УДК 616.36 – 018 – 092.9 : 616.014.4 : 612.015.

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ГЕПАТОЦИТІВ МОЛОДИХ ЩУРІВ ПРИ ГІПЕРГІДРАТАЦІЙНИХ ПОРУШЕННЯХ ВОДНО-СОЛЬОВОГО ОБМІНУ ОРГАНІЗМУ

І.В. Болотна, *старший викладач*
Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми

Изучены морфологические особенности изменений гепатоцитов молодых крыс по действию общей гипергидратации организма легкой, средней и тяжелой степеней. Были использованны методики органо- и морфометрии, а также исследованы гистологические препараты печени. В зависимости от степени гипергидрии были выявленны изменения в паренхиматозных клетках печени и в строме органа.

Ключевые слова: водно-солевой обмен, отеки, гипергидратация, гипогидрия, макроэлементы, микроэлементы.

Вивчено морфологічні особливості змін гепатоцитів молодих щурів за дії загальної гіпергідратації організму легкого, середнього та важкого ступенів. Були використані методики органо- та морфометрії, а також дослідженню підлягали гістологічні препарати печінки. Залежно від ступеня гіпергідратації виявлені зміни в паренхиматозних клітинах печінки і в стромі органа.

Ключові слова: водно-сольовий обмін, набряки, гіпергідратація, гіпогідрія, макроелементи, мікроелементи.

ВСТУП

У вітчизняних та закордонних медико-біологічних дослідженнях значну увагу приділяють вивченню впливу шкідливих чинників навколишнього середовища на організм людини, а також порушенню водно-сольового обміну в умовах сучасної несприятливої екології. Печінка займає центральне місце в регуляції та інтеграції міжорганного обміну речовин і є "центральною біохімічною лабораторією організму". Саме печінка зазнає найбільшої агресії з боку екологічних чинників і, як наслідок, виникає розлад водно-електролітного балансу [1, 2]. В умовах дії різних шкідливих факторів організм здатний мобілізувати всі внутрішні резерви для збереження гомеостазу, але через деякий час настає зрив адаптації [3, 4, 5]. Таке унікальне значення печінки у регуляції біохімічного гомеостазу цілісного організму зумовлене насамперед її анатомо-фізіологічним розміщенням між кров'ю системи ворітної печінкової вени та загальним колом кровообігу. Завдяки наявності у гепатоцитах складних ферментних систем біотрансформації для знешкодження токсичних сполук, печінка відіграє біологічно важливу бар'єрну функцію, оберігаючи інші органи і тканини від несприятливої дії токсичних речовин. Продукти біотрансформації токсинів у печінці є у більшості своїй гідрофільними речовинами, що можуть виводитися з організму різними системами екскреції [6, 7, 8]. У сучасній літературі достатньо широко висвітлені особливості, характер та механізм взаємодії різних забруднювачів виробничого і навколишнього

середовища за одномоментного та послідовного їх надходження в організм і вплив цих речовин на печінку. Однак майже відсутні відомості про вплив на печінку гіпергідратаційних порушень водно-сольового обміну організму.

В Україні і світі останніми роками збільшилася кількість людей, які страждають хворобами, що спричинюють затримку води в організмі і супроводжуються набряками (різні форми серцевої та ниркової недостатності, захворювання ендокринних залоз – первинний альдостеронізм, гіперсекреція АДГ тощо, гестози другої половини вагітності) [9]. Тому дослідження перетворень у печінці під впливом загальної гіпергідратації організму є актуальною науковою проблемою.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Вивчити особливості морфологічних змін у гепатоцитах молодих щурів в умовах гіпергідратаційних порушень водно-сольового обміну організму легкого, середнього та тяжкого ступенів.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

З метою вивчення морфологічних змін гепатоцитів у печінці молодих щурів за дії гіпергідратації легкого, середнього та тяжкого ступенів проведено дослідження на 24 щурах-самцях 4 місячного віку масою 150-200 г, що перебували у стаціонарних умовах віварію. Усі експерименти на тваринах проводилися з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), а також згідно з "Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных".

Піддослідні тварини були поділені на 4 групи: I група (6 щурів) – інтактні, які перебували у звичайних умовах віварію та не піддавалися впливу зовнішніх чинників; II група (6 щурів) – експериментальні, які отримували вплив гіпергідратації легкого ступеня; III група (6 щурів) – отримували вплив гіпергідратації середнього ступеня; IV група (6 щурів) – мала вплив гіпергідратації тяжкого ступеня.

В експерименті легкий ступінь гіпоосмолярної гіпергідратації у молодих щурів досягався зондовим введенням 10 мл дистильованої води 3 рази на добу протягом 5 днів, середній ступінь – протягом 10 днів, а тяжкий ступінь – протягом 15 днів. Для їжі тварин використовували виварені знесолені харчі для зменшення надходження солей в організм. Усім тваринам експериментальних серій для запобігання фізіологічній підтримці водного гомеостазу та досягнення необхідного ступеня гіпергідратації вводили синтетичний аналог АДГ (вазопресину) – мінірин ("Феррінг фармасьютікалз", Нідерланди) [10]. Мінірин вводився щурам у шлунок через зонд разом з дистильованою водою 2 рази на добу дозою 0,01 мг протягом всього терміну експерименту. Для того щоб дослідити, який саме ступінь гіпергідратаціїї отриманий щурами кожної групи, проводили пробу за Берхіним-Івановим для визначення загальної води організму. Підвищення антипірину в крові до 5% визначає легкий ступінь гіпергідратації, від 5% до 8% – середній, а підвищення від 8% до 15% і більше свідчить про тяжкий ступінь гіпергідратації.

Піддослідні тварини виводилися з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом на наступну добу після останнього насичення водою. На дослідження забиралася печінка. Попередньо проводилося зважування кожного щура.

Для вивчення змін в печінці були використані такі методики:

1 Визначення відносної маси печінки. Після зважування печінки вираховувалася відносна маса органа на 100 г маси тіла за формулою

$$M_{ВІДН} = \frac{M_П \times 100}{M_Т},$$

де $M_{ВІДН}$ – відносна маса печінки;

$M_П$ – маса печінки даного щура;

$M_Т$ – маса тіла даного щура.

2 Лінійні розміри печінки (найбільша довжина, ширина і товщина) визначали за допомогою штангенциркуля з точністю до 0,1 мм.

3 Гістологічне дослідження. Печінку фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, промивали проточною водою, дегідратували у спиртах зростаючої концентрації та занурювали у парафін. На санному мікротомі виготовляли зрізи товщиною 5-7 мкм і забарвлювали гематоксилін-еозином.

4 Морфометрію гістопрепаратів печінки проводили за допомогою світлового мікроскопа "Олімпус" з цифровою відеокамерою та пакетом прикладних програм "Видео тест 5.0" та "Видео размер 5.0". Зображення зберігали на вінчестері з подальшим друком ілюстрацій.

Програма органо- та морфометрії передбачає визначення відносної маси печінки (%), довжини, ширини і товщини печінки (мм), кількості гепатоцитів на 100 п.з. об'єму ушкоджених гепатоцитів (%), ядерно-цитоплазматичного відношення (у. о.), кількості двоядерних гепатоцитів (%).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На гістопрепаратах печінки інтактних щурів чітко визначені печінкові часточки, які мають багатокутну форму і оточені невеликою кількістю сполучної тканини. У цих прошарках сполучної тканини проходять так звані портальні тракти – судини, нерви і жовчні протоки (або тріади печінки – міжчасточкові гілки печінкової ворітної вени і печінкової артерії та міжчасточкова жовчна протока).

Кровоносна система печінки тісно пов'язана з її будовою. Особливістю кровопостачання печінки є те, що вона отримує кров з двох судин, які входять у її ворота – це власна печінкова артерія і печінкова ворітна вена, яка несе насичену токсинами кров від усіх непарних органів черевної порожнини. З цим фактом пов'язана дезінтоксикаційна функція печінки. У щурів, як і у людей (і у більшості лабораторних тварин з кількома частками печінки), печінкова артерія і портальна вена розгалужуються згідно з поділом її на частки і далі – на сегментарні і субсегментарні гілки. При послідовному розгалуженні ці судини мають 5-7 порядків розгалуження, утворюючи при цьому сітку анастомозуючих синусоїдів, термінальних печінкових і білячасточкових венул. Печінкові артеріоли і гілки печінкової ворітної вени проходять уздовж пограничної пластинки і дають гілки до навкололобулярного капілярного сплетення і периферичних відділів синусоїдів.

Печінкові часточки щурів побудовані з печінкових пластинок (балок) та синусоїдних гемокапілярів. Вони йдуть у радіальному напрямку – від периферії часточки до центру, де міститься центральна вена. Таким чином, у часточках печінки щура можна виділити 3 зони: центральну, проміжну і периферійну. Цитоплазма гепатоцитів центральної і периферійної зон більш інтенсивно забарвлюється еозином. Стінка синусоїдних капілярів вистелена ендотеліальними клітинами, між якими знаходяться численні макрофаги – клітини Купфера.

Проведені спостереження за загальним станом молодих щурів, що піддавалися гіпергідратації легкого ступеня, відхилень від норми в їх поведінці не виявили. Тварини, які піддавалися впливу середнього і

тяжкого ступенів гіпергідратації, були заторможені, і у них навіть спостерігалася підвищена сонливість.

При дослідженні печінки молодих щурів, що піддавалися гіпергідратації легкого ступеня, виявлені суттєві зміни у цьому органі. Так, відносна маса печінки збільшилася на 25,1%, довжина, ширина і товщина збільшилися відповідно на 4,9%, 2,9% та 1,5% порівняно з контрольною групою тварин. Ядерно-цитоплазматичне відношення більше на 12,3%, ніж у інтактних тварин, а відсоток двоядерних гепатоцитів майже не змінився порівняно з контрольною групою тварин (18,50% та 17,81% відповідно). Кількість гепатоцитів на 100 полів зору збільшено на 7,7%, а об'єм ушкоджених гепатоцитів становив 35,24%. У групі інтактних тварин ушкоджені гепатоцити не спостерігалися. Капсула печінки потовщена. Мають місце повнокров'я судин, розширення синусоїдів, стази і перестази. Спостерігається тенденція до розростання сполучної тканини у портальних трактах, а навколо деяких судин з'явилися дрібні інфільтрати. Структура печінкових часточок не порушена. Гепатоцити мають чіткі контури і звичайні розміри.

Таким чином, вплив легкого ступеня гіпергідратації на печінку молодих щурів спричиняє дистрофічні процеси у печінкових клітинах, а також викликає посилення захисно-компенсаторних реакцій у відповідь на подразнення збільшеною кількістю води. Такі небезпечні зміни у печінці молодих тварин пояснюються високою гормональною активністю молодого організму.

Середній ступінь гіпергідратації організму викликає зростання дистрофічних змін у печінці молодих щурів і подальший розвиток деструктивних процесів. Так, відносна маса печінки збільшена на 33,2%, а відносний об'єм ушкоджених гепатоцитів становить 42,46 %. Зросла кількість двоядерних гепатоцитів на 26,5%, а ядерно-цитоплазматичне відношення майже на рівні контрольної групи – 17,45 у.о. (16,81 у.о. у інтактних тварин). Кількість гепатоцитів на 100 п.з. збільшено на 15,7% порівняно з контрольною групою. Це свідчить про збереження проліферативних властивостей печінки. Спостерігаються зміни з боку капсули печінки – вона більш потовщена, ніж у тварин попередньої групи. Строма печінки дещо набрякла. Перипортальна сполучна тканина інфільтрована. Подекуди відмічається набряк стінок судин з їх інфільтрацією та облітерацією судин. Судини із системи печінкових вен розширені, містять клітинні елементи крові. Спостерігається помірно виражена дискомплексація печінкових пластин. Загальний малюнок трабекул збережений. Поруч з нормальними гепатоцитами трапляються гепатоцити з ознаками зернистої та жирової дистрофії. Найбільша кількість нормальних гепатоцитів розміщена у перипортальній зоні, а у центральній зоні часточок скопичені патологічно змінені гепатоцити. Вони дрібніші, їх цитоплазма втрачає базофільність, вакуолізована, має дрібні ліпідні включення. Ядра дуже варіабельні – від дрібних за розмірами до великих, серед яких спостерігаються темні і пікнотичні, але трапляються і без'ядерні клітини.

Таким чином, у молодих тварин, які отримували дію гіпергідратації середнього ступеня, відбулися дистрофічні і некробіотичні процеси переважно локального характеру, а також спостерігається посилення захисно-компенсаторних реакцій організму у відповідь на подразнення гіпергідратацією паренхіми печінки.

Тяжкий ступінь гіпергідратації організму викликає ще більш помітні дистрофічні зміни у печінці молодих щурів і подальший розвиток деструктивних процесів. Так, відносна маса печінки збільшилася на 39,4%, довжина, ширина і товщина збільшилися відповідно на 5,8%, 3,9%, 2,3% порівняно з контрольною групою тварин. Ядерно-цитоплазматичне відношення знижене порівняно з контролем на 19,3%,

а кількість двоядерних гепатоцитів – на 41,6%. Кількість гепатоцитів на 100 полів зору зменшена на 19,2 %. Відносний об'єм ушкоджених гепатоцитів становить 51,6%

При дослідженні гістоструктури печінки домінуючим явищем були зерниста та жирова дистрофія, некрози з локалізацією у центральній частині часточок. Контури гепатоцитів нечіткі, а радіальне розміщення печінкових пластинок і міжчасточкові межі не спостерігаються. Цитоплазма багатьох гепатоцитів спустошена. Дегенеративно-деструктивні явища, вакуольна та зерниста дистрофія особливо виражені в субкапсулярній зоні. Спостерігається набряк строми портальних трактів, вогнища периваскулярних інфільтратів. Судини розширені, містять клітинні елементи крові. Ендотеліоцити судинних стінок набряклі. Жовчні протоки розширені. Цитоплазма гепатоцитів зерниста з явищами перинуклеарного набряку. Деякі ядра у стані каріопікнозу. Виявлені різко розширені синусоїдні капіляри. Зірчасті макрофаги набряклі, деякі з них злущені у просвіт капіляра.

Таким чином, навантаження тварин водою, що відповідає гіпергідратації тяжкого ступеня, призводить до глибоких дистрофічних і деструктивних процесів у печінці щурів на органному і клітинному рівнях.

ВИСНОВКИ

На експериментальному матеріалі розкриті закономірності морфологічних змін гепатоцитів у молодих щурів в умовах гіпергідратації легкого, середнього та тяжкого ступенів.

1 За дії гіпергідратації на організм молодих щурів виникають зміни як у паренхіматозних клітинах (гепатоцитах), так і в стромі органа.

2 Морфологічні перетворення гепатоцитів при гіпергідратації легкого ступеня характеризуються дистрофічними змінами, інфільтрацією міжчасточкових просторів, а також дисциркуляторними розладами.

3 Морфологічні зміни гепатоцитів при гіпергідратації середнього ступеня характеризуються дистрофічними і некробіотичними процесами локального характеру.

4 При гіпергідратації тяжкого ступеня морфологічні зміни паренхіми печінки характеризуються глибокими дистрофічними і деструктивними процесами.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Отримані експериментальні дані можуть бути використані для розроблення шляхів корекції виявлених змін.

SUMMARY

THE STRUCTURAL CHANGES OF HEPATOCYTES IN THE YOUNG RATS BY HYPERHYDRATIONAL DISORDERS OF WATER – SALT METABOLISM OF THE ORGANISM

Bolotna I.V.
Sumy State University, Medical Institute

On the basis of the experimental materials the conformities of the morphological changes of hepatocytes in the young rats were discovered in the conditions of easy, medium and severe degrees of hyperhydration.

Keywords: water-salt metabolism, hypostasis, hyperhydration, hypohydration, macrocell, trace elements/

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Пентюк А.А. Поражение печени ксенобиотиками / А.А. Пентюк, Л.В. Мороз, О.В. Паламарчук // Современные проблемы токсикологии. – 2001. - №2. – С. 8-16.
2. Zoccali C. Arterial pressure components and cardiovascular risk in end-stage renal disease / C. Zoccali // Nephrol Dial Transplant. – 2003. - V. 18. – P. 249-252.

3. Игнатьева Л.П. Гигиеническая оценка канцерогенного и неканцерогенного риска опасности перорального воздействия химических веществ, содержащихся в питьевой воде / Л.П. Игнатьева, И.Г. Погорелова, М.О. Потапова // Гигиена и санитария. – 2006. - №4. – С. 30-32.
4. Ткачишин В.С. Профессиональные токсические гепатиты / В.С. Ткачишин // Сучасна гастроентерологія. – 2003. - №4. – С. 4-7.
5. Kjeken R. Fluid phase endocytosis of iodixanol in rat liver parenchymal, endothelial and Kupffer cells / R. Kjeken, S.A. Mousavi, A. Brech // Cell Tissue Res. – 2001. – Vol. 304. – P. 221-230.
6. Березов Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М.: Медицина, 2004. – 704 с.
7. Губський Ю.І. Біологічна хімія / Ю.І. Губський. – Київ; Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 384 с.
8. Wake K. Sinusoidal ultrastructure evaluated during the revascularisation of regenerating rat liver / K. Wack, M. Ross, V. Legarra // Hepatology. – 2001. – Vol. 33. – P. 363-378.
9. Голубчиков М.В. Статистичний огляд захворюваності населення України на хвороби органів травлення / М.В. Голубчиков // Сучасна гастроентерологія та гематологія. – 2000. - №1. – С.17-20.
10. Дзеранова Л. Минирин в лечении водно-электролитных нарушений / Л. Дзеранова // Врач. – 2003. - №6. – С. 47-51.

Надійшла до редакції 1квітня 2009 р.