

© Сікора В.З., Болотна І.В., Сікора В.В., 2009

УДК 616.36 - 018 - 092.9:616.014.4:612.015

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ПРИ ГІПЕРГІДРАТАЦІЙНИХ ПОРУШЕННЯХ ВОДНО-СОЛЬОВОГО ОБМІНУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

В.З.Сікора, І.В.Болотна, В.В.Сікора

Кафедра анатомії людини та оперативної хірургії і топографічної анатомії (зав. – проф. В.З.Сікора) медичного інституту Сумського державного університету

Резюме. У статті викладені ультраструктурні зміни печінкових клітин молодих щурів при дії загальної гіпергідратації організму різного ступеня тяжкості. Гіпергідратація легкого ступеня викликає дистрофічні процеси в клітинах печінки і посилює захисно-компенсаторні реакції, а гіпергідратація тяжкого ступеня – глибокі деструктивні процеси на субклітинному рівні.

Ключові слова: гепатоцити, дистрофія, деструкція, гіпергідратація.

Останніми роками збільшується частота захворювань, які супроводжуються затримкою води в організмі з дисбалансом водно-сольового обміну [1, 2]. Проблема регуляції водно-сольового обміну потребує подальшого вивчення, особливо в сучасних несприятливих умовах зовнішнього середовища [3, 4]. В науковій літературі відсутні відомості про вплив гіпергідратації на печінку (Пч), яка є не тільки детоксикаційним центром, а й здійснює регуляцію основних етапів обміну речовин, підтримуючи гомеостаз організму [5].

Мета дослідження. Визначити ультраструктурні зміни Пч молодих щурів при гіпергідратаційних порушеннях водно-сольового обміну.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 40 білих безпородних щурах-самцях 4-місячного віку масою 90-120 г, які перебували в стаціонарних умовах віварію. Досліди проводили згідно з "Правилами проведення робіт з використанням експери-

ментальних тварин" [6] та дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986). Тварини поділені на 4 групи: I група (10 щурів) – інтактні, які перебували в умовах віварію на звичайному питному раціоні; II (10) – експериментальні, які піддавалися впливу гіпергідратації легкого ступеня; III (10) – середнього ступеня; IV (10) – тяжкого ступеня. Насичення тварин водою здійснювали завдяки введенню в шлунок через зонд дистильованої води, а для харчування використовували виварений знесолений корм. Легкий ступінь гіпоосмолярної гіпергідратації досягався зондовим введенням 10 мл дистильованої води тричі на добу протягом 5 днів (зростання гідратації на 5 %), середній ступінь – протягом 10 днів (зростання гідратації на 8 %), тяжкий ступінь – протягом 15 днів (зростання гідратації на 15 %). Тваринам експериментальної серії для запобігання фізіологічної підтримки водного гомеостазу та досяг-

нення необхідного ступеня гіпергідратації вводили синтетичний аналог АДГ (вазопресину) – мінірин ("Феррінг фармасьютікалз", Нідерланди) – через зонд у шлунок разом з питною водою двічі на добу по 0,01 мг [7]. Для визначення ступеня гіпергідратації проводили пробу за методом Берхіна-Іванова [8]. Через 24 год після останнього насичення водою контрольних та експериментальних тварин забивали методом декапітації під ефірним наркозом.

Для електронномікроскопічного дослідження тканину Пч розміром 1 мм² занурювали в 1 % забуферений розчин чотирьохокису осмію при температурі 40° С. Після фіксації шматочки Пч промивали буферним розчином Міллоніга, проводили дегідратацію в спиртах висхідної концентрації та ацетоні. Далі їх поміщали в суміш епоксидних смол (епон-аралдит). Полімеризацію блоків здійснювали в термостаті при температурі 600° С протягом 2 діб. На ультрамікроскопі УМТП-3М виготовляли ультратонкі зрізи, які поміщали на електролітичні сіточки, контрастували цитратом свинцю і досліджували на електронному мікроскопі ЕМВ-100 БР при прискорювальній напрузі 75 кВ.

Результати дослідження та їх обговорення. Електронномікроскопічне дослідження гепатоцитів (Гц) показало адекватність застосованих методик гістологічної обробки тканини. Плазматичні мембрани суміжних клітин розміщуються паралельно одна до другої, утворюють вузький електроннопрозорий міжклітинний простір. На синусоїдальній поверхні плазматична мембрана має мікроворсинки і випини, обернуті до простору Діссе. Ядра Гц мають чітко виражену ядерну мембрану. Гранули ядерного хроматину в деконденсованому стані, рівномірно розподілені в матриксі. Гіалоплазма має слабо виражену електронну щільність і дрібногранулярну структуру. Як правило, ядра мають по 1-2 ядерця. Гц містять велику кількість мітохондрій, які в цитоплазмі розташовані рівномірно, мають

заокруглену або паличкоподібну форму. Матрикс мітохондрій дрібнозернистої структури, середньої електронної щільності, має численні кристи. Часто виявляються мітохондрії, які перебувають у процесі поділу. В матриксі мітохондрій визначаються внутрішньомітохондріальні гранули. Мембрани гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (ГЕР) добре розвинуті, оточують мітохондрії, на поверхнях мембран виявляються численні рибосоми. Цистерни ГЕР являють собою сплюснені мішечки, заповнені ніжною філаментозною речовиною. Мембрани чітко контуровані, розташовані паралельними рядами в перинуклеарному просторі. В цитоплазмі спостерігається велика кількість вільних рибосом, полісом і гранул глікогену. Пластинчастий цитоплазматичний комплекс Гольджі (КГ) локалізується поблизу ядра, помірно розвинутий, представлений стінками паралельно розташованих мембран, оточених дрібними і великими електроннопрозорими везикулами. В його межах спостерігаються первинні лізосоми. На синусоїдальному полюсі Гц цитоплазматична мембрана утворює численні мікроворсинки. Ендотеліоцити синусоїдних капілярів мають подовжену форму ядра. Матрикс ядра містить деконденсований хроматин. Ядерна мембрана має структуру, яка властива елементарній мембрані. В цитоплазмі мала кількість мітохондрій, які мають поодинокі кристи та дрібногранулярний матрикс. КГ має типову структуру. В цитоплазмі розташовані окремі фрагменти цистерн гранулярної і гладенької ендоплазматичної сітки. Окремі ендотеліоцити містять включення фагоцитованого матеріалу. В просвіті синусоїдних капілярів виявлені незмінні клітинні елементи крові. Клітини Купфера містять велику кількість рибосом і полісом. Їх мітохондрії з дрібнозернистим матриксом і великою кількістю крист. Численні мікроворсинки розташовані на цитоплазматичній мембрані, яка обернена до простору Діссе. Цитоплазма містить фагоцитований матеріал різного ступе-

ня осміофілії. Pit-клітини розташовані у просвіті синусоїда, фіксовані відростками до ендотелію.

У Гц щурів, що піддавалися гіпергідрії легкого ступеня, виявлені зміни, характерні для адаптаційно-компенсаторної реакції. Цитоплазма цих клітин має неоднорідну щільність. Ядра здебільшого овальної форми, мають по 1-2 осмієфільних ледь збільшених ядерець. Ядерна оболонка добре контурована з малими випинами та інвагінаціями. Ядерний хроматин деконденсований, його гранули рівномірно розподілені по матриксу. Глибок конденсованого хроматину не виявлено, але подекуди вони траплялися на ядерній мембрані. Перинуклеарні простори помірно розширені, заповнені електроннопрозорою речовиною. Мітохондрії у великій кількості, розташовані рівномірно по всій цитоплазмі. Слід зазначити, що мітохондрії збільшені та набрякли, їх матрикс вогнищево просвітлений, а кристи дезорганізовані. В деяких мітохондріях спостерігаються вогнища лізису як зовнішніх мембран, так і крист. Частина мітохондрій мають кристи у вигляді вакуолей. Порівняно з групою інтактних щурів у цій групі кількість крист у мітохондріях знижена. Зменшена і кількість рибосом, як зв'язаних з мембранами ендоплазматичної сітки, так і вільно розташованих у цитоплазмі. Гранулярна ендоплазматична сітка розвинута, але її цистерни розширені, мембрани розпушені, спостерігаються вогнища лізису. Гладенькі мембрани КГ втрачають паралельну орієнтацію, зменшується кількість дрібних везикул, які оточують його мембранну частину. Поблизу мембран КГ іноді виявляються вторинні лізосоми і дрібні включення ліпідів. Цитоплазма Гц набула меншої електронної щільності. Простір Діссе і жовчні капіляри дещо розширені, мають малу кількість мікрворсинок. Порівняно з інтактними щурами в цитоплазмі зменшена кількість гранул глікогену. Цитоплазматична мембрана Гц чітка, без вогнищ розпушення і лізису. Ядра ендотеліальних клітин сину-

соїдів мають витягнуту форму, ядерна мембрана утворює глибокі інвагінації, матрикс зниженої електронної щільності. Ядерний хроматин як у конденсованій, так і в деконденсованій формі. Перинуклеарні простори нерівномірно розширені. Деякі мітохондрії мали різний ступінь набухання та розпушення зовнішніх мембран і крист, окремі з них з вогнищевим лізисом. ГЕР розвинутий слабо, в цитоплазмі спостерігалися окремі розширені профілі цистерн, на мембранах яких розташована мала кількість рибосом. КГ суттєво редукований. Цитоплазматична мембрана високої електронної щільності, значно розпушена. В цитоплазмі відростків ендотеліоцитів визначається невелика кількість мікропіноцитозних пухирців. У просвіті капілярів спостерігаються клітинні елементи крові, дегенеративно змінені органели та мембранні структури. Купферовські клітини мають добре розвинуті мембрани ГЕР з великою кількістю зв'язаних з мембранами рибосом. Мітохондрії мають дрібногранулярний матрикс і велику кількість крист. У цитоплазмі спостерігаються численні рибосоми, полісоми, включення фагоцитованого матеріалу і вторинні лізосоми.

Отже, вивчення ультраструктури клітин Пч молодих щурів, що піддавалися гіпергідратації легкого ступеня, свідчить про високий рівень обмінних внутрішньоклітинних процесів. Виявлені порушення структури мітохондрій вказують на початкові фази розвитку мітохондріальної дисфункції. Вогнищевий лізис мембран ГЕР і помірна редукція КГ свідчать про порушення синтетичної активності внутрішньоклітинних органел. В цілому легкий ступінь гіпергідратації в молодих щурів викликає зворотні зміни, характерні для включення резервних механізмів компенсації.

При ультраструктурному дослідженні Гц молодих щурів, що піддавалися гіпергідратації середнього ступеня, спостерігаються їх дистрофічні зміни: ядра зберігають округлу форму, матрикс ядра просвітлений,

ядерний хроматин деконденсований. Трапляються Гц, які містять конденсований хроматин, розташований на ядерній мембрані. Ядерна мембрана значно розпушена, місцями з вогнищами лізису. Нуклеолоплазма помірно просвітлена. Перинуклеарний простір значно розширений, заповнений електроннопрозорою речовиною. Цистерни ГЕР та агранулярного ендоплазматичного ретикулу розширені. На мембранах ГЕР багато рибосом. Кількість вільних рибосом і полісом менша порівняно з інтактними щурами. КГ представлений малою кількістю хаотично орієнтованих гладеньких мембран та поодинокими великими електроннопрозорими вакуолями. Поблизу КГ виявляються первинні та вторинні лізосоми, дрібні включення ліпідів. У цитоплазмі визначається зниження кількості гранул глікогену. Жовчні капіляри і простори Діссе помірно розширені, містять невелику кількість коротких, розбухлих мікроворсинок. Ендотеліоцити синусоїдних капілярів мають ядра неправильної видовженої форми, містять конденсований хроматин уздовж ядерної мембрани. Остання утворює глибокі інвагінації, має розпушену структуру. Цистерни ГЕР вакуолізовані, містять малу кількість прикріплених до мембрани рибосом. Цитоплазма низької електронної щільності, містить поодинокі рибосоми і полісоми. Мітохондрій мало, вони розбухлі. Деякі мітохондрії мають лізовані кристи і зовнішні мембрани, КГ редукований. В цитоплазмі окремих ендотеліоцитів виявлені вторинні лізосоми. Цитоплазма відростків ендотеліальних клітин електроннопрозора, містить малу кількість мікропіноцитозних пухирців. Цитоплазматична мембрана гладенька, з вогнищами лізису. В просвіті синусоїдних капілярів, окрім клітинних елементів крові, спостерігається скупчення аморфної субстанції різної електронної щільності. Ультраструктури клітин Купфера розвинуті. Ядра мають чітко контуровану мембрану. Деконденсований ядерний хроматин у вигляді гранул рівномірно роз-

поділений по площині зрізу. Мембрани ГЕР розташовані паралельними рядами, на них містяться численні рибосоми, цистерни сплюснені. Мітохондрії типової будови. Спостерігається гіпертрофія КГ, колонки його гладеньких мембран оточені численними дрібними везикулами. В цитоплазмі збільшена кількість рибосом, полісом, включень ліпідів та продуктів фагоцитозу.

Отже, в даній групі експериментальних тварин виявлені дистрофічні зміни ультраструктурної організації Гц та ендотеліоцитів синусоїдних капілярів. Характерна наявність внутрішньоклітинного набряку, що структурно виражається зниженням електронної щільності гіалоплазми. Порушується внутрішньоклітинна біоенергетика, морфологічним підтвердженням чого є розбухання мітохондрій та поява вогнищевої деструкції мітохондріальних мембран. Порушення біоенергетики, мабуть, є причиною зниження синтетичної активності печінкових клітин, що зумовлено зменшенням кількості як зв'язаних з мембранами рибосом, так і вільно розташованих у цитоплазмі рибосом та полісом. Зберігається висока метаболічна активність зірчастих макрофагоцитів.

На ультрамікроскопічному рівні в клітинах Пч щурів, які зазнавали впливу гіпергідратації тяжкого ступеня, виявлені глибші дистрофічні зміни, які часто відповідали деструктивній фазі. Спостерігаються внутрішньоядерний набряк, низька електронна щільність матриксу ядра, зменшення кількості ядерця. Ядерна мембрана з вогнищами лізису, суттєво розпушена. В перинуклеарних просторах є ділянки локального розширення. Ядерний хроматин нерівномірно розподілений по ядру. Частина хроматину в конденсованому стані, його глибки переважно розташовані на ядерній мембрані. У центральній ділянці матриксу трапляються як глибки конденсованого, так і гранули деконденсованого хроматину. Значно знижена кількість мітохондрій і крист у них. Мітохондрії сильно набухають і мають електроннопрозорий матрикс. Подекуди матрикс

мітохондрій має грубоволокнисту структуру. Спостерігається дезорганізація крист. В окремих мітохондріях розташовані лізовані кристи та вогнища лізису зовнішніх мембран. У матриксі мітохондрій відсутні внутрішньомітохондріальні гранули. Суттєво розширені цистерни ГЕР. Зменшена кількість мембран як гранулярного, так і агранулярного ретикулуму. Істотно зменшена кількість зв'язаних з мембранами рибосом, а також рибосом і полісом. У цитоплазмі виявлено невелику кількість гранул глікогену. В деяких клітинах спостерігаються фрагментовані мембрани ГЕР. КГ редукований, складається з окремих хаотично розташованих гладеньких мембран. Кількість дрібних вакуолей зменшена, виявляються великі електроннопрозорі вакуолі навколо гладеньких мембран. У цитоплазмі Гц знаходиться велика кількість первинних і вторинних лізосом та включень ліпідів. Жовчні капіляри розширені, практично не містять мікроворсинок. Цитоплазматична мембрана розпушена, осмієфільна, має вогнища локального руйнування. Гіалоплазма Гц електроннопрозора, що свідчить про розвиток внутрішньоклітинного набряку. Простори Діссе розширені, в них знаходяться вкорочені, розбухлі мікроворсинки, частина яких лізована. Ендотеліоцити синусоїдних капілярів мають електроннопрозору цитоплазму. Їх ядра неправильної форми, з глибокими інвагінаціями ядерної мембрани, на якій спостерігаються дрібні вогнища розпушення та лізису. В цитоплазмі міститься невелика кількість мітохондрій і профілей цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки. Частина крист мітохондрій зруйнована. Мембрани ГЕР розпушені, мають вогнища деструкції. Цитоплазматична мембрана вогнищево зруйнована, КГ редукований і майже не виявляється. Подекуди в цитоплазмі трапляються аутофагосоми, включення ліпідів і фагоцитованого матеріалу. В цитоплазмі відростків ендотеліоцитів практично відсутні мікропіноцитозні

пухирці. У просвіті капілярів виявляється детрит, який складається з дегенеративно змінених органел, мембранних комплексів та безструктурної осмієфільної субстанції. Активність зірчастих макрофагів помірно зменшена, але в цілому вони знаходяться в метаболічно активному стані, їх ультраструктурна архітектоніка розвинута добре. В їх цитоплазмі знаходиться велика кількість фагоцитованого матеріалу, включень ліпідів та вторинних лізосом. У цитоплазмі багато мітохондрій, мембран ГЕР, рибосом і полісом. Мітохондрії набряклі, кількість крист зменшена, матрикс електроннопрозорий. Спостерігається вакуолізація ГЕР. Зменшена кількість зв'язаних і вільних рибосом та полісом, КГ гіпертрофований.

Отже, гіпергідрія тяжкого ступеня призводить до мітохондріальної дисфункції, яка викликає порушення внутрішньоклітинної біоенергетики, а також зниження синтетичної і репаративної активності Гц та ендотеліоцитів синусоїдних капілярів Пч. Зменшення кількості мікропіноцитозних пухирців у цитоплазмі відростків ендотеліоцитів свідчить про порушення трансцелюлярного транспорту води, речовин та електролітів через капілярну стінку. Проте ці зміни відповідають діапазону фізіологічної компенсації.

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. Вплив гіпергідратації легкого ступеня на печінку молодих щурів спричиняє дистрофічні процеси у печінкових клітинах, викликає посилення захисно-компенсаторних реакцій у відповідь на подразнення збільшеною кількістю води. 2. Гіпергідратація середнього ступеня викликає переважно локальні дистрофічні та некробіотичні зміни, а також посилює захисно-компенсаторні реакції організму. 3. Гіпергідратація тяжкого ступеня призводить до глибоких дистрофічних та деструктивних процесів у печінці на субклітинному рівні. 4. Одержані експериментальні дані можуть бути морфологічною основою для розроблення методів корекції виявлених змін.

Література

1. Иванова Л.Н. Водно-солевой баланс и его регуляция / Л.Н.Иванова // Совр. естествознание. – М.: МАГИСТР-ПРЕСС, 2000. – Т. 8. – С. 353-360.
2. Alex G. Cuenca. Calorie Restriction Influences Cell Cycle Protein Expression and DNA Synthesis during Liver Regeneration / Cuenca G. Alex, Cress W. Douglas, Good A. Robert // *Exper. Biol. and Med.* – 2001. – Vol. 226. – P. 1061-1067.
3. Наточин Ю.В. Роль нервной, эндокринной систем и аутокидов в водно-солевом гомеостазе / Ю.В.Наточин // Тез. XVIII съезда физиол. общ. им. И.П.Павлова. – Казань, 2001. – С. 393.
4. Abubakar M.G. Related Articles, Links Aluminium administration is associated with enhanced hepatic oxidant stress that may be offset by dietary vitamin E in the rat / M.G.Abubakar, A.Taylor, G.A.Fems // *Int. J. Exp. Pathol.* – 2003. – Vol. 84. – P. 49-54.
5. Kjekken R. Fluid phase endocytosis of iodixanol in rat liver parenchymal, endothelial and Kupffer cells / R.Kjekken, S.A.Mousavi, A.Brech // *Cell Tissue Res.* – 2001. – Vol. 304. – P. 221-230.
6. Западнюк В.И. Лабораторные животные / Западнюк В.И., Западнюк И.П., Захария Е.А. – К.: Вища школа, 1985. – 385 с.
7. Дзеранова Л. Минирин в лечении водно-электролитных нарушений / Л.Дзеранова // *Врач.* – 2003. – № 6. – С. 47-51.
8. Берхин Е.Б. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е.Б.Берхин, Ю.И.Иванов. – Барнаул, 1972. – 199 с.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ГИПЕРГИДРАТАЦИОННЫХ НАРУШЕНИЯХ ВОДНО-СОЛЕВОГО ОБМЕНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. В статье изложены ультраструктурные изменения печёночных клеток молодых крыс при воздействии общей гипергидратации организма разной степени тяжести. Гипергидратация лёгкой степени вызывает дистрофические процессы в клетках печени и усиливает защитно-компенсаторные реакции, гипергидратация тяжёлой степени – глубокие деструктивные процессы на субклеточном уровне.

Ключевые слова: гепатоциты, дистрофия, деструкция, гипергидратация.

THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE LIVER OF YOUNG RATS UNDER THE INFLUENCE OF HYPERHYDRATIONAL DISORDERS OF WATER-SALT METABOLISM IN AN EXPERIMENT

Abstract. The paper adduces ultrastructural changes of hepatocytes of young rats under the action of general hyperhydration of the organism of a varying degree of severity. Hyperhydration of a mild degree brings about dystrophic processes in hepatocytes and enhances protective-compensatory reactions, hyperhydration of a severe degree – deep destructive processes at the subcellular level.

Key words: hepatocytes, dystrophy, destruction, hyperhydration.

Medical Institute of State University (Sumy)

Надійшла 15.09.2009 р.

Рецензент – проф. В.Ф.Мислицький (Чернівці)