. № 3. P. 433–440.
  8. Adelaide M. Arruda-Obson Effect of Second-Generation Sulphonyureas on Survival in Patients With Diabets Mellitus After Myocardial infarction // Mayo clin. Proc. 2009. Vol. 84. № 1. P. 28–33.
  9. Чепляева Н.И. Глибенкламид: доказанные факты, перспективы, дискуссии // Проблемы эндокринологии. 2013. № 3. С. 57–62.
  10. Гринько Л.Г. Морфология печени в условиях высокогорья / Л.Г. Гринько. Фрунзе: Илим, 1989. 227 с.
  11. Гартнер Л.П. Цветной атлас гистологии / Л.Н. Гартнер, Дж.Н. Хайатт; пер. с англ.; под ред. В.С. Сапрыкина. М.: Легосфера, 2008. 462 с.
  12. Шидаков Ю.Х.-М. Высокогорная кардиология / Ю.Х.-М. Шидаков Х.Д. Каркабатов, Ф.А. Текеева. Бишкек: Бийктик, 2001. 228 с.
  13. Шувалова М.С. Влияние глибенкламида на двигательную и поведенческую активность крыс с ишемией головного в высокогорье / М.С. Шувалова // Вестник КРСУ. 2019. Т. 19. № 5. С. 127–131.