

УДК 611.36:531.5:613.693

© В. С. Пикалюк, Э. А. Гафарова, 2013

ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ СИСТЕМАТИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ГИПЕРГРАВИТАЦИИ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ФИЗИЧЕСКОГО МЕТОДА ЗАЩИТЫ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

В. С. Пикалюк, Э. А. Гафарова

Кафедра нормальной анатомии человека (зав. – д. мед. н., проф. Пикалюк В. С.), ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского». 95006 Украина, г. Симферополь, ул. А. Невского, 27 а. E-mail: gafarova.elvina@inbox.ru

HYSTOCHEMICAL CHANGES IN HEPATOCYTES OF RATS EXPOSED TO REPEATED INFLUEND OF HYPERGRAVITY WITH PHYSICAL PROTECTION AND PHARMACEUTICAL CORRECTION V. S. Picaluk, E. A. Gafarova

SUMMARY

The repeated exposure to high levels of hypergravity causes the considerable effect on the functional condition of hepatocytes, that is evident from the changes in PAS-positive substances in cells cytoplasm. The main tendency was the reduce of glycogen in cytoplasm, that explained the functional exhaustion of the cells and re-arrangement of glycogen in the cytoplasm with it accumulation mostly near the membrane. Moreover, after the increase of the duration of the exposure from 10 to 30 sessions the more evident exhaustion of the functional reserves of hepatocytes was revealed. These changes reflect, firstly, the adaptational cellular mechanisms, realized for the external exposure.

ГИСТОХІМІЧНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ, ЩО ПІДДАВАЛИСЯ СИСТЕМАТИЧНОМУ ВПЛИВУ ГИПЕРГРАВИТАЦІЇ НА ФОНІ ЗАСТОСУВАННЯ ФІЗИЧНОГО МЕТОДУ ЗАХИСТУ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ

В. С. Пикалюк, Е. А. Гафарова

РЕЗЮМЕ

Систематичний вплив значної за величиною гіпергравітації виражено впливає на функціональний стан гепатоцитів, що проявляється змінами накопичення ШИК-позитивних речовин в їх цитоплазмі. Основними виявленими тенденціями слід вважати збіднення цитоплазми глікогеном, що свідчить про функціональне виснаження клітин, і перерозподіл глікогену в межах цитоплазми з його скупченням біля клітинної мембрани. Більш того, при збільшенні тривалості систематичного впливу гіпергравітації з 10 до 30 сеансів, спостерігали більш наявне збіднення функціональних резервів гепатоцитів. Дані зміни відображають, в першу чергу, адаптаційні клітинні механізми, що реалізуються у відповідь на зовнішній вплив.

Ключевые слова: гипергравитация, печень, морфология.

В многочисленных экспериментально-клинических исследованиях установлено, что перегрузки оказывают на организм выраженное воздействие, опосредованное изменениями системной гемодинамики с соответствующими отклонениями функционального состояния сердечно-сосудистой и центральной нервной систем. Тем не менее, большинство данных работ было посвящено изучению влияния малых и умеренных по величине перегрузок (2–4 G).

Проведено ряд экспериментальных исследований на лабораторных животных с использованием надпороговых значений перегрузок (9 G), которые были посвящены изучению морфологических преобразований различных органов и систем (опорно-двигательного аппарата, легких, тимуса, селезенки, надпочечников, почек) [1–3]. По данным этим исследований, выраженность гистопатологических изменений в различных органах при воздействии значительной по величине гипергравитации возрастала с увеличением кратности систематического

экзогенного воздействия, а также зависела от онтогенетического периода экспериментальных животных (крыс). Тем не менее, вопрос о преобразованиях печени, их патогенезе и обратимости, возникающих под воздействием поперечно-направленных перегрузок, на протяжении многих лет не находил должного отражения в космической и авиационной медицине. Данное экспериментальное исследование посвящено влиянию гравитационных перегрузок на структурные изменения печени.

Учитывая вышесказанное, была поставлена цель – оценить гистохимические изменения гепатоцитов печени крыс различных возрастных периодов в условиях систематического воздействия на организм поперечно-направленных гравитационных перегрузок.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование проведено в рамках научно-исследовательской темы кафедры нормальной анатомии человека ГУ

«Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского» № 0104U002080.

Все крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию гипергравитации, были разделены на 4 экспериментальных серии: 1-я экспериментальная серия (Э1) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию гипергравитации без применения способа защиты; 2-я экспериментальная серия (Э2) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию гипергравитации на фоне применения физического способа защиты; 3-я экспериментальная серия (Э3) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию гипергравитации на фоне применения препарата глутаргин; 4-я экспериментальная серия (Э4) – крысы, подвергавшиеся систематическому воздействию гипергравитации на фоне применения препарата липофлавон.

Все контрольные и экспериментальные серии крыс были аналогичным образом разделены на возрастные группы (крысы ювенильного, молодого и зрелого возрастов – I, II и III, соответственно), которые, в свою очередь, были разделены на подгруппы в зависимости от продолжительности эксперимента (10-дневный эксперимент – подгруппа А и 30-дневный эксперимент – подгруппа В).

Поперечно-направленные («грудь-спина») перегрузки моделировали с использованием экспериментальной центрифуги (Ц-2/500 с радиусом 0,5 м и рабочим диапазоном от 1 до 50 g. Величина перегрузки составляла 9 g с градиентом нарастания 1,4–1,6 ед/с и градиентом спада 0,6–0,8 ед/с. Эксперимент проводили ежедневно на протяжении 10 или 30 дней (в зависимости от подгруппы А или В), в одно и то же время суток, в течение 10 мин. Перегрузки моделировали в виде трёх временных промежутков, длительностью по 3 минуты каждый с интервалом между ними в 30 сек. В качестве способов защиты от негативного воздействия гипергравитации в данном исследовании использовали физический способ защиты и метод фармакологической коррекции препаратами глутаргин и липофлавон (экспериментальные серии Э2, Э3 и Э4, соответственно) [4–6]. После проведения макроскопических описательных и органомерических методов исследования, для осуществления оценки структурных изменений на тканевом и клеточном уровнях организации из печени вырезали кусочки размерами 1 x 1 x 1 см с последующей фиксацией в 10% растворе нейтрального формалина. Фиксатор отмывали в проточной водопроводной воде 24 часа. Ткань печени обезвоживали в батарее спиртов восходящей концентрации (50%, 60%, 70%, 80%, 96% – 1, 96% – 2 и абсолютный спирт), просветляли в ксилоле, выдерживали в насыщенном при +37°C в растворе парафина в ксилоле, после чего помещали в парафин при +56°C, с последующей

заливкой в смесь парафина и пчелиного воска. Из парафиновых блоков готовили серийные срезы толщиной 4–5 мкм. С целью изучения накопления в гепатоцитах ШИК-положительных веществ (гликогена) ставили ШИК-реакцию по стандартной, общепринятой методике. В отношении данных накопления ШИК-положительных веществ в цитоплазме клеток проводили полуколичественный анализ, основанный на интенсивности и равномерности окраски. С этой целью использовали шкалу полуколичественной оценки:

«-» – окрашивание отсутствует; «+/-» – окрашивание крайне незначительно и/или полностью отсутствует в большинстве клеток в поле зрения; «+» – незначительное окрашивание; «++» – умеренная степень окрашивания;

«+++» – выраженное, интенсивное окрашивание.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам, полученным при проведении полуколичественного анализа накопления ШИК-положительных веществ в цитоплазме гепатоцитов печени крыс экспериментальных серий, наблюдается общая тенденция к истощению функциональных резервов печени (табл.).

Как видно из представленной выше таблицы, в большинстве изученных экспериментальных серий наблюдали неравномерность распределения ШИК-положительных веществ (гликогена) в цитоплазме гепатоцитов. Данная неравномерность проявлялась, в первую очередь, накоплением гликогена у границы с клеточной мембраной, что свидетельствует об активной мобилизации функциональных резервов. В большинстве серий наблюдали общую тенденцию к снижению накопления ШИК-положительных веществ, в гепатоцитах центрлобулярной и перипортальной зоны печеночной дольки. В гепатоцитах перипортальной зоны накопление ШИК-положительных веществ было ниже, чем в гепатоцитах центрлобулярной зоны печеночной дольки, что согласуется с данными литературы свидетельствующими о том, что гепатоциты перипортальной зоны являются более функционально активными, и первыми реагируют на внешние факторы [7]. Именно в перипортальной зоне в некоторых экспериментальных подгруппах (Э1-IA, Э1-IIIВ, Э2-IV, Э4-В) было выявлено практически полное отсутствие ШИК-положительных веществ в цитоплазме гепатоцитов (рис.)

При увеличении длительности систематического воздействия гипергравитации с 10 до 30 сеансов, наблюдали выраженное истощение функциональных резервов гепатоцитов. Это свидетельствует о том, что при дальнейшем экстремальном воздействии, возможно полное истощение компенсаторных механизмов со срывом адаптационных механизмов с развитием необратимых гистопатологических изменений в виде печеночной недостаточности.

Данные полуколичественного анализа накопления ШИК-положительных веществ в печени экспериментальных серий крыс, подвергавшихся 10-или 30-кратному воздействию гипергравита

ЦЕНТРОЛОБУЛЯРНАЯ ЗОНА ПЕЧЕНОЧНОЙ ДОЛЬКИ				
Серия	Накопление ШИК-положительных веществ		Равномерность распределения ШИК-положительных веществ	
	А	В	А	В
К1-I	+++	+++	да	да
К1-II	+++	+++	да	да
К1-III	++	++	да	да
К2	+++	+++	да	да
Э1-I	++	++	да	да
Э1-II	++	++	да	нет
Э1-III	+	+/-	нет	нет
Э2-I	+++	+	нет	да
Э2-II	+	+	нет	да
Э2-III	+	+	нет	нет
Э3	++	++	нет	нет
Э4	+	+	нет	нет

ПЕРИПОРТАЛЬНАЯ ЗОНА ПЕЧЕНОЧНОЙ ДОЛЬКИ				
Серия	Накопление ШИК-положительных веществ		Равномерность распределения ШИК-положительных веществ	
	А	В	А	В
К1-I	+++	+++	да	да
К1-II	+++	+++	да	да
К1-III	++	++	да	да
К2	+++	+++	да	да
Э1-I	+/-	+	нет	нет
Э1-II	++	++	да	нет
Э1-III	+	+/-	нет	нет
Э2-I	+++	+/-	нет	нет
Э2-II	+	+	нет	нет
Э2-III	+	+	нет	нет
Э3	++	++	нет	нет
Э4	+/-	+	нет	нет

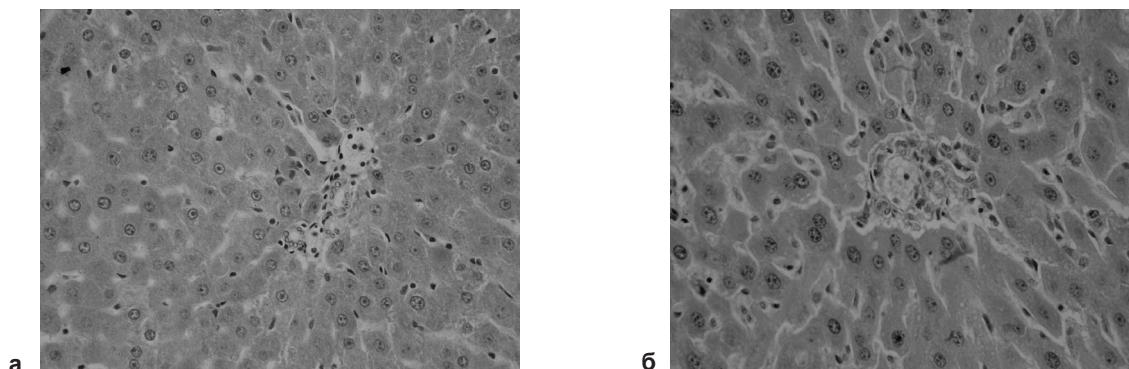


Рис. Микрофотография: а – участок перипортальной зоны печеночной дольки печени крысы контрольной серии (К1-IIА); б – участок перипортальной зоны печеночной дольки печени экспериментальной крысы (Э1-IIIB). ШИК-реакция. Увеличение x800

ВЫВОДЫ

Систематическое воздействие значительной по величине гипергравитации оказывает выраженное воздействие на функциональное состояние гепатоцитов, проявляющееся в изменении накопления ШИК-положительных веществ в их цитоплазме. Основными выявленными тенденциями следует считать обеднение цитоплазмы гликогеном, что свидетельствует о функциональном истощении клеток, и перераспределение гликогена в пределах цитоплазмы с его скоплением под клеточной мембраной. Данные изменения отражают, в первую очередь, адаптационные механизмы в клетках, реализующиеся в ответ на внешнее воздействие.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волковец Д. В. Структурные изменения почек крыс различных возрастных групп при воздействии гравитационных перегрузок/Д. В. Волковец, М. А. Кривенцов//Український морфологічний альманах. – 2011. – Т. 9, № 2. – С. 20–24.
2. Кутя С. А. Влияние поперечных гравитационных перегрузок на органые характеристики костей крыс разного возраста/С. А. Кутя//Укр. морф. альм. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 115–117.
3. Мороз Г. А. Структурно–функциональные особенности тимуса крыс разного возраста при систематическом воздействии гипергравитации/Г. А. Мороз//Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 1. – С. 142–147.
4. Пат. 16546 Україна, МПК А 61 В10/00. Пристрій для захисту біологічних об'єктів при гравітаційних перевантаженнях/Мостовий С. О., Пикалюк В. С. – № 200509257; заявл. 3.10.2005; опубл. 15.03.2006. Бюл. № 3.
5. Пат. 35792 Україна, МПК А 61 В 5/145. Спосіб корекції несприятливої дії гравітаційних перевантажень в експерименті/Пикалюк В. С., Кутя С. А., Мороз Г. О., Коняєва О. І. – № 200803985; заявл. 31.03.2008; опубл. 10.10.2008. Бюл. № 19.
6. Пат. 37164 Україна, МПК А 61 В 5/145. Спосіб корекції несприятливої дії гравітаційних перевантажень препаратом «Ліпофлавіон» в експерименті/Пикалюк В. С., Мороз Г. О., Кутя С. А., Коняєва О. І. – № 200804002; заявл. 31.03.2008; опубл. 25.11.2008. Бюл. № 22.
7. Cellular organization of normal mouse liver: a histological, quantitative immunocytochemical, and fine structural analysis/J. L. Baratta, A. Ngo, B. Lopez [et al.]//Histochem Cell Biol. – 2009. – Vol. 131. – P. 713–726.