© Некрут Д.О.

УДК: 616.153:599.323.4:591.436

Некрут Д.О.
Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова, кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

ВПЛИВ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ НА ФОРМУВАННЯ НЕАЛКОГОЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ХВОРОБИ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ

Резюме. *З метою вивчення впливу гіпергомоцистеїнемії на розвиток неалкогольної жирової хвороби печінки у щурів було досліджено низку біохімічних показників сироватки крові та гомогенату печінки 40 щурів. Неалкогольна жирова хвороба печінки на тлі хронічної гіпергомоцистеїнемії призводить до прогресування оксидативного стресу в тканинах печінки щурів. Це проявляється підвищенням активності NADPH-оксидази, кількості карбонільних груп білка в гомогенаті печінки та концентрації малонового діальдегіду як в гомогенаті печінки, так і в сироватці крові. При цьому знижується активність антиоксидантних ферментів, зокрема тіоредоксинредуктази, глутатіонпероксидази та супероксиддисмутази в гомогенаті печінки. Гіпергомоцистеїнемія у щурів, яких утримували на високожировій дієті, призводить до достовірного збільшення кількості гепатоцитів з мілкокрапельною жировою дистрофією цитоплазми. Отримані дані підтверджують, що гомоцистеїн є одним із факторів прогресування неалкогольної жирової хвороби печінки.*

Ключові слова: *неалкогольна жирова хвороба печінки, гомоцистеїн, гіпергомоцистеїнемія.*

Вступ

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) вважається найпоширенішим хронічним захворюванням, що охоплює 10-40% популяції. У зв'язку з тим, що приблизно у 30% пацієнтів із стеатозом розвивається неалкогольний стеатогепатит (НАСГ), який у 10% випадків може трансформується в цироз печінки (ЦП), НАЖХП є однією з найактуальніших медичних проблем сучасності. НАЖХП зустрічається в усіх вікових групах населення, включаючи дітей. Але найбільш часто НАЖХП діагностують у людей 40-60 років [5, 9]. У розвинутих країнах світу НАЖХП реєструється у 20-35% дорослого населення, а у жінок, що досягли постменопаузального віку - у 75% випадків [2]. Поширеність НАЖХП в Україні досі детально не вивчена. Причиною є безсимптомність захворювання та несвоєчасне звернення пацієнтів за медичною допомогою.

Не дивлячись на велику кількість робіт, присвячених патогенезу НАЖХП, деякі питання залишаються досі не вивченими. Однією з причин розвитку НАЖХП являється гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ). ГГЦ - це стан, що характеризується підвищеним вмістом в плазмі крові амінокислоти гомоцистеїну (ГЦ). ГЦ є нормальним проміжним метаболітом обміну амінокислоти метіоніну. Підвищений рівень ГЦ у крові - доволі розповсюджене явище. Так, в Україні ГГЦ виявляють у 10% здорового населення та до 43% у пацієнтів із серцево-судинною патологією [1]. Підвищені рівні ГЦ спостерігають при серцево-судинних хворобах, за ниркової недостатності, псоріазі, остеопорозі, цукровому діабеті, захворюваннях печінки, невиношуванні вагітності, ряді нервово-психічних захворювань, дефектах розвитку, канцерогенезі тощо, причому існує тенденція до постійного розширення цього списку [3, 4, 6, 7, 8]. Описані багато механізмів патогенетичної дії ГГЦ, серед яких основними вважають пригнічення процесів метилування, активація оксидативного стресу та гомоцистеїнування білків, що запускають інші патологічні процеси - дестабілізацію геному (внаслідок зниження ступеня метилування ДНК), дисрегуляцію деяких редокс-чутливих генів, зниження рівня синтезу сірководню, тромбофілію тощо. В той же час зараз практично відсутні досліження щодо впливу ГГЦ на перебіг та прогресування НАЖХП.

Тому *метою* роботи є вивчення впливу хронічної гіпергомоцистеїнемії на формування НАЖХП у щурів.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 40 нелінійних білих щурах з масою тіла приблизно 260 г, які отримували стандартну крохмально-казеїнову дієту з фізіологічним (1 та 2 групи) або підвищеним (3 та 4 групи) вмістом жиру. Всі тварини мали вільний доступ до питної води.

Тварин 1 та 2 групи утримували на стандартній дієті, яка містила 180 г казеїну, 660 г крохмалю та 100 г жиру (50 г лярду та 50 г соняшникової олії) на 1000 г сухої суміші.

Також до складу дієти входили вітаміни в таких кількостях: піридоксин - 1,0; фолієва кислота - 0,2; кобаламін - 0,03; тіамін - 4,0; рибофлавін - 5,0; пантотенат - 15,0; нікотинат - 15,0; біотин - 0,2; холін - 50,0; токоферол 150,0; вітамін К (філохінон) - 2,0; ретинол - 1,0; кальциферол - 0,03 мг на 1 кг сухого корму. Суміш вітамінів була складена відповідно до фізіологічних потреб. Водорозчинні вітаміни вносили в дієту у вигляді їхньої суміші, виготовленої на глюкозі. Жиророзчинні вітаміни додавали в соняшникову олію. Загальна кількість суміші вітамінів у сухому кормі складала 5 г на 1000 г.

До дієти додавали сольову суміш, в склад якої входили: натрію хлорид - 58,5 г, калій фосфорнокислий однозаміщений - 163,3 г, магнію сульфат - 24,1 г, кальцій вуглекислий - 160,2 г, залізо сірчанокисле - 11,1 г, калію йодид - 0,322 г, сірчанокислий марганець - 1,87 г, сірчанокислий цинк - 0,23 г, сірчанокисла мідь - 0,2 г, хлористий кобальт - 0,01 г, фтористий натрій - 0,21 г, каплун - 0,047 г, калій-хром-сульфат - 0,55 г, натрію селеніт - 0,01 г. Кількість сольової суміші у сухому кормі складала 35 г на 1000 г сухого корму. Також до раціону додавали целюлозу (20 г на 1000 г сухого корму).

Тварин 3 та 4 груп утримували на високожировій дієті, в якій на 180 г казеїну припадало 310 г крохмалю та 250 г жиру (125 г лярду та 125 г соняшникової олії). Фактично у високожировій дієті було збільшено квоту жирів до 50% загального калоражу за рахунок зменшення квоти вуглеводів до 26%.

Тварини були розподілені на 4 групи, по 10 тварин у кожній групі. Група 1 - контрольна - щурів утримували на стандартному раціоні; Група 2 - щурів утримували на стандартному раціоні плюс викликали хронічну тіолактонову ГГЦ шляхом введенням щурам протягом 60 діб тіолактону ГЦ на 1% розчині крохмалю з розрахунку 100 мг/кг інтрагастрально один раз на добу. Контрольна група щурів протягом всього терміну експерименту замість тіолактону ГЦ внутрішньошлунково отримувала еквівалентну кількість 1% розчину крохмалю. Група 3 - щурів утримували на високожировому раціоні плюс введення 1% розчину крохмалю як і тваринам групи 1. Група 4 - щурів утримували на високожировому раціоні плюс введення тіолактону ГЦ як і тваринам групи 2. Тварин щодня оглядали, вираховували кількість їжі, яку вживали тварини. Щотижня проводили зважування тварин.

Наприкінці досліду виведення тварин з експерименту здійснювали шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом у відповідності до вимог Європейської конвенції по захисту експериментальних тварин 86/609 ЕЕС та Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 "Про захист тварин від жорстокого поводження". При цьому визначали біометричні показники, а саме масу тварин, довжину тіла, відносну та абсолютну масу печінки.

Біохімічні дослідження. У сироватці крові визначали активність АЛТ (КФ 2.6.1.2), АСТ (КФ 2.6.1.1), рівень загального холестерину (ЗХС), тригліцеридів (ТГ), холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ), холестерину ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), холестерину ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ). Всі ці показники визначали на аналізаторі Beckman Coulter AU 480 OLYMPUS.

Білок-синтезуючу функцію печінки визначали за рівнем альбуміну в сироватці крові, активність циклу сечовиноутворення - за рівнем сечовини в крові. Альбумін сироватки визначали стандартним методом з бром-крезоловим зеленим за допомогою діагностичного набору "Альбумін Агат" (БІОКОНТ®, РФ). Визначення оптичної густини досліджуваних розчинів проводили на спектрофотометрі СФ-26 при довжині хвилі 625 нм.

Сечовину в сироватці крові визначали стандартним методом з діацетилмонооксимом діагностичним набором "Мочевина Агат" (БІОКОНТ®, РФ). Визначення оптичної густини досліджуваних розчинів проводили на фотоелектроколориметрі КФК-2МП при довжині хвилі 540 нм.

Для оцінки інтенсивності процесів оксидативного стресу визначали активність ферментів NADPH-оксидази (КФ 1.6.3.1), вміст малонового діальдегіду (МДА) та карбонільних груп білків, а також показники антиоксидантного захисту - активність ферментів глутатіонпероксидази, (КФ 1.11.1.9), тіоредоксинредуктази (КФ 1.6.4.5) та відновленого глутатіону, а також супероксиддисмутази (СОД) (КФ 1.15.1.1) в гомогенаті печінки, МДА - в гомогенаті та в сироватці крові.

Для визначення розвитку печінкового фіброгенезу вимірювали вміст TNF-α (імуноферментний метод, набір від InvitroGen™) та гіалуронату в сироватці крові (ІФА набір від Corgenix, USA), а також вміст гідроксипроліну в печінці. С-реактивний білок визначали за турбодиметричним методом використовуючи набір "DiaLab" (Австрія).

Рівень загального ГЦ у сироватці крові визначали імуноферментним методом набором AXIS®.

У ліпідному екстракті печінки визначали загальний вміст фосфоліпідів з феротіоціанатним реагентом. Малоновий діальдегід в сироватці та гомогенаті печінки визначали уніфікованим методом з тіобарбітуровою кислотою. Карбонільні групи білків визначали реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином. Визначення супероксиддисмутази в гомогенаті проводили кверцетиновим методом з використанням набору "СОД-ТЕСТ" виробництва НТПК "Анализ-Х" (Республіка Беларусь). Відновле-

ний глутатіон визначали уніфікованим методом з реактивом Елмана. Активність глутатіонпероксидази визначали за зміною концентрації відновленого глутатіону в присутності перекису водню.

Для проведення гістологічного дослідження тканини печінки невеликі фрагменти центральної частини правої частки органу фіксували 10% розчином нейтрального формаліну протягом не менше 48 годин, потім його промивали, зневоднювали за допомогою систем багатоатомних спиртів і заливали у парафінові блоки за стандартною схемою.

У подальшому за допомогою санного мікротома "Мікромед МС-2М" готували напівтонкі зрізи завтовшки 5-7 мкм. Зрізи забарвлювали суданом III (для виявлення крапель жиру).

Мікроскопію гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа "Olimpus BX-41" при збільшенні у 200 разів.

Статистичну значимість розбіжностей між групами розраховували за непараметричним методом Уайта, оскільки розподіл величин в групах переважно не відповідав нормальному закону. Одержані показники піддослідних тварин наведено в таблицях у вигляді M±m, де M - середнє арифметичне, m - середнє відхилення від середнього.

Таблиця 1. Масові показники піддослідних тварин.

Показники	Групи тварин			
	1	2	3	4
Маса щурів до експерименту, г	261±15	263±19	262±20	265±32
Маса щурів після експерименту, г	360,5±22,6	374,0±28,8	380,2±34,8	400,5±33,5*
Приріст маси тіла, г	99,5±15,5	111,0±18,8	118,2±21,8	135,5±21,4*
Абсолютна маса печінки, г	9,40±0,61	11,37±1,49*	11,76±1,5*	13,83±1,27*#&
Відносна маса печінки,%	2,90±0,25	3,05±0,30	3,10±0,26	3,46±0,26*#&

Примітки: (*) - статистична значимість розбіжності відносно групи 1 перевищує 95%; (#) - статистична значимість розбіжності відносно групи 2 перевищує 95%; (&) - статистична значимість розбіжності відносно групи 3 перевищує 95%.

Таблиця 2. Біохімічні показники сироватки крові піддослідних тварин.

Показники	Групи тварин			
	1	2	3	4
Гомоцистеїн, мкмоль/л	5,8±0,43	9,6±1,11*	7,4±1,22	11,3±0,96*#&
ЗХС, ммоль/л	1,25±0,23	1,59±0,16*	1,35±0,22	1,76±0,28*
ТГ, ммоль/л	0,69±0,28	0,56±0,15	0,83±0,25#	1,03±0,25*#
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	0,70±0,10	0,75±0,12	0,76±0,14	0,80±0,18
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	0,20±0,09	0,58±0,17*	0,23±0,11	0,45±0,25 *&
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	0,32±0,13	0,26±0,08	0,33±0,11	0,46±0,10*#&
ІА, у.о.	0,77±0,19	1,20±0,38*	0,81±0,15	1,25±0,42*&
АЛТ, од/л	52,0±9,7	53,28±14,16	48,4±10,8	68,1±20,0 *#&
АСТ, од/л	213,6±53,4	240,5±50,1	194,6±24,8	322,7±138,6*&
АСТ/АЛТ	4,21±0,83	4,86±1,25	4,33±1,14	4,60±1,25
Альбумін, г/л	41,3±0,76	39,8±0,68	40,2±0,71	38,6±0,84
Сечовина, моль/л	5,05±0,21	5,16±0,18	5,12±0,19	5,22±0,15

Примітки: (*) - статистична значимість розбіжності відносно групи 1 перевищує 95%; (#) - статистична значимість розбіжності відносно групи 2 перевищує 95%; (&) - статистична значимість розбіжності відносно групи 3 перевищує 95%.

Результати. Обговорення

Виявлено (табл. 1), що в ході експерименту у щурів 4 групи, які отримували високожирову дієту у поєднанні із додатковим введенням тіолактону ГЦ, достовірно збільшилася маса тіла у порівнянні з контрольною групою. Можливо, це пов'язано з пригніченням функції щитоподібної залози, що спостерігається за ГГЦ. Деяке, але статистично недостовірне підвищення маси тіла спостерігалось і у щурів групи 2. Відмічено достовірне збільшення абсолютної маси печінки в усіх дослідних групах по відношенню до абсолютної маси печінки у інтактних тварин, а також між масою печінки тварин групи 4 по відношенню до абсолютної маси печінки тварин груп 2 та 3. Але через збільшення маси тіла тварин, відносна маса печінки достовірно збільшилася лише у щурів групи 4.

Зміни біохімічних показників (у тому числі обміну ліпідів) у піддослідних тварин наведені в таблиці 2. Виявлено, що введення щурам тіолактону ГЦ у дозі 100 мг/кг протягом 2 місяців спричинило виразну ГГЦ. Так, вміст ГЦ в плазмі крові щурів 2 групи зріс більш ніж у 1,5 рази в порівнянні із контрольною групою. Відмічено, що у щурів 4 групи рівень ГЦ статистично вищий (майже в 2 рази) у порівнянні як з групою 1, так і з групами 2 та 3, що свідчить про потенціюючу дію високожирового раціону на рівень ГЦ.

Видно, що під впливом ГГЦ у тварин групи 2 достовірно підвищились рівні загального холестерину (ЗХС), холестерину ЛПНЩ, а також індекс атерогенності (ІА), що свідчить, про причетність ГГЦ до атерогенезу. У щурів групи 3, що отримували високожирову дієту, з визначених показників був підвищеним лише рівень ТГ. У щурів групи 4 більшість показники, крім рівнів ХС ЛПВЩ, альбумінів та сечовини, були статистично підвищеними у порівнянні майже з усіма іншими групами.

Таблиця 3. Показники системи перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в гомогенаті печінки та сироватці крові щурів.

Показники	Групи тварин			
	1	2	3	4
Гомогенат печінки				
МДА, мкмоль/г	0,46±0,03	0,63±0,03*	0,59±0,05*#	0,91±0,08*#&
Тіоредоксинредуктаза, нмоль/хв*мг білка	5,85±0,43	5,02±0,62	4,55±0,62*	4,23±0,39*
NADPH-оксидаза, нмоль/хв на 1 мг білка	1,25±0,14	1,47±0,09*	1,52±0,15*	1,59±0,18*
Глутатіон відновлений, мкмоль/г білка	76,2±11,2	55,4±6,4*	68,5±3,8*#	38,4±4,3*#&
Карбонільні групи, нмоль/мг білка	2,15±0,34	2,82±0,32*	2,45±0,22	3,25±0,33*&
Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв*мг білка	12,3±2,6	10,5±1,5	11,2±2,2	8,5±1,0*
СОД, од/мг білка	1,40±0,18	1,18±0,19	1,05±0,12*	0,96±0,18*
Сироватка крові				
МДА, мкмоль/л	3,24±0,30	4,07±0,36*	3,62±0,41	4,59±0,42*

Примітки: (*) - статистична значимість розбіжності відносно групи 1 перевищує 95%; (#) - статистична значимість розбіжності відносно групи 2 перевищує 95%; (&) - статистична значимість розбіжності відносно групи 3 перевищує 95%.

Таблиця 4. Маркери стеатозу та фіброзу печінки в гомогенаті печінки щурів та сироватці крові.

Показники	Групи тварин			
	1	2	3	4
Гомогенат печінки				
Гідроксипролін, мкг/г	389±41,6	510±68,3*	472±51,5*	615±58,6*&
Фосфоліпіди, од.опт.г.	0,176±0,008	0,146±0,020*	0,160±0,025	0,137±0,019*
Тригліцериди, мкмоль/г	20,2±3,1	29,2±4,9*	34,6±4,2*	72,2±8,1*#&
Холестерин, мкмоль/г	7,14 ±0,64	8,66±0,93*	8,31±0,82*	9,45±0,94*
Сироватка крові				
Гіалуронат, мг/л	54,1±8,2	60,2±8,8	72,4±9,2*	96,6±11,4*#&
TNF-α, мкг/л	7,2±1,8	30,2±6,2*	18,6±2,4*#	32,1±8,8*&
С-реактивний білок, мг/л	0,036±0,013	0,088±0,039*	0,079±0,041	0.068±0.046

Примітки: (*) - статистична значимість розбіжності відносно групи 1 перевищує 95%; (#) - статистична значимість розбіжності відносно групи 2 перевищує 95%; (&) - статистична значимість розбіжності відносно групи 3 перевищує 95%.

Звертає на себе увагу той факт, що вміст атерогенного ХС ЛПНЩ та активність АЛТ були підвищеними у порівнянні як з групою 2 (ГГЦ) так і 3 (високожирова дієта).

При цьому співвідношення активностей АСТ/АЛТ (коефіцієнт де Рітіса) залишилося практично незмінним в усіх групах, що можна трактувати як відсутність переходу патологічного процесу в хронічну форму.

Концентрації альбуміну та сечовини в сироватці крові щурів всіх чотирьох груп статистично не розрізняються.

Зміни показників оксидативного стресу та антиоксидантного захисту наведені в таблиці 3. Виявлено достовірне підвищення рівнів МДА в сироватці крові та гомогенаті печінки, NADPH-оксидази та карбонільних груп білків в гомогенаті печінки у щурів 2 групи у порівнянні із групою 1. У тварин 3 групи, що перебували на високожировому раціоні, достовірно підвищились рівні усіх показників оксидативного стресу у порівнянні з 1 групою, окрім рівнів карбонільних груп білків. Більшість показників оксидативного стресу у щурів 4 групи були підвищеними у порівнянні з попередніми групами, що свідчить про прогресування оксидативного стресу в тканинах печінки у тварин, котрих утримували на високожировій дієті на фоні ГГЦ.

При цьому відмічалось суттєве зниження активності антиоксидантних ферментів. Так, при дослідженні рівнів антиоксидантного захисту було виявлено достовірне зниження рівнів відновленого глутатіону в гомогенаті печінки у тварин 2 групи в порівнянні з тваринами групи контролю. У щурів, котрих утримували на високожировому раціоні, відмічено достовірне зниження активності тіоредоксинредуктази та СОД в гомогенаті печінки. У тварин 4 групи достовірно (в 2 рази) зменшився рівень відновленого глутатіону у порівнянні з 1, 2 та 3 групами. Також відмічено достовірне зниження решти показників антиоксидантного захисту у порівнянні із групою контролю. Наведені результати вказують на зменшення функціональної здібності антиоксидантної системи при активації перекисного окислення ліпідів.

Порівняння показників стеатозу та фіброзу печінки представлено у таблиці 4. У тварин 2 та 3 групи було відмічено достовірне підвищення рівнів тригліцеридів та холестерину в гомогенаті печінки у порівнянні з тваринами конрольної групи, що свідчить про формування стеатозу печінки. Аналогічно у щурів 2 та 3 групи достовірно підвищились рівні гідроксипроліну в гомогенаті печінки та гіалуронату і TNF-α в сироватці крові у порівнянні з 1 групою, що вказує на розвиток початкових стадій фіброзу. У щурів 2 групи достовірно підвищився рівень С-реактивного білку у порівнянні з групою конт-



Рис. 1. Гістологічний зріз тканини печінки у інтактних щурів, котрих утримували на стандартному раціоні. Судан III. х200.

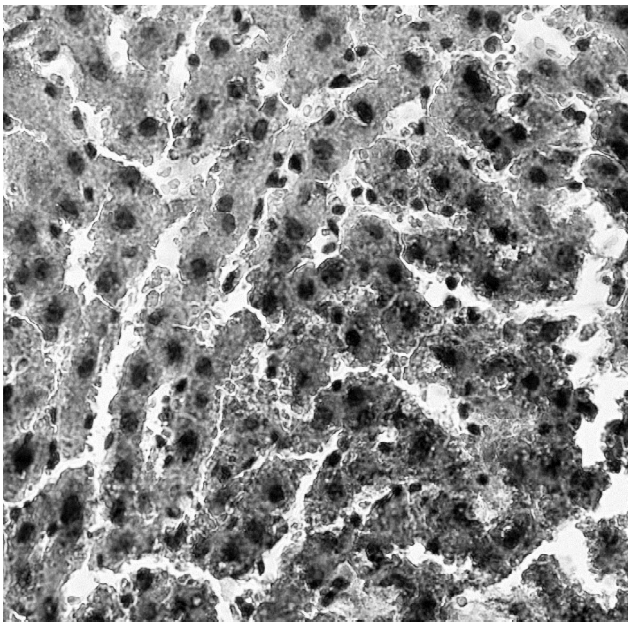


Рис. 3. Гістологічний зріз тканини печінки у щурів, котрих утримували на високожировому раціоні. Судан III. х200.

ролю. У щурів 4 групи відмічалося достовірне підвищення всіх показників стеатозу та фіброзу майже з усіма попередніми групами. Однак, слід зазначити, що рівень фосфоліпідів був достовірно понижений у щурів 2 та 4 груп у порівнянні з контрольною групою, що свідчить про виразність процесу гіпометилування. Через те, що значення концентрацій С-реактивного білка в сироватці крові знаходилися практично на межі чутливості методу, не вдалося підтвердити достовірність розбіжностей між 3 та 4 групами та контрольною групою.

З метою підтвердження достовірності змін біохімічних показників було проведено гістологічне дослідження. З метою виявлення включень жиру в гепатоцитах вивчили гістологічні зрізи тканин печінки із забарвленням суданом III. У щурів контрольної групи мікроскопічна структура печінки була без патологічних змін. Структура печінкових пластинок не порушена, частка сполучної тканини складала 0,5% (рис. 1). У поодиноких гепатоцитах проміжної зони класичних печінкових часточок (КПЧ) виявляли жирові включення. Частка гепатоцитів з мілкокрапельною жировою дистрофією цитоплазми на зрізах печінки в КПЧ складала менше 5% від їх загальної кількості.

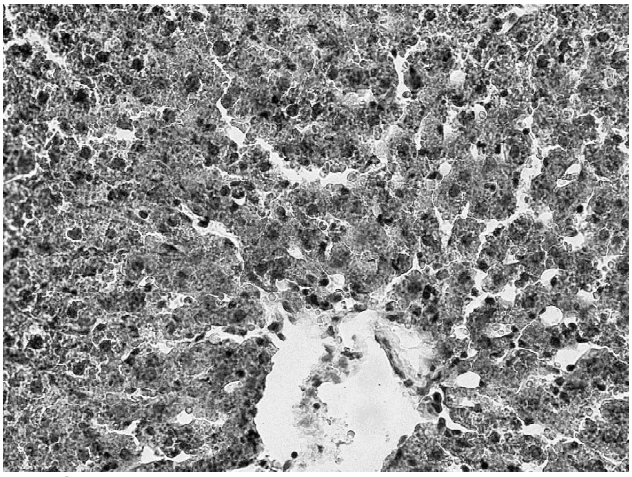


Рис. 2. Гістологічний зріз тканини печінки у щурів, котрих утримували на стандартному раціоні з інтрагастральним введенням гомоцистеїну тіолактону в дозі 100 мг/кг. Судан III. х200.

У тварин, яким вводили ГЦ в дозі 100 мг/кг маси тіла, при гістологічному дослідженні печінки було виявлено повнокрів'я міжчасточкових вен у портальних зонах, а також синусоїдів та центральних вен в КПЧ (рис. 2). У портальних зонах наявна помірна лейкоцитарна інфільтрація. Частка гепатоцитів на зрізах печінки в КПЧ з мілкокрапельною жировою дистрофією цитоплазми складала від 23% від їх загальної кількості. При цьому в центральній зоні КПЧ було виявлено некрози гепатоцитів, їх кількість складала 2% від загальної кількості гепатоцитів на зрізах.

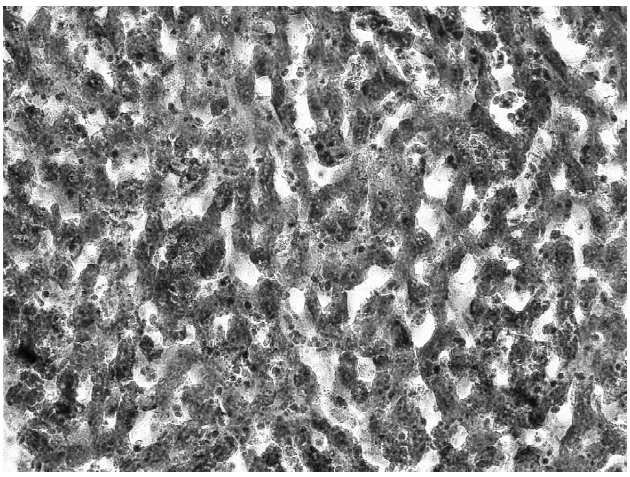


Рис. 4. Гістологічний зріз тканини печінки у щурів, котрих утримували на високожировому раціоні з інтрагастральним введенням гомоцистеїну тіолактону у дозі 100 мг/кг. Судан III. х200.

У щурів, котрих утримували на високожировій дієті, також виявлена лейкоцитарна інфільтрація, однак вона була менш виражена ніж у 2 групі (рис. 3). Частка гепатоцитів на зрізах печінки в КПЧ з мілкокрапельною жировою дистрофією цитоплазми складала 32%.

У тварин 4 групи лейкоцитарна інфільтрація була більше виражена, ніж у 2 групі (рис. 4). Частка гепатоцитів на зрізах печінки в класичних печінкових часточках з мілкокрапельною жировою дистрофією цитоплазми складала (53%). Також було виявлено повнокрів'я міжчасточкових вен у портальних зонах, синусоїдів та центральних вен КПЧ.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. ГГЦ є одним з патогенетичних чинників виникнення та прогресування НАЖХП. Біохімічними механізмами стеатогенної дії ГГЦ є гіпометилування та активація оксидативного стресу.

2. Тривале утримання щурів на високожировій дієті сприяє розвитку стеатозу та початкових проявів фіброзу печінки, що підтверджено суттєвим підвищенням рівнів холестерину, тригліцеридів та незначним підвищенням гідроксипроліну в гомогенаті печінки, а також підвищенням рівня TNF-α в сироватці крові у щурів.

3. Гомоцистеїн являється одним із чинників активації оксидативного стресу у процесі формування НАЖХП. Про це свідчить підвищення активності NADPH-оксидази, СОД та рівнів карбонільних груп білків в гомогенаті печінки у щурів.

Таким чином, гіпергомоцистеїнемія суттєво прискорює розвиток НАЖХП і цей факт допоможе внести у подальшому певний вклад в розробку методів профілактики прискореного розвитку НАЖХП.

Список літератури

1. Андрушко І.І. Рівні гомоцистеїну, цистеїну та аргініну у практично здорових осіб: вікові та статеві особливості //Укр. кардіол. журнал.- 2008.- №5.- С.89-95.
2. Звенигородская Л.А. Атеросклероз и органы пищеварения /Л.А.Звенигородская.- М.: Медпрактика, 2011.- 312 с.
3. Синдром гіпергомоцистеїнемії: причини виникнення, способи профілактики та лікування./М.Б.Луцюк, Н.В.Заічко, Г.С.Григор'єва [та ін.] // Рац. фармакотерапия.- 2013.- Т.29, №4.- С.55-60.
4. Abraham J.M. The homocysteine hypothesis: still relevant to the prevention and treatment of cardiovascular disease? /J.M.Abraham, L.Cho //Cleve Clin J. Med.- 2010.- Vol.77, №12.- P.911-918.
5. Angulo P. Epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease /P.Angulo //Alimentary Pharmacology & Therapeutics.- 2007.- Vol.25.- P.883-889.
6. Brustolin S. Genetics of homocysteine metabolism and associated disoders / S.Brustolin, R.Giugliani //Braz. J. Med. Biol. Res.- 2010.- №43.- P.1-7.
7. Hyperhomocysteinemia and Neurologic Disorders: a Review /R.Ansari, A.Mahta, E.Mallack [et al.] //J. Clin. Neurol.- 2014.- Vol.10, №4.- P.281-288.
8. Faloon W. AS WE SEE IT. Newly Identified Risks Of Excess Homocysteine //Life Extension Magazine.- 2015.- №5. [www.lifeextension.com/Magazine/2015/5/Newly-Identified-Risks-Of-Excess-Homocysteine/Page-01].
9. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in potential living liver donors in Korea: a review of 589 consecutive liver biopsies in a single center. /J.Y.Lee, K.M.Kim, S.G.Lee [et al.] //J. Hepatol.- 2007.- Vol.47, №2.- P.239-244.

Некрут Д.А.

ВЛИЯНИЕ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ НА ФОРМИРОВАНИЕ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ У КРЫС

Резюме. *С целью изучения влияния гипергомоцистеинемии на развитие неалкогольной жировой болезни печени у крыс были исследованы ряд биохимических показателей сыворотки крови и гомогената печени 40 крыс. Неалкогольная жировая болезнь печени на фоне хронической гипергомоцистеинемии приводит к прогрессированию оксидативного стресса в тканях печени крыс. Это проявляется повышением активности NADPH-оксидазы, количества карбонильных групп белка в гомогенате печени и концентрации малонового диальдегида как в гомогенате печени, так и в сыворотке крови. При этом снижается активность антиоксидантных ферментов, в частности тиоредоксинредуктазы, глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы в сыворотке крови. Гипергомоцистеинемия у крыс, которых содержали на высокожировой диете, приводит к достоверному увеличению количества гепатоцитов с мелкокапельной жировой дистрофией цитоплазмы. Полученные данные подтверждают, что гомоцистеин является одним из факторов прогрессирования неалкогольной жировой болезни печени.*

Ключевые слова: *неалкогольная жировая болезнь печени, гомоцистеин, гипергомоцистеинемия.*

Nekrut D.A.

INFLUENCE OF HYPERHOMOCYSTEINEMIA ON NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE FORMATION IN RATS

Summary. *To study the effect of hyperhomocysteinemia on the development of non-alcoholic fatty liver disease in rats were examined a number of biochemical parameters of blood serum and liver homogenate of 40 rats. Nonalcoholic fatty liver disease in chronic hyperhomocysteinemia leads to the progression of oxidative stress in the liver tissues of rats. This is manifested by increased NADPH-oxidase activity, protein amount of carbonyl groups in liver homogenate and malondialdehyde concentration in liver homogenate and serum. This reduces the activity of antioxidant enzymes, such as thioredoxin reductase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in liver homogenate. Hyperhomocysteinemia in rats kept on high-fat diet leads to a significant increase in the number of hepatocytes with cytoplasmic steatosis atomized. These data confirm that homocysteine is a factor in the progression of nonalcoholic fatty liver disease.*

Key words: *nonalcoholic fatty liver disease, homocysteine, hyperhomocysteinemia.*

Рецензент: д.мед.н., професор Луцюк М.Б.

Стаття надійшла до редакції 3.11.2015 р.

Некрут Дар'я Олександрівна - аспірант кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології ВНМУ ім.М.І.Пирогова; +38 068 210-59-31; ilchdaria@gmail.com