



УДК 599.323.4:612.35:176

С. С. Грабовський¹, О. С. Грабовська²**МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ
ПЕРЕДЗАБІЙНОГО СТРЕСУ ТА ВИКОРИСТАННЯ БІОЛОГІЧНО
АКТИВНИХ РЕЧОВИН**¹*Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій
імені С. З. Гжицького**вул. Пекарська, 50, Львів 79010, Україна, grbss@ukr.net*²*Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38; м. Львів, 79034, Україна,
alice_grb@ukr.net*

Досліджували морфометричні характеристики печінки щурів за умов передзабійного стресу на тлі використання біологічно активних речовин рослинного і тваринного походження: екстракти селезінки, ехінацеї та лимоннику китайського, пророщене зерно. За введення екстракту селезінки до корму протягом п'яти днів перед забоєм у тварин спостерігалися помірні відхилення морфологічного стану печінки, що свідчить про антистресорні властивості поліамінів, що містяться в екстракті. Результати, отримані нами у модельному експерименті на щурах, можуть бути використані у дослідженнях на сільськогосподарських тваринах з метою корекції впливу передзабійного (стресового) стану тварин та отримання якісної продукції.

Ключові слова: печінка, щури, передзабійний стрес, екстракти селезінки, ехінацеї та лимоннику китайського, пророщене зерно

S. S. Grabovskyi¹, O. S. Grabovska²**MORPHOMETRIC CHARACTERISTIC OF RATS LIVER
UNDER PRE-SLAUGHTER STRESS AND USAGE OF BIOLOGICALLY
ACTIVE SUBSTANCES**¹*Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named
after S. Z. Gzhytskyj,**50, Pekarska St., Lviv, 79010, Ukraine, grbss@ukr.net*²*Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, 79034, st. V. Stus 38, Ukraine, alice_grb@ukr.net*

We have studied morphometric parameters of rats' liver under stress conditions using the biologically active substances of plant and animal origin: spleen, Echinacea and Chinese lemon extracts, sprouted grain.

Aerosol introduction of spleen extract to the rats feed for five days before slaughter was caused to liver morphological state moderate deviation, indicating the antistressors properties of polyamines contained in this extract.

The results of model experiment on rats can be used in research of farm animals for correction of pre-slaughter stress influence and getting the receiving of quality industrial production.

Keywords: liver, rats, pre-slaughter stress, spleen extract, Echinacea and Chinese lemon extracts, sprouted grain

С. С. Грабовский¹, А. С. Грабовская²

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧЕНИ ПРИ ПРЕДУБОЙНОМ СТРЕССЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

¹Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С. З. Гжицкого, ул. Пекарская, 50, г. Львов 79010, Украина, grbss@ukr.net

²Институт биологии животных НААН, ул. В. Стуса, 38; г. Львов, 79034, Украина, alice_grb@ukr.net

Исследовали морфометрические показатели печени крыс при предубойном стрессе на фоне использования биологически активных веществ растительного и животного происхождения: экстракты селезенки, эхинацеи и лимонника китайского, проросшее зерно. При введении дополнительно к корму экстракта селезенки в течение пяти дней перед убоем у животных наблюдаются умеренные отклонения морфологического состояния печени, что свидетельствует об антистрессорных свойствах полиаминов, содержащихся в экстракте. Результаты, полученные нами в модельном эксперименте на крысах, могут быть использованы в исследованиях на сельскохозяйственных животных с целью коррекции влияния предубойного (стрессового) состояния животных и получения качественной продукции.

Ключевые слова: печень, крысы, предубойный стресс, экстракты селезенки, эхинацеи и лимонника китайского, проросшее зерно

Сьогодні переоцінюються наукові уявлення щодо біологічної ролі високоефективних низькомолекулярних метаболітів природного походження, які мають високу багатовекторну біологічну активність. Насамперед це стосується поліамінів (сперміну, спермідину та путресцину), які беруть участь у різноманітних обмінних процесах і діють як імуномодулятори й антистресори (Graboskyi, 2013; 2014a).

Не викликає сумнівів важлива роль речовин, що продукуються у надниркових залозах, у реалізації відповіді організму на дію стресового чинника (Emadali et al., 2005; Kim et al., 2010; Lou et al., 2009; Malhi & Kaufman, 2011). Печінка — багатофункціональний орган, що відіграє важливу роль в метаболізмі — біосинтезі, секреції, детоксикації і екскреції різних речовин в усіх процесах, які направлені на підтримку гомеостазу. При цьому печінка постійно піддається навантаженням і впливу різноманітних чинників, пов'язаних не тільки з дією токсичних речовин, але й стресу. Все це може привести до ушкодження печінки і порушення її функції. Є багато досліджень щодо характеристики змін у печінці під дією різних стресових факторів (Rutkowski et al., 2008; Kammoun et al., 2009; Lee, Scapa, Cohen & Glimcher, 2008).



Проте, однозначної думки про морфологічні та ультраструктурні зміни у печінці і, зокрема перед забоєм не існує, що пов'язано, насамперед, із різним за тривалістю та моделями індукуванням стресу. Введення тканинних препаратів викликає реакцію зі сторони гормональної системи організму: збільшується утворення адренокортикотропного гормону і стимулюється виділення кортикостероїдів та підвищується продуктивність тварин.

З метою нівелювання стресу перед забоєм тварини нами були проведені дослідження впливу імуномодуляторів природного походження. Аерозольне введення до раціону екстракту селезінки, в якому містяться поліаміни, мало найбільший позитивний вплив на організм тварин за умов передзабійного стресу (Grabovskyi, 2013; 2014a; 2014b). З літературних джерел відомо, що у малих кількостях поліаміни синтезуються майже усіма клітинами організму, але основну частину ендогенних поліамінів синтезує печінка (Jung, Kim, Kwondo & Kim, 2012; Koronen et al., 2012; Tomasi et al., 2013).

Введення поліамінів, отриманих з екстракту селезінки, як із застосуванням так і без використання ультразвуку, супроводжувалось підвищенням загальної кількості поліамінів, а також збільшенням концентрації окремих із них: путресцину, сперміну та спермідину у крові і тканинах (крім нирок) курчат-бройлерів. Вірогідно більший вміст поліамінів спостерігали у крові, печінці та грудному м'язі у курчат-бройлерів, яким до основного раціону вводили екстракт селезінки, отриманий із застосуванням ультразвуку. Найбільший вміст поліамінів у печінці, ймовірно, пов'язаний з інтенсивнішим синтезом їх у стані стресу та з додатковим введенням до корму екстракту селезінки, що свідчить про необхідність підвищення концентрації поліамінів у раціоні сільськогосподарських тварин і птиці перед забоєм, оскільки поліаміни інтенсивно використовуються організмом за умов стресу, що було встановлено нашими попередніми дослідженнями (Grabovskyi, 2014b).

Морфометричним дослідженням виявляли, що у щурів, яким задавали екстракт селезінки, площа острівців Лангерганса підшлункової залози була найбільшою, у щурів контрольної групи відзначали незначне локальне заміщення жировою тканиною екзокринної частини підшлункової залози, особливо в ділянках навколо кровоносних судин, що було в межах норми. (Grabovskyi, 2014c).

Найбільшу концентрацію поліамінів виявлено у підшлунковій залозі, тимусі та інших залозах, а також у печінці, тобто в органах, де відбувається інтенсивний синтез білків (Berdinskih, 1987; Scalabrino, 1981).

Метою роботи було дослідити гістологічні характеристики печінки за дії біологічно активних речовин різного походження у передзабійний період.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на білих щурах лінії Вістар, масою тіла 180–220 г, яких утримували у стандартних умовах віварію з необмеженим доступом до

питної води та корму. Щурам згодовували стандартний брикетований комбікорм для лабораторних тварин. Для досліджень було сформовано чотири групи: три дослідні (I, II і III) та контрольну (IV) по п'ять щурів у кожній. Як біологічно активні речовини (за п'ять днів до забою тварин) використовували екстракт селезінки (I), екстракти ехінацеї та лимоннику (II), пророщене зерно (III) — як антистресори та імуномодулятори у передзабійний період. Екстракти на 70° спиртовому розчині наносили на корм аерозольним розпиленням в об'ємі 0,6 мл/тварину. Тваринам контрольної групи (IV) таким же чином додавали до корму 70° розчин етанолу в аналогічному об'ємі. Щурам усіх груп додатково до стандартного корму давали зерно (10 г/тварину). Поїдання корму контролювали щоденно. У кінці досліду всіх тварин декапітували почергово під етерним наркозом.

Усі біоетичні норми витримано (згідно з) або відповідно до Європейською (ої) конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) принципів гуманності, викладених у директиві Європейської Спільноти (Directive..., 2010).

Для гістологічного дослідження (Merkulov, 1969) взірці тканин фіксували у 10 % нейтральному розчині формаліну. Після цього їх зневоднювали у ряді розчинів спирту з висхідними концентраціями (70°, 80°, 90°, 96°), ущільнювали у двох порціях хлороформу та заливали в парафін. На санному мікромомі виготовляли зрізи завтовшки від 5 до 15 мкм, які фарбували гематоксиліном та еозином. Світлову мікроскопію і мікрофотографування гістопрепаратів здійснювали за допомогою мікроскопа *Olympus CX 41* та фотокамери *Olympus C-5050*. Морфометрію на тканинному рівні проводили з використанням програми *DP-Soft* для мікроскопа *Olympus CX 41*.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При гістологічному дослідженні було встановлено, що у щурів I групи часточкова і радіальна балкова будова печінки чітко виражена. Гепатоцити полігональної форми з великими круглими ядрами. Хроматин в більшості ядер локалізований біля каріолеми. Мембрани клітин контуровані, границі між ними чітко видимі. Цитоплазма переважно однорідно забарвлена, базофільна. На тлі таких клітин виділялись гепатоцити з двома ядрами, в яких цитоплазма і ядра дещо базофільні (Рис. 1). Купферівські клітини у централобулярній частині більш витягнутої форми, а у перипортальних ділянках дещо заокруглені. Ступінь базофілії відображає виражений рівень синтетичних процесів у клітині.

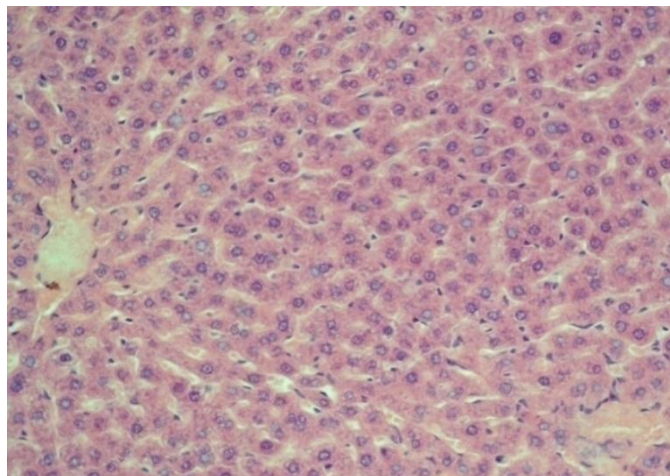


Рис. 1. Печінка щурів I групи. Гепатоцити з однорідно зафарбованою цитоплазмою формують печінкові балки. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

У щурів II групи порушень часточкової та балкової будови також не спостерігали, тоді як у щурів III групи відмічено часткове порушення балкової будови у центролобулярній ділянці часточки, зумовлене помірним мутним (набубнявінням) цитоплазми гепатоцитів. Цитоплазма більшості клітин неоднорідно забарвлена, внутрішньочасточкові капіляри дещо розширені. Печінкові клітини незначно збільшені у розмірі, із зернистою еозинофільною цитоплазмою, межі між клітинами слабо проглядаються (Рис. 2)

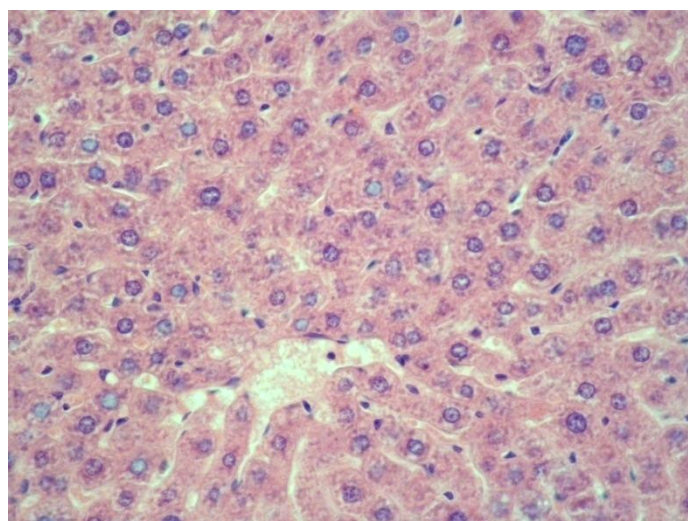


Рис. 2. Печінка щурів III групи. Зернистість цитоплазми гепатоцитів, часткове порушення балкової будови. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

У щурів IV групи (контроль), спостерігали (набування), зернисту дистрофію гепатоцитів. Серед дистрофічно змінених клітин виявляли двоядерні гепатоцити та клітини з великими ядрами (Рис. 3), що, можливо, спричинене впливом власне передзабійного стресу.

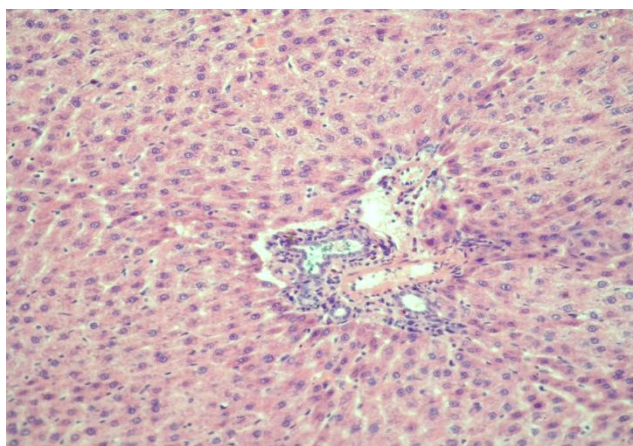


Рис. 3. Печінка щурів контрольної групи. Інфільтрація клітинних елементів навколо жовчних протоків. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10

Навколо триад спостерігали помірну кругло-клітинну інфільтрацію та збільшення кількості зірчастих клітин. Додавання щурам розчину етанолу зумовило розвиток зернистої дистрофії у центролобулярній ділянці часточки (Рис. 4).

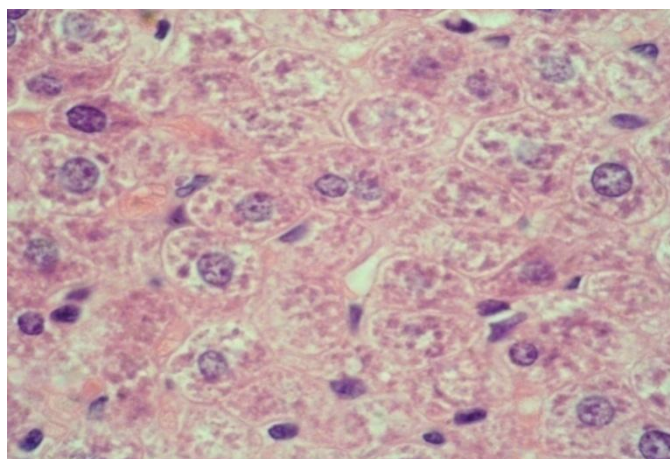


Рис. 4. Печінка щурів контрольної групи. Зерниста дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 100



ВИСНОВКИ

Найменш виражені зміни у печінці було зафіксовано у групі лабораторних тварин, яким додатково до корму вводили багатий на біологічно активні речовини екстракт селезінки, що, на нашу думку, зумовлено позитивним впливом саме поліамінів.

Результати, отримані у модельному експерименті на лабораторних тваринах в умовах віварію, можуть бути використані у дослідженнях на сільськогосподарських тваринах з метою корекції впливу стресового стану перед забоєм тварин і отримання якісної продукції.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ РОЗВІДОК

Дослідження показників клітинного імунітету у крові домашніх тварин при використанні імуномодуляторів тваринного походження за умов передзабійного стресу.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Distinct endoplasmic reticulum stress responses are triggered during human liver transplantation / A. Emadali, D. T. Nguyen, C. Rochon [et al.] // J. Pathol. — 2005. — V. 207. — P. 111–118.
- Metformin regulates palmitate-induced apoptosis and ER stress response in HepG2 liver cells / D. S. Kim, S. K. Jeong, H. R. Kim [et al.] // Immunopharmacol Immunotoxicol. — 2010. — V. 32. — P. 251–257.
- Endoplasmic reticulum stress involved in heart and liver injury in iron-loaded rats / L. X. Lou, B. Geng, Y. Chen [et al.] // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. — 2009. — V. 36. — P. 612–618.
- Malhi H. Endoplasmic reticulum stress in liver disease / H. Malhi, R. J. Kaufman // Journal of hepatology. — 2011. — V. 54. — № 4. — P. 795–809.
- UPR pathways combine to prevent hepatic steatosis caused by ER stress-mediated suppression of transcriptional master regulators / D. T. Rutkowski, J. Wu, S. H. Back [et al.] // Dev. Cell. — 2008. — V. 15. — P. 829–840.
- GRP78 expression inhibits insulin and ER stress-induced SREBP-1c activation and reduces hepatic steatosis in mice / H. L. Kammoun, H. Chabanon, I. Hainault [et al.] // J. Clin. Invest. — 2009. — V. 119. — P. 1201–1215.
- Lee A. H. Regulation of hepatic lipogenesis by the transcription factor XBP1 / A. H. Lee, E. F. Scapa, D. E. Cohen L. H. Glimcher // Science. — 2008. — V. 320. — P. 1492–1496.
- Грабовский С. С. Влияние биологически активных веществ разного происхождения на лабораторных животных в стрессовом состоянии / С. С. Грабовский // Сборник научных трудов SWorld. — 2013, Иваново : МАРКОВА АД. — Том 44. — Выпуск 3. — С. 13–15.

- Грабовський, С. С. Вплив імуномодуляторів природного походження на показники клітинного імунітету і рівень кортизолу в крові щурів за умов стресу / С. С. Грабовський // Біологічні Студії. — 2014. — Том 8. — № 1. — С. 93–102.
- Грабовський С. С. Вміст поліамінів та їх корекція у крові та тканинах курчат-бройлерів за умов стресу / С. С. Грабовський // Біологія тварин. — 2014. — Том 16. — № 2. — С. 18–25.
- Грабовський, С. С. Морфометрична характеристика підшлункової залози щурів за умов передзабійного стресу при використанні біологічно активних речовин / С. С. Грабовський // Біологія тварин. — 2014. — Том 16. — № 4. — С. 15–21.
- Бердинских П. К. Полиамины и опухолевый рост / П. К. Бердинских, С. П. Залеток. — К. : Наукова думка, 1987. — 140 с.
- Scalabrino G. Polyamines in mammalian tumors / G. Scalabrino, M. E. Ferioli // *Advances in Cancer Research*. — New York : Raven Press, 1981. — Vol. 35. — P. 151–268.
- Jung Y. S, Kim S. J., Kwondo Y., Kim Y. C. Metabolomic analysis of sulfur-containing substances and polyamines in regenerating rat liver // *Amino Acids*. — 2012. — 42. — 6. — P. 2095–102. doi: 10.1007/s00726-011-0946-7.
- Koponen, T., Cerrada-Gimenez, M., Pirinen, E. [et al.]. (2012). The activation of hepatic and muscle polyamine catabolism improves glucose homeostasis. *Amino acids*. 42 (2–3), 427–440. doi: 10.1007/s00726-011-1013-0.
- Polyamine and Methionine Adenosyltransferase 2A Crosstalk in Human Colon and Liver Cancer / M. L. Tomasi, M. Ryoo, A. Skay [et al.] // *Exp. Cell Res.* — 2013. — V. 319. — № 12. — P. 1902–11. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.04.005.
- Official Journal of the European Union L276/33. DIRECTIVE 2010/63/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. 86/609/EC. 20.10.2010.
- Меркулов Г. А. Курс патологической техники. — Ленинград : Медицина. — 1969. — 423 с.

REFERENCES

- Emadali, A., Nguyen, D.T., Rochon, C. Tzimas, G.N., Metrakos, P.P., Chevet, E. (2005). Distinct endoplasmic reticulum stress responses are triggered during human liver transplantation. *J. Pathol.* 207, 111–118.



- Kim, D.S., Jeong, S.K., Kim, H.R., Kim, D.S., Chae, S.W., Chae, N.J. (2010). Metformin regulates palmitate-induced apoptosis and ER stress response in HepG2 liver cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 32, 251–257.
- Lou, L.X., Geng, B., Chen, Y., Yu, F., Zhao, J., Tang, C.S. (2009). Endoplasmic reticulum stress involved in heart and liver injury in iron-loaded rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 36, 612–618.
- Malhi, H., Kaufman, R.J. (2011). Endoplasmic reticulum stress in liver disease. *Journal of hepatology.* 54 (4), 795–809.
- Rutkowski, D.T., Wu, J., Back, S.H., Callaghan, M.U., Ferris, S.P., Iqbal, J., Clark, R., Miao, H., Hassler, J.R., Fornek, J., Katze, M.G., Hussain, M.M., Song, B., Swathirajan, J., Wang, J., Yau, G.D., Kaufman, R.J. (2008). UPR pathways combine to prevent hepatic steatosis caused by ER stressmediated suppression of transcriptional master regulators. *Dev. Cell.* 15, 829–840.
- Kammoun, H.L., Chabanon, H., Hainault, I., Luquet, S., Magnan, Ch., Koike, T., Ferré, P., Foulle, F. (2009). GRP78 expression inhibits insulin and ER stress-induced SREBP-1c activation and reduces hepatic steatosis in mice. *J. Clin. Invest.* 119, 1201–1215.
- Lee, A.H., Scapa, E.F., Cohen, D.E., Glimcher, L.H. (2008). Regulation of hepatic lipogenesis by the transcription factor XBP1. *Science.* 320, 1492–1496.
- Graboskyi, S.S. (2013). Influence of BAS of various origin on laboratory animals at stress condition. *SWorld.* 44 (3), 13–15.

- Grabovskyi, S.S. (2014a). Effect of natural immunomodulators influence on cellular immunity indices and cortisol level in rat's blood at pre-slaughter stress. *Studia Biologica*. 8 (1), 93–102.
- Grabovskyi, S.S. (2014b). Natural origin immunomodulators influence on cellular immunity indices in rabbits blood under stress. *The Animal Biology*. 16 (2), 18–25.
- Grabovskyi, S.S. (2014c). Morphometric characteristic of rats pancreas at pre-slaughter stress under using of biologically active substances. *The Animal Biology*. 16 (4), 15–21.
- Berdinskih, P. K., Zaletok, S. P. (1987). Polyamines and tumour growth. K. : Naukova, dumka, 140 p.
- Scalabrino, G., Ferioli, M. E. (1981). Polyamines in mammalian tumors. *Advances in Cancer Research*. New York : Raven Press. 35, 151–268.
- Jung, Y. S, Kim, S. J., Kwondo, Y., Kim, Y. C. (2012). Metabolomic analysis of sulfur-containing substances and polyamines in regenerating rat liver. *Amino Acids*. 42(6), 2095-2102. doi: 10.1007/s00726-011-0946-7.
- Koponen, T., Cerrada-Gimenez, M., Pirinen, E., Hohtola, E., Paananen, J., Vuohelainen, S., Tusa, M., Pirnes-Karhu, S., Heikkinen, S., Virkamäki, A., Uimari, A., Alhonen, L., Laakso, M. (2012). The activation of hepatic and muscle polyamine catabolism improves glucose homeostasis. *Amino Acids*. 42 (2–3), 427-440. doi: 10.1007/s00726-011-1013-0.



Tomasi, M.L., Ryoo, M., Skay, A., Tomasi, I., Giordano, P., Mato, J.M., Lu, S.C.

(2013). Polyamine and Methionine Adenosyltransferase 2A Crosstalk in Human Colon and Liver Cancer. *Exp. Cell Res.* 319 (12), 1902-1911. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.04.005.

Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union L276/33. 86/609/EC. 20.10.2010.

Merkulov, G.A. (1969). Pathology Technique Course. Leningrad: Medicine.

Поступила в редакцію 17.02.2015

Как цитировать:

Грабовський, С.С., Грабовська, О.С. (2015). Морфометрична характеристика печінки щурів за умов передзабійного стресу та використання біологічно активних речовин. *Биологический вестник Мелитопольского государственного педагогического университета имени Богдана Хмельницкого*, 5 (1), 94-104.

crossref <http://dx.doi.org/10.7905/bbmsspu.v5i1.965>

© Грабовський. Грабовська, 2015

Users are permitted to copy, use, distribute, transmit, and display the work publicly and to make and distribute derivative works, in any digital medium for any responsible purpose, subject to proper attribution of authorship.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 3.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/).