

УДК 616.36-091.8-099:547.587.1]-092.9
DOI: 10.24061/1727-0847.17.3.2018.1

М.П. Кланца, І.Є. Герасимюк

Кафедра анатомії людини (зав. – проф. І.Є. Герасимюк) ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ПЕРЕБУДОВИ ГЕПАТОЦИТІВ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ТА ЇХ КІЛЬКІСНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИ ХРОНІЧНОМУ ОТРУЄННІ АЦЕТИЛСАЛІЦИЛОВОЮ КИСЛОТОЮ

Резюме. За результатами проведеного дослідження встановлено, що хронічне отруєння ацетилсаліциловою кислотою призводить до виражених розладів органного кровообігу у печінці у вигляді застійного венозного як порталного, так і кавального повнокров'я з рефлекторним зниженням пропускної здатності артеріального відділу кровоносного русла. Тривалий венозний застій і рефлекторна вазоконстрикція артерій ведуть до ішемії тканини печінки з розвитком та прогресуванням дистрофічних змін гепатоцитів. Із збільшенням тривалості спостереження виникає розширення ділянок клітин із ознаками зернистої дистрофії, які переходять у поля з дисконплектацією печінкових балок, порушенням міжклітинних меж, гомогенізацією цитоплазми і деструкцією ядер гепатоцитів. Кількісно це проявлялося збільшенням площі перерізу гепатоцитів і їх ядер з відповідною динамікою ядерно-цитоплазматичних співвідношень.

Ключові слова: ацетилсаліцилова кислота; отруєння; повнокров'я; гепатоцити, дистрофія.

За останні роки помітно збільшилася частота токсичних уражень печінки, які в структурі її гострих та хронічних захворювань становлять від 0,7 до 20%. [1-3]. При цьому, частим буває явище медикаментозної інтоксикації, що розвивається внаслідок прийому великих доз препаратів. Зокрема, це стосується отруєння ацетилсаліциловою кислотою, яке ще відоме як саліцилізм і нерідко призводить до захворюваності і смертності [4-7].

Із джерел наукової літератури також відомо, що великі дози ацетилсаліцилової кислоти можуть призводити до некрозу гепатоцитів, розвитку печінкової недостатності з наступною ендогенною інтоксикацією, печінковою комою та смертю [8].

Мета дослідження: встановити особливості структурних змін у печінці при хронічному отруєнні ацетилсаліциловою кислотою і дати їм кількісну характеристику.

Матеріал і методи. Експерименти проведено на 42 білих лабораторних статевозрілих щурах-самцях з масою тіла 160-180 г і віком 2,5-3 місяці. З них 12 тварин становили контрольну групу, ін-

шим 30 щурів щоденно дошлунково вводили ацетилсаліциловою кислотою з розрахунку 150 мг на 1 кг маси тіла для моделювання хронічної інтоксикації [8, 9]. Забій тварин проводили через 1, 3, 7, 14 і 28 діб від початку експерименту шляхом швидкої декапітації під кетаміновим знечуденням. Всі експериментальні дослідження виконані відповідно принципів біоетики, що викладені у Гельсінській Декларації та Законі України “Про захист тварин від жорстокого поводження” (№ 1759-VI від 15.12.2009).

Матеріал для гістологічного дослідження (шматочки печінки) після забору фіксували у 10% нейтральному формаліні. Гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином та за Ван Гізон.

Морфометрію здійснювали з використанням окуляр-мікрометра МОВ-1-15х, при цьому вимірювання проводили у п'яти полях зору на кожному гістологічному зрізі. Морфометричні дослідження включали визначення: площі ядер і цитоплазми гепатоцитів (мкм²).

Площу ядер гепатоцитів обчислювали за фор-

© Кланца М.П., Герасимюк І.Є., 2018

мулою площі круга:

$$S = \pi r^2 \quad (1)$$

де:

S – площа круга,

r – радіус круга

Площу самих гепатоцитів за формулою площі еліпса:

$$S = \pi \times a \times b \quad (2)$$

де:

S – площа еліпса,

a – довжина великої піввісі еліпса,

b – довжина малої піввісі еліпса.

Площу перерізу цитоплазми гепатоцита визначали за формулою:

$$S_{\text{ц}} = S_{\text{г}} - S_{\text{я}} \quad (3)$$

де:

$S_{\text{ц}}$ – площа перерізу цитоплазми гепатоцита,

$S_{\text{г}}$ – площа перерізу гепатоцита в цілому,

$S_{\text{я}}$ – площа перерізу їх ядер.

Визначали також ядерно-цитоплазматичні співвідношення в % [10, 11].

Отриманий за проведенням досліджень цифровий матеріал піддавали статистичній обробці за допомогою Microsoft Excel for Windows 98 із визначенням середніх величин та їх стандартних похибок. Достовірність оцінювали за коефіцієнтом Стьюдента (t) при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

За результатами проведеного дослідження було встановлено, що вже через 1 добу після дошлункового введення ацетилсаліцилової кислоти у структурних компонентах печінки щурів виникали певні морфофункціональні зміни, які розвивалися на тлі відчутних розладів органного кровообігу. Гемодинамічні порушення проявлялися у вигляді помірного печінково-венозного, досить вираженого ворітно-печінкового, а також частково і артеріального повнокров'я та капіляростазів (рис. 1).

Стінки артерій виглядали потовщеними, а їх просвіт – звуженим. Ендотелій внутрішньої обо-

лонки судин нерідко випинався у їх просвіт у вигляді «частоколу». Вени обох венозних систем, особливо ворітної, виглядали розширеними, у їх При збереженні балкової структури тканини печінки в цілому, для самих гепатоцитів на даний термін спостереження характерними були явища гідропічної дистрофії із збільшення розмірів як ядер, так і самих клітин з одночасним просвітленням їх цитоплазми. Водночас площа поперечного перетину ядер набувала тенденції до збільшення на 4,4% ($P > 0,05$) порівняно з контролем, а площа поперечного перетину самих клітин достовірно збільшувалася на 13,8% ($P < 0,05$) (таблиця). Тобто, збільшення площі перетину самої клітини відбувалося інтенсивніше, ніж її ядра, що підтверджувалося достовірним збільшенням площі перерізу цитоплазми гепатоцитів (на 16,2% при $P < 0,05$) і відповідною динамікою ядерно-цитоплазматичних співвідношень (тенденція до зменшення на 11,6% при $P > 0,05$) та було наслідком посиленої гідратації цитоплазми. Причому порівняно низький рівень ядерно-цитоплазматичних співвідношень зберігався впродовж усіх термінів експерименту. просвітах виявлялися скупчення еритроцитів.

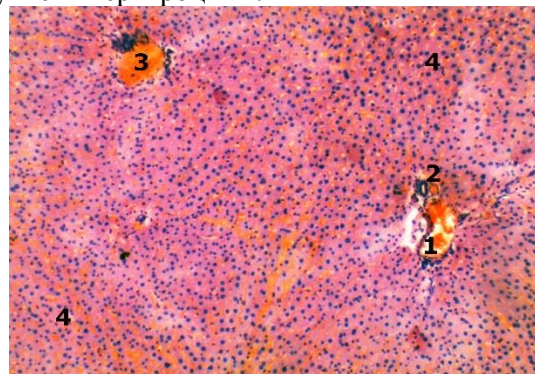


Рис. 1. Повнокровна гілка ворітної печінкової вени (1), гілка печінкової артерії і жовчна протока (2), центральна вена (3), капіляростаз (4). Гістологічний зріз печінки щура через 1 добу після дошлункового введення ацетилсаліцилової кислоти. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$

Таблиця

Морфометрична характеристика гепатоцитів щурів при хронічному отруєнні ацетилсаліциловою кислотою ($M \pm m$)

Тривалість спостереження	Площа ядер гепатоцитів (мкм ²)	Площа гепатоцитів (мкм ²)	Площа перерізу цитоплазми гепатоцитів (мкм ²)	Ядерно-цитоплазматичні співвідношення (в %)
Контроль	61,94±3,07	314,83±10,09	252,88±10,42	24,33±1,89
1 доба	64,67±2,40	358,45±9,04*	293,78±9,23*	21,50±1,43
3 доби	62,32±2,35	325,56±8,99	263,23±7,39	21,17±1,30
7 діб	65,19±2,87	351,40±9,80	286,20±9,47	20,83±0,79
14 діб	68,58±3,06	369,44±9,77*	300,86±10,05*	21,67±1,48
28 діб	74,05±3,06*	378,41±10,02*	304,36±8,50*	21,67±1,48

Примітка: * – $P < 0,05$

Через 3 доби експерименту відбувалася часткова компенсація виявлених попередньо змін з ознаками нормалізації органного кровотоку. Дещо знижувався тонус стінок артерій і артеріол, зменшувалися ознаки гіпергідратації гепатоцитів. Їх кількісні показники наближались до рівня показників, що були зареєстровані у контрольних тварин. Однак, у просвіті як артерій, так і особливо вен (портальної і кавальної систем) продовжували виявлятися різної величини скупчення еритроцитів.

Через 7 діб від початку експерименту характерним було відновлення і прогресування виявлених попередньо судинних реакцій, які полягали у повторному підвищенні тонуусу артеріол і дрібних артерій, що відмічались на тлі посилення кровонаповнення обох венозних систем. При цьому відновлювалися і наростали дистрофічні зміни у гепатоцитах. Це підтверджувалося як візуально (просвітлення цитоплазми гепатоцитів, зменшення інтенсивності забарвлення їх ядер), так і відновленням тенденції до збільшення кількісних показників при одночасному зменшенні ядерно-цитоплазматичних співвідношень. Водночас можна було відмітити збільшення кількості двоядерних гепатоцитів, що може бути ознакою одночасного посилення регенераторних процесів. Вказані зміни були більш характерними для субкапсулярних ділянок печінки (рис. 2).

Через 14 діб від початку експерименту зміни, що були виявлені у 7-добовий термін, продовжували прогресивно збільшуватися. Венозні кровеносні судинні русла продовжували залишатися розширеними і повнокровними. Внаслідок порушення венозного відтоку і застою крові у печінкових венах їх притоки набували звивистих контурів (рис. 3).

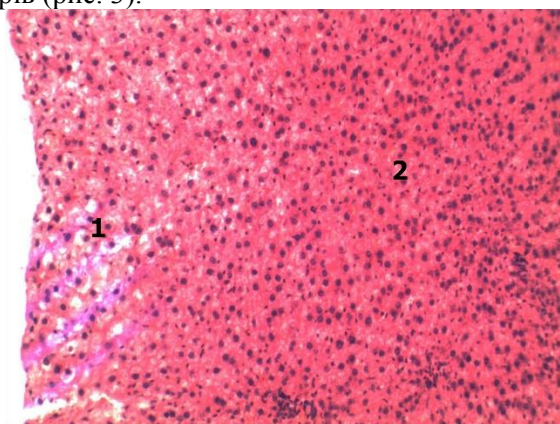


Рис. 2. Дистрофічні зміни гепатоцитів субкапсулярної ділянки (1), ділянка з відносно збереженою структурою гепатоцитів (2). Гістологічний зріз печінки щура після хронічного отруєння ацетилсаліциловою кислотою тривалістю 7 діб. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 140$

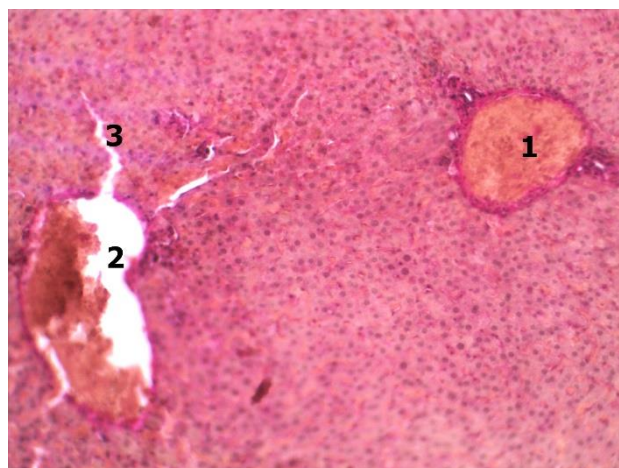


Рис. 3. Повнокровна гілка ворітної печінкової вени (1), розширений просвіт гілки печінкової вени (2), звивиста притока печінкової вени (3). Гістологічний зріз печінки щура після хронічного отруєння ацетилсаліциловою кислотою тривалістю 14 діб. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 140$

Артерії зберігали підвищений тонус своїх стінок що в поєднанні з набряком ендотелію приводило до зниження їх пропускної здатності за рахунок звуження просвіту. Унаслідок порушення гемомікроциркуляції розвивався периваскулярний і інтерстиціальний набряк.

Зміни зі сторони гепатоцитів у цей термін спостереження полягали у подальшому прогресуванні дистрофічних процесів. Причому, якщо для центральних відділів часточок була більш характерною гідропічна дистрофія з характерною вакуолізацією цитоплазми, то для периферійних – більш притаманною була зерниста дистрофія з відповідними змінами у цитоплазмі у вигляді помутніння і наявності уній зернистих вкраплень. Аналіз кількісних показників свідчив, про подальше збільшення площі гепатоцитів і їх ядер. Причому, збільшення площі гепатоцитів на 17,3% і цитоплазми на 19,0% порівняно з контролем було вже достовірним (в обох випадках $P < 0,05$) при одночасній тенденції до збільшення площі їх ядер на 10,7% ($P > 0,05$). В окремих місцях довкола портальних трактів формувалися поліморфноклітинні інфільтрати.

28-денний термін спостереження характеризувався подальшим прогресуванням ознак, які характерні для розладів органної гемодинаміки застійного характеру. Вени обох систем (портальної і кавальної) залишалися виражено повнокровними. Підвищувався тонус, збільшувалася товщина стінок і знижувалася пропускна здатність внутрішньоорганних артерій. В усіх полях зору фіксувалися виражені капіляростазис. Розширюва-

лися ділянки клітин із ознаками зернистої дистрофії, які переходили у поля з дисконплектацією печінкових балок, порушенням міжклітинних меж, гомогенізацією цитоплазми і деструкцією ядер гепатоцитів (рис. 4).

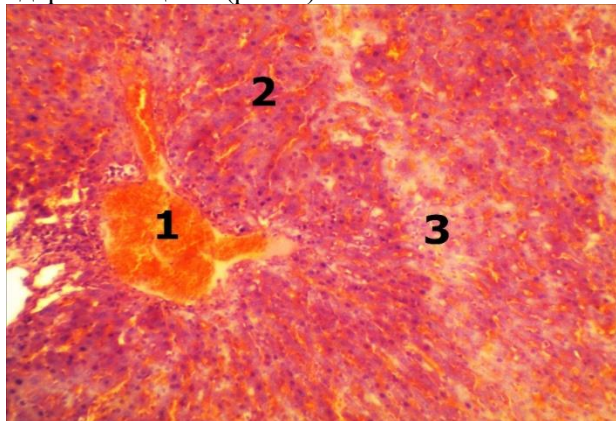


Рис. 4. Гілка печінкової вени (1), капіляростаз (2), дистрофічні зміни із просвітленням і гомогенізацією цитоплазми гепатоцитів (3). Гістологічний зріз печінки щура після хронічного отруєння ацетилсаліциловою кислотою тривалістю 28 діб. Забарвлення гематоксином і еозином. $\times 100$

Посилення набряку гепатоцитів підтверджувалося подальшим наростанням рівнів їх кількісних характеристик. Так, достовірно збільшувалася площа поперечного перерізу як самих гепатоцитів, так і їх ядер. При цьому площа гепатоцитів збільшувалася на 20,2%, їх ядер – на 19,5% і цитоплазми – на 20,3% (в усіх випадках $P < 0,05$).

Водночас, на даний термін спостереження в перипортальних ділянках і в інтерстиції виявлялися ознаки периваскулярного та інтерстиціального фіброзу, які могли бути наслідком, як ішемії,

так і результатом плазматичного просочування тканин внаслідок їх набряку у попередні терміни.

Отже, результати проведеного дослідження свідчать, що хронічне отруєння ацетилсаліциловою кислотою призводить до виражених розладів органного кровообігу у печінці, які проявляються у вигляді застійного венозного як портального, так і кавального повнокров'я з рефлекторним зниженням пропускної здатності артеріального відділу кровоносного русла органу внаслідок підвищення тону стінок і звуження просвіту гілок печінкової артерії. Тривалий венозний застій і рефлекторна вазоконстрикція веде до сповільнення органного кровотоку, ішемії тканин, що може бути причиною розвитку та прогресування функціональних і дистрофічних змін в структурних компонентах паренхіми органу як морфологічного підґрунтя печінкової недостатності.

Висновки. 1. Хронічне отруєння ацетилсаліциловою кислотою призводить до застійних розладів органної гемодинаміки печінки. 2. На венозний застій артеріальний відділ кровоносного русла печінки реагує підвищенням тону стінок артерій і зниженням їх пропускної здатності. 3. Внаслідок тривалого венозного застою і вазоконстрикції інтраорганних печінкових артерій розвивається ішемія органу, яка призводить до дистрофічних змін у структурних компонентах паренхіми.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження у цьому напрямку дозволять розробити методи корекції при хронічному отруєнні ацетилсаліциловою кислотою і дати їм морфофункціональне обґрунтування.

Список використаної літератури

1. Руина ЕА, Густов АА, Смирнов АА, Логанова АГ. Рецидивуючий синдром Рейе у взрослого мужчины – трудности диагностики (клинический случай). *Медицинский альманах*. 2016;5(45):141–5.
2. Girre C, Hispard E, Palombo S. Increased metabolism of acetaminophen in chronically alcoholic patients. *Alcoholism: Clinical & Experimental Research*. 1993;17(1):170–3.
3. Swigt R, Davidson D. Alcohol Hangover: mechanisms and mediators. *Alcohol Health & Research World*. 1998;22(1):54–6. doi: 10.4172/2329-6488.1000255.
4. Mowry JB, Spyker DA, Brooks DE. 2014 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS). *Annual Report. Clin Toxicol (Phila)*. 2015;53(10):962–1147. doi: 10.3109/15563650.2015.1102927.
5. Madan RK, Levitt JA. A review of toxicity from topical salicylic acid preparations. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(4):788–792. doi: 10.1016/j.jaad.2013.12.005.
6. Pearlman BL, Gambhir R. Salicylate intoxication: a clinical review. 2009;121(4):162–8. doi: 10.3810/pgm.2009.07.2041.
7. Mund ME, Gyo C, Brüggmann D. Acetylsalicylic acid as a potential pediatric health hazard: legislative aspects concerning accidental intoxications in the European Union. 2016;11:32. doi: [10.1186/s12995-016-0118-5].
8. Temple AR. Acute and chronic effects of aspirin toxicity and their treatment. 1981;141:364–9.

9. Chyka PA, Erdman AR, Christianson G. Salicylate poisoning: an evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management. *Clinical Toxicology Philadelphia*. 2007;45(2):95–131. doi: 10.1080/15563650600907140.
10. Семенов МА, Саенко ЮВ, Цыганова НА. Консистенция пищи как фактор постнатального морфогенеза околоушной слюнной железы белых крыс. *Фундаментальные исследования*. 2012;11:861–5.
11. Губина-Вакулик ГИ, Слинко ЮА, Соколова ИИ, Коусова НГ. Морфологические особенности поднижнечелюстной слюнной железы крыс при экспериментальной гипокинезии их матерей. *Світ медицини та біології*. 2013;2:26–8.

References

1. Ruina EA, Gustov AA, Smirnov AA, Loganova AG. Retsidiviruyuschiy sindrom Reye u vzroslogo muzhchiny – trudnosti diagnostiki (klinicheskiy sluchay) [Diagnostic difficulties of recidivous Reye's syndrome of adult man (clinical case)]. *Medetsinskiy almanah*. 2016;5(45):141-5. (in Russian).
2. Girre C, Hispard E, Palombo S, N'Guyen C, Dally S. Increased metabolism of acetaminophen in chronically alcoholic patients. *Alcohol Clin Exp Res*. 1993 Feb;17(1):170-3.
3. Swigt R, Davidson D. Alcohol hangover: mechanisms and mediators. *Alcohol Health Res World*. 1998;22(1):54-60.
4. Mowry JB, Spyker DA, Brooks DE, McMillan N, Schauben JL. 2014 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS). *Clin Toxicol (Phila)*. 2015;53(10):962-1147. doi: 10.3109/15563650.2015.1102927.
5. Madan RK, Levitt JA. A review of toxicity from topical salicylic acid preparations. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(4):788-792. doi: 10.1016/j.jaad.2013.12.005.
6. Pearlman BL, Gambhir R. Salicylate intoxication: a clinical review. *Postgrad Med*. 2009 Jul;121(4):162-8. doi: 10.3810/pgm.2009.07.2041.
7. Mund ME, Gyo C, Brüggmann D, Quarcoo D, Groneberg DA. Acetylsalicylic acid as a potential pediatric health hazard: legislative aspects concerning accidental intoxications in the European Union. *J Occup Med Toxicol*. 2016;11:32. doi: 10.1186/s12995-016-0118-5.
8. Temple AR. Acute and chronic effects of aspirin toxicity and their treatment. *Arch Intern Med*. 1981 Feb 23;141(3 Spec No):364-9.
9. Chyka PA, Erdman AR, Christianson G, Wax PM, Booze LL, Manoguerra AS, et al. Salicylate poisoning: an evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management. *Clin Toxicol (Phila)*. 2007;45(2):95-131. doi: 10.1080/15563650600907140.
10. Semenova MA, Sayenko YUV, Tsyganova NA, Kuznetsova TI, Glushchenko YES, Belozherov DA, et al. Konsistentsiya pishi kak faktor postnatalnogo morfogeneza okoloushnoy slyunnoy zhelezyi belyih kryis [Food consistence as factor of the postnatal morphogenesis of parotid salivary gland of white rats]. *Fundamental research*. 2012;11-4:861-5. (in Russian).
11. Gubina-Vakulik GI, Slinko YuA, Sokolova II, Koousova NG. Morfologicheskie osobennosti podnizhnechelyustnoy slyunnoy zhelezyikryis pri eksperimentalnoy gipokinezii ih materey [Morphofunctional peculiarities of rats' submandibular salivary gland in conditions of experimental hypokinesia in their mothers]. *World of Medicine and Biology*. 2013;2:26-8. (in Russian).

ОСОБЕННОСТИ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ ГЕПАТОЦИТОВ ПЕЧЕНИ КРЫС И ИХ КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ОТРАВЛЕНИИ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ

Резюме. По результатам проведенного исследования установлено, что хроническое отравление ацетилсалициловой кислотой приводит к выраженным расстройствам органного кровообращения в печени в виде застойного венозного как портального, так и кавального полнокровия с рефлекторным снижением пропускной способности артериального отдела кровеносного русла. Длительный венозный застой и рефлекторная вазоконстрикция артерий ведут к ишемии ткани печени с развитием и прогрессированием дистрофических изменений в гепатоцитах. С увеличением продолжительности наблюдения происходит расширение зон клеток с признаками зернистой дистрофии, которые переходят в поля с дисконтактацией печеночных балок, нарушением межклеточных границ, гомогенизацией цитоплазмы и деструкцией ядер гепатоцитов. Количественно это проявлялось увеличением площади сечения гепатоцитов и их ядер с соответствующей динамикой ядерно-цитоплазматических соотношений.

Ключевые слова: ацетилсалициловая кислота; отравление; полнокровие; гепатоциты; дистрофия.

FEATURES OF MORPHOFUNCTIONAL REMODELLING OF RAT HEPATOCYTES AND THEIR QUANTITATIVE CHARACTERISTICS AGAINST THE GROUND OF CHRONIC ACETYLSALICYLIC ACID POISONING

Abstract. According to the results of the study, it has been established that chronic acetylsalicylic acid poisoning results in severe liver disorders presented by both venous and portal blood overloaded with a reflex throughout decrease of the arterial part of the bloodstream. Prolonged venous stasis and reflex vasoconstriction of arteries lead to ischemia of the liver tissue with the development and progression of dystrophic changes in hepatocytes. With an increase in the duration of observation, there is an expansion of cell zones with signs of granular dystrophy, which pass into fields with dystrophy of hepatic cells, damage of intercellular boundaries, homogenization of cytoplasm and degradation of nuclei of hepatocytes. It was manifested quantitatively by an increase in the cross-section of hepatocytes and their nuclei with an appropriate dynamics of nuclear-cytoplasmic relations.

Key words: acetylsalicylic acid; poisoning; hypertrophy; hepatocytes; dystrophy.

Відомості про авторів:

Кланца Микола Павлович – аспірант кафедри анатомії людини ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського»;

Герасимюк Ілья Євгенович – професор, завідувач кафедри анатомії людини ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського».

Information about the authors:

Klantsa Mykola P. – postgraduate student of the Human anatomy Department, the State Institution of Higher Education «Ivan Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine»;

Herasymiuk Ilya Ye. – Professor, Head of the Human Anatomy Department, the State Institution of Higher Education «Ivan Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine».

Надійшла 16.05.2018 р.

Рецензент – проф. Попадинець О.Г. (Чернівці)