

ВПЛИВ ПРОСТОГО ПОЛІЕФІРУ НА УЛЬТРАСТРУКТУРНУ ОРГАНІЗАЦІЮ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

Харківський національний медичний університет

(м. Харків)

Роботу виконано у Харківському національному медичному університеті в рамках наукової проблеми «Вивчення механізмів біологічної дії простих поліефірів у зв'язку з проблемою охорони навколишнього середовища», Недержавної реєстрації 0110U001812.

Вступ. До речовин, з якими тісно контактує населення, відносяться прості поліефіри (ППЕ) на основі пропіленгліколей, гліцеролу та пентолу. Останнім часом об'єми їх синтезу невідомо зростають. Це пов'язано з широким використанням ППЕ у багатьох галузях народного господарства як основи промислового випуску пластмас, пінопластів, епоксидних смол, лаків, поліуретанів, миючих засобів, емульгаторів, антикорозійних і бактерицидних препаратів, флотореагентів, гальмівних та охолоджуючих речовин тощо [7,8].

Дослідженнями останніх років доведено, що вплив численних хімічних факторів на організм перш за все може супроводжуватися структурно-метаболічними порушеннями в печінці. У залежності від природи хімічного фактора, тривалості його дії, індивідуальної чутливості організму можливим є розвиток як гострих, так й хронічних процесів у печінці [2-6]. Тому, представляло інтерес вивчення впливу ППЕ на ультраструктуру печінки щурів.

Метою дослідження було вивчення тривалого впливу простого поліефіру на основі гліцеролу (Гл) та пропіленгліколей (ПГ) – ГлПГ-1136 у дозі 1/100 ДЛ₅₀ на ультраструктурну організацію печінки щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент виконано на 20 щурах-самцях популяції Вістар масою 180-220 г, які знаходились у стандартних загальноприйнятних умовах віварію. У роботі використаний хімічний зразок ППЕ з регламентованими фізико-хімічними властивостями. Щурам протягом 30 діб внутрішньошлунково натщесерце зондом вводили водний розчин ППЕ на основі гліцеролу (Гл) та пропіленгліколей (ПГ) з молекулярною масою 1136 (ГлПГ-1136). Розрахунок необхідної для введення кількості речовини проводили, виходячи з даних про параметри її гострої токсичності. Використовували 1/100 ДЛ₅₀, яка складала для ГлПГ-1136 – 0,15 г/кг маси тварин. Щурам контрольної групи вводили відповідні об'єми питної води. В контрольній та експериментальній групах знаходилось по 10 тварин. При виконанні роботи дотримувалися основних вимог

Ванкуверської конвенції (1979, 1994) про біомедичні експерименти.

Для електронно-мікроскопічного дослідження печінку подрібнювали у краплі фіксатора (1% буферний розчин окисненого осмію) та переносили в свіжу порцію охолодженого до 4°C фіксатора на 2-3 години. Після закінчення фіксації шматочки тканини промивали в буферному розчині, обезводнювали в спиртах зростаючої концентрації та ацетоні, просушували та розміщали у блоки зі сумішшю епоксидних смол (епон-аралдит) [1]. Полімеризацію здійснювали в термостаті при температурі 60°C протягом двох діб. Після цього на ультрамікромомі УМТП-6 виготовлювали ультратонкі зрізи, які після контрастирування цитратом свинцю вивчали під електронним мікроскопом ЕМВ-100БР. Збільшення вибирали адекватно методу дослідження.

Результати досліджень та їх обговорення. При електронно-мікроскопічному дослідженні печінки щурів на 30-ту добу експерименту відмічалася виразна гетерогенність гепатоцитів. Поряд зі звичайними «темними» та «світлими» гепатоцитами зустрічалися «світлі» клітини більш крупного розміру. Просвітління цитоплазми гепатоцитів пов'язано з появою внутрішньоклітинного набряку, що є ознакою порушення водно-електролітного балансу та проникності цитоплазматичних мембран. Сильно набрякли мітохондрії мали округлу форму та просвітлений матрикс з дезорганізованими кристами. Зернистий ендоплазматичний ретикулум (ЕПР) був помірно розвинений, однак цистерни були різко розширені та утворювали прозорі вакуолі. У цих клітинах спостерігалася суттєва гіпертрофія цистерн гладкого ЕПР. Ядра гепатоцитів зберігали овальну форму, хроматин був нерівномірно розташований (**рис. 1**). В умовах тривалої інтоксикації в цитоплазмі гепатоцитів у великій кількості визначалися первинні лізосоми (**рис. 2**), аутофагосоми (**рис. 3**). Характерним також було різке зниження кількості рибосом і полісом, а також зменшення гранул глікогену.

У субмікроскопічній організації органел гепатоцитів, зірчастих макрофагоцитів й ендотеліоцитів синусоїдних капілярів печінки при електронно-мікроскопічному дослідженні за тривалої дії ПГ-2106 у 1/100 ДЛ₅₀ виявлено ряд дистрофічних, а іноді й деструктивних порушень (**рис. 4**). Ядра гепатоцитів

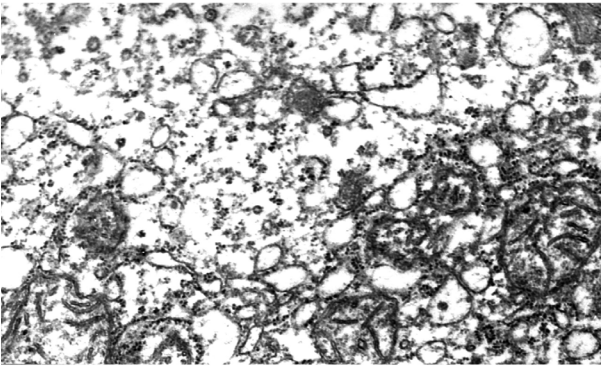


Рис. 1. Ультраструктура гепатоцитів щурів за умов тривалого впливу ПГ-2106 у дозі 1/100 ДЛ₅₀. Ядра овальної форми, хроматин нерівномірно розташований. Зб. х 32 000, контрастовано цитратом свинцю.

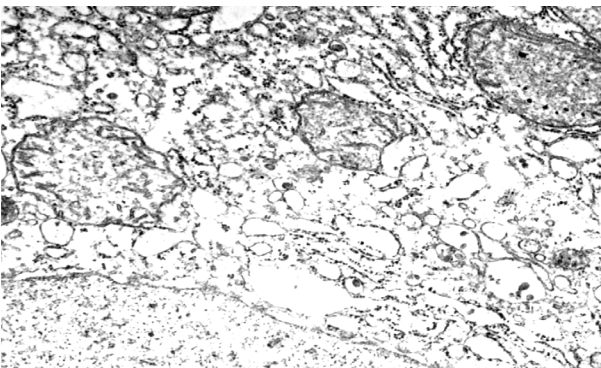


Рис. 2. Ультраструктура гепатоцитів щурів за умов тривалого впливу ПГ-2106 у дозі 1/100 ДЛ₅₀. Первинні лізосоми. Зб. х 32 000, контрастовано цитратом свинцю.

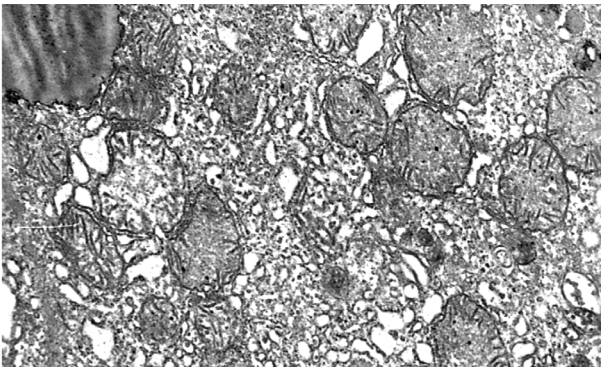


Рис. 3. Ультраструктура гепатоцитів щурів за умов тривалого впливу ПГ-2106 у дозі 1/100 ДЛ₅₀. Аутофагосоми. Зб. х 32 000, контрастовано цитратом свинцю.

мали округлу форму і були заповнені рівномірно площині зрізу гранулами хроматину та рибонуклеопро-теїнів. Разом з тим, матрикс ядра був значно про-світленим, оболонка – крихкою. Зустрічалися зони осередкового лізису каріолеми. Мітохондрії гепато-цитів були набряклими, у більшості випадків мали високу електронну щільність. Оболонка мітохондрій була у деяких випадках звивистою, її двоконтурність зберігалася не на всьому протязі. Окремі мітохон-дрії мали частково зруйновані зовнішні мембрани,

які втрачали типову структуру й розрихлилися. Спостерігалось суттєве зменшення числа крист, зникали внутрішньомітохондріальні гранули.

Найбільш виразними були зміни для гранулярно-го ЕПР, цистерни якого ставали різко розширеними та уявляли собою велику систему електронно-прозорих вакуолей різних за розмірами та фор-мою. На поверхні його мембран визначалася невелика кількість рибосом. Майже у всіх клітинах печінки ступінь розширення цистерн гранулярної ендоплаз-матичної сітки була дуже високою. Одночасно з вакуолізацією гранулярної сітки спостерігалася

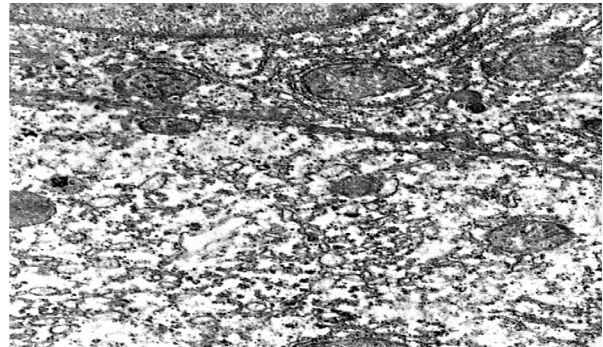


Рис. 4. Ультраструктура гепатоцитів щурів за умов тривалого впливу ПГ-2106 у дозі 1/100 ДЛ₅₀. Дис-трофічні й початкові фази деструктивних змін органел гепатоцитів. Зб. х 32 000, контрастовано цитратом свинцю.

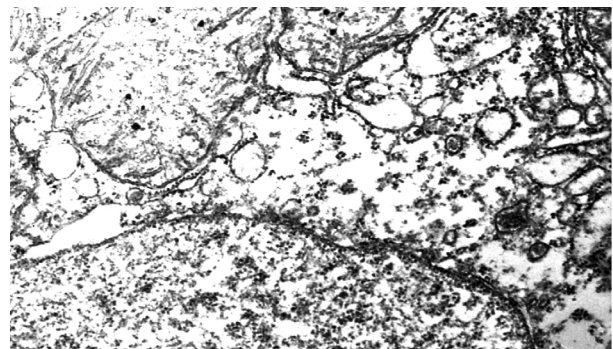


Рис. 5. Ультраструктура гепатоцитів щурів за умов тривалого впливу ПГ-2106 у дозі 1/100 ДЛ₅₀. Гіпертрофія агранулярного ендоплазматичного ре-тикулума, зниження кількості глікогену. Зб. х 32 000, контрастовано цитратом свинцю

гіпертрофія агранулярного ЕПР, у зоні локалізації якого були присутні окремі гранули глікогену. Загаль-на кількість глікогену у цитоплазмі гепатоцитів суттє-во знижувалася (**рис. 5**).

Слід відзначити суттєве зменшення кількості ри-босом, зв'язаних з мембранами ЕПР, а також числа вільно розташованих у цитоплазмі рибосом й по-лісом. Пластинчатий комплекс Гольджі був редуко-ваним і мав вигляд невеликої кількості паралельно орієнтованих гладких мембран, оточених крупними електронно-прозорими вакуолями.

Поряд з ними були присутні дрібні первин-ні лізосоми з електронно-щільним матриксом.

Характерною була наявність великої кількості аутофа-госом, заповнених деструктивно зміненими обривками мембран та органел. У цілому гіалоплазма клітин печінки була просвітленою, що свідчило про внутрішньоклітинний набряк. Цитоплазматична мембрана гепатоцитів відрізнялася крихкістю та звивистістю. У безпосередній близькості до неї цитоплазма була заповненою тонкофіламентозною субстанцією.

В окремих гепатоцитах виявлялися ділянки розпушення та лізису цитоплазматичної мембрани. Простори Діссе спалі та заповнені численними звитими щільно упакованими мікрворсинками. Ендотеліоцити синусоїдних капілярів мали зміни, що виявлялися набряком мітохондрій, вакуолізацією ЕПР, загальним просвітлінням цитоплазми й розпушенням плазматичної мембрани. Зірчасті макрофагоцити знаходилися в активованому стані. У цитоплазмі спостерігалось багато мітохондрій з численними кристами, добре розвинений гранулярний ЕПР, гіпертрофованій пластинчатий цитоплазматичний комплекс Гольджі, аутофагосоми.

Висновки. Таким чином, при проведенні електроно-мікроскопічного дослідження ультраструктурної організації печінки в умовах тривалої дії ПГ-2106 у 1/100 ДЛ₅₀ виявлено зміни субмікроскопічної архітекtonіки, характерні для дистрофічних процесів. Тривала інтоксикація простим поліефіром викликала ряд змін ультраструктури печінки, які полягали в розвитку внутрішньоклітинного набряку гепатоцитів, мітохондрій, змін щільності їх матриксу, часткової редуції та втраті крист, вакуолізації та розширенні цистерн ЕПР, збільшенні кількості первинних лізосом, перерозподілі хроматину ядра та зменшенні кількості рибосом і гранул глікогену. Виявлені зміни переконливо підтверджують виявлене раніше порушення біоенергетики в гепатоцитах, внаслідок чого розвивається гіпоксія. В окремих клітинах починають проявлятися ознаки розвитку деструктивного процесу.

Перспективи подальших досліджень. Визначення активності мембрано-стабілізуючої системи глутатіону та індикаторних ферментів печінки щурів.

Література

1. Волков О. В. Основы гистологии с гистологической техникой / О. В. Волков, Ю. К. Елецкий. – М. : Медицина, 1982. – 303 с.
2. Гнатейко О. З. Екогенетичні аспекти патології людини, спричиненої впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища / О. З. Гнатейко, Н. С. Лук'яненко // Здоров'я ребенка. – 2007. – № 6(9). – С. 15-24.
3. Голубева М. Г. Морфологічні зміни печінки при експериментальних токсичних гепатитах та їх корекція амізоном / М. Г. Голубева // Галицький лікарський вісник. – 2004. – № 1. – С. 43-44.
4. Гріднев О. Є. Перекисне окиснення ліпідів і печінка / О. Є. Гріднев // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 5. – С. 80-83.
5. Губский Ю. И. Коррекция химического поражения печени / Ю. И. Губский. – К. : Здоров'я, 1989. – 168 с.
6. Кундиев Ю. И. Адаптационные и компенсаторные реакции при воздействии на организм экзогенных химических соединений / Ю. И. Кундиев, В. А. Тычинин, И. М. Трахтенберг // Currierul medical. – 1996. – № 5. – Р. 41-48.
7. Torchilin V. P. Immunoliposomes and PEGylated immunoliposomes: possible use for targeted delivery of imaging agents / V. P. Torchilin // Immunomethods. – 1994. – Vol. 4, № 3. – P. 244-258.
8. Torchilin V. P. Poly(ethyleneglycol) on the liposome surface: on the mechanism of polymer-coated liposome longevity / V. P. Torchilin, V. G. Omelyanenko, M. I. Papisov // Biochem. Biophys. Acta. – 1994. – Vol. 1195. – № 1. – P. 11-20.

УДК 591. 48:591. 88:504. 5:543. 39

ВПЛИВ ПРОСТОГО ПОЛІЕФІРУ НА УЛЬТРАСТРУКТУРНУ ОРГАНІЗАЦІЮ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

Наконечна О. А.

Резюме. Вивчено вплив простого поліефіру на ультраструктурну організацію печінки щурів. При проведенні електроно-мікроскопічного дослідження ультраструктурної організації печінки щурів в умовах тривалого впливу ГлПГ-1136 у дозі 1/100 ДЛ₅₀ були виявлені зміни субмікроскопічної архітекtonіки, які характерні для дистрофічних процесів. Тривала інтоксикація простим поліефіром викликала ряд змін ультраструктури гепатоцитів, найбільші зміни спостерігалися у мітохондріях, цистернах ЕПР, лізосомах, рибосомах, цитоплазматичній мембрані.

Ключові слова: поліефіри, ультраструктура печінки.

УДК 591. 48:591. 88:504. 5:543. 39

ВЛИЯНИЕ ПРОСТОГО ПОЛИЭФИРА НА УЛЬТРАСТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ПЕЧЕНИ КРЫС

Наконечная О. А.

Резюме. Изучено влияние простого полиэфира на ультраструктурную организацию печени крыс. При проведении электроно-микроскопического исследования ультраструктурной организации печени крыс в условиях длительного влияния ГлПГ-1136 в дозе 1/100 ДЛ₅₀ были выявлены изменения субмикроскопической архитектуры, характерные для дистрофических процессов. Длительная интоксикация простым полиэфиром вызывала ряд изменений ультраструктуры гепатоцитов, наибольшие изменения наблюдались в митохондриях, цистернах ЭПР, лизосомах, рибосомах, цитоплазматической мембране.

Ключевые слова: полиэфиры, ультраструктура печени.

UDC 591. 48:591. 88:504. 5:543. 39

Influence of Polyether on Ultrastructural Organisation of Rat Liver

Nakonechnaya O. A.

Abstract. The work was carried out at Kharkiv National Medical University within the framework of the scientific problem "The study of mechanisms of the biological effect of polyethers in connection with the problem of environmental protection" (State registration No. 0110U001812).

Polyethers (PE) on the basis of propylene glycols, glycerol and pentol are widely used in industry, agriculture, medicine and everyday life. It was for the above reason that this group of xenobiotics was used. Studies dealing with the effect of toxic substances should take into consideration the state of different functional systems, reserve abilities of the organism and detoxification processes, which are not linear by their nature.

Investigations of the recent years have proved that the effect of numerous chemical hazards on the organism can be first of all accompanied with structural-metabolic disturbances in the liver. Depending upon the nature of the chemical hazard, the duration of its effect and the individual sensitivity of the organism both acute and chronic processes in the liver may develop. Therefore it was interesting to study the influence of polyethers on the liver ultrastructure in rats.

The experiment was made on 20 male Wistar rats, weighing 180-220 g, who were in standard conventional conditions of a vivarium.

The work used a chemical sample of PE with regulated chemical properties. During 30 days the rats received intragastrically on an empty stomach via a probe an aqueous solution of PE based on glycerol (GI) and propylene glycols (PG) with a molecular weight of 1136 (GIPG-1136). After a long-term effect of PG-2106 in 1/100 LD₅₀ electron microscopy revealed a number of dystrophic, and sometimes destructive, disturbances in the submicroscopic organisation of organelles of hepatocytes, stellar macrophagocytes and endotheliocytes of sinusoidal capillaries of the liver.

Thus, electron microscopy of the ultrastructural organisation of the liver in conditions of a long-term effect of PG-2106 in 1/100 LD 50 revealed changes of submicroscopic architectonics, typical for dystrophic processes. Prolonged intoxication with a polyether caused a number of changes in the liver ultrastructure, which consisted in the development of intracellular swelling of hepatocytes and mitochondria, changes in the density of their matrix, partial reduction and loss of cristae, vacuolization and dilation of the endoplasmic reticulum cisterns, increased number of primary lysosomes, redistribution of nucleus chromatin and increased number of ribosomes and glycogen granules.

The revealed changes convincingly confirm previously found disturbances of bioenergetics in hepatocytes with resultant development of hypoxia. Some cells begin to demonstrate signs of development of a destructive process.

The present work investigates the influence of polyethers on ultrastructural organization of rat liver. The electron-microscopic investigation of rat liver ultrastructural organization at conditions of long term influence of GIPG-1136 in 1/100 LD₅₀ revealed alterations of architectonics of hepatocytes. This was characteristic to the beginning of dystrophic processes development. The long-term intoxication with the polyethers evoked a number of alterations of liver ultrastructure. The most pronounced changes were observed in mitochondria, ribosome, cytoplasmic membrane, lysosomes.

Key words: polyethers, ultrastructural organization of liver.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 11. 07. 2014 р.