

електронної щільності секреторних гранул, зменшення площі цитоплазми сероцитів на 10,59% ($p = 0,0129$), площі ядра сероцитів – на 8,53% ($p = 0,4506$) і збільшення ядерно-цитоплазматичного співвідношення на 2,78% ($p = 0,7525$).

Ключевые слова: крысы зрелого возраста, околушная слюнная железа, ультраструктура, морфометрия.

ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF THE PAROTID SALIVARY GLAND OF MATURE RATS UNDER CONDITIONS OF DEHYDRATION AND THE PERIOD OF FURTHER READAPTATION

Biletsky D. P., Ustiansky O. O., Tkach G. F., Sikora V. Z., Maksymova O. S.

Abstract. Water is the basis of the internal environment. Water determines all life processes in organs and tissues, and is an integral part of metabolic processes. The water deficiency brings about the dysfunction or suspension of the synthetic, excretory, detoxification cell functions and the deterioration of functions in the organism. The parotid gland is one of the major salivary glands which performs many functions. The gland produces the largest amount of serous secretion compared with other large salivary glands. The violation of water-salt metabolism is one of the main factors that cause the development of salivary gland pathology.

Thus, studying the morphological features of the parotid gland at dehydration and understanding its restorative capabilities will contribute to the acquisition of new knowledge for the diagnosis, prevention and treatment of salivary glands diseases in humans and animals.

That is why, the purpose of our research is to study ultrastructural characteristics of the parotid gland alteration of mature rats under the influence of the general dehydration of the organism and the subsequent rehabilitation period.

The experiment was carried out on 18 white laboratory male rats of the mature age. Drug studies were conducted using the transmission electron microscope. It was found that the greatest restorative possibilities in serous cells of the parotid salivary glands of mature rats occurred on the 28th day of rehabilitation, which were manifested as the increase in the number of lysosomes, decrease of dilatation of granular endoplasmic reticulum cisterns and tubules of the Golgi apparatus, increase in the electronic density of secretory granules, decrease in the area of serous cells cytoplasm by 10.59% ($p = 0.0129$), the area of serous cells nucleus – by 8.53% ($p = 0.4506$) and increase in the nuclear-cytoplasmic ratio by 2.78% ($p = 0.7525$).

Keywords: mature rats, parotid salivary gland, ultrastructure, morphometry.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 29.10.2017 року

DOI 10.29254/2077-4214-2017-4-3-141-292-304

УДК: 576+577

¹Гарасим Н. П., ¹Бішко-Москалюк О. І., ¹Кулачковський О. Р., ²Луцик М. В., ¹Санагурський Д. І.

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ГІСТАМІНУ ТА ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ

¹Львівський національний університет імені Івана Франка (м. Львів)

²Львівський науково-дослідний

експертно-криміналістичний центр МВС України (м. Львів)

garasymnataly@gmail.com

Робота є фрагментом НДР «Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз та системи мембранного транспорту біоб'єктів за дії фізико-хімічних чинників» (науковий керівник: д-р біол. наук, проф. Санагурський Д. І., № державної реєстрації: 0116U001633).

Вступ. Гістамін (2-[4-імідазоліл] етиламін) вперше був описаний як ендогенна речовина в 1910 р., а як медіатор алергічних реакцій – в 1932 р. Гістамін синтезується з амінокислоти гістидину за участю коферменту піридоксальфосфату (похідне вітаміну В6) і ферменту L-гістидиндекарбоксилази. Він виробляється в тканинних базофілах, базофілах крові, тром-

боцитах і деяких нейронах, де знаходиться внутрішньоклітинно в пухирцях і виділяється при стимуляції. Гістамін є потужним медіатором ряду біологічних реакцій (бронхоспазм, тахікардія, аритмія, головокружіння, головна біль, алергічне висипання на шкірі та ін.). Крім дегрануляції тканинних базофілів, яка здійснюється через сполучення антитіл класу IgE з поверхнею клітин після зв'язування ними алергену, виділення гістаміну може проходити незалежно від IgE. IgE-незалежне вивільнення гістаміну регулюється циклічними нуклеотидами цАМФ і цГМФ, котрі виступають як вторинні месенджери. Тригери (такі як гістамін чи β-адренергічна стимуляція) підвищу-

ють концентрацію цАМФ, яка інгібує дегрануляцію тканинних базофілів шляхом негативного оберненого зв'язку. Вивільнення гістаміну збільшується за дії подразників, що понижують концентрацію цАМФ (α -адренергічних і холінергічних), певних цитокінів, що вивільняються під час запалення, а також зв'язуванні комплемент-факторів C5a і C3a додатковими рецепторами тканинних базофілів. Такими «неалергічними» факторами, що зумовлюють вивільнення гістаміну, можуть бути лікарські препарати, продукти харчування, хімічні і фізичні агенти, гіпоксія, нейропептиди, ензими, наприклад фосфоліпаза [1,10,24].

Дія гістаміну опосередкована через його взаємодію з чотирма G-білокзв'язаними рецепторами (H1, H2, H3 і H4). Активація чи інгібування гістамінових рецепторів запускає сигнальні шляхи, викликаючи імунomodуючу чи прозапальну клітинну відповідь. Головним сигналом H1 рецептора є індукція зв'язування ліганду та активація фосфоліпази C та генерація інозитол-1,4,5-трифосфату, а також 1,2-діацилгліцеролу, що веде до збільшення цитозольного Ca^{2+} . H2 рецептор пов'язаний з аденілатциклазою та фосфоінозитидом вторинною сигнальною системою через окремі GTP-залежні механізми. Гістамін є сильним стимулятором накопичення цАМФ у багатьох клітинах і H2-залежна сигналізація гістаміну, як правило, опосередкована через цАМФ. Навпаки, активація H3-рецептора викликає гальмування утворення цАМФ, накопичення Ca^{2+} та стимуляцію мітоген-активованої протеїнкінази. H4-рецептор експресується у багатьох ділянках тіла, в тому числі кишкової тканини (intestinal tissue), базофілах та тканинних базофілах. Подібно до H3-рецептора, сигнальні механізми H4-рецептора запускають гальмування аденілатциклази та зниження потоку цАМФ-відповіді елементів, а також активацію мітоген-активованої протеїнкінази [24,25].

В медицині як дезінтоксикант використовують гіпохлорит натрію (ГХН). Цю речовину офіційно застосовують для знезараження водопровідної води [21]. Розчин ГХН є електрохімічною моделлю цитохрому P-450 печінки, тому він ефективно діє на різні шкідливі сполуки, проявляючи дезінфікуючий та детоксикуючий ефект. Суттєвою перевагою ГХН як переносника активного кисню є те, що він дозволяє обійти ефект «білкового захисту» шкідливих метаболітів. ГХН постійно присутній в організмі, як один з головних компонентів природних факторів дезінтеграції інфекційного агента в лейкоциті [15]. Потрапляючи у кров'яне русло, він окиснює токсини та різні метаболіти. Широке застосування препаратів для корекції вивільнення та метаболізму гістаміну, в медичній практиці базується на використанні двох груп препаратів: блокувальних гістамінових рецепторів (дімедрол, фенкарол та ін.); стабілізаторів плазматичної мембрани клітин, які містять гістамін (кромолін-натрій та ін.). Проте негативна побічна дія (галюцинації, головний біль, запаморочення, судоми, підвищення активності печінкових ферментів та ін.) зумовлює пошук інших безпечних шляхів інактивації та зниження вмісту гістаміну в біологічних тканинах [17]. З цієї метою також увагу до себе привертає

гіпохлорит натрію. Крім того важливо вивчити безпечність застосування ГХН у медицині для лікування пацієнтів, які мають алергічні прояви, а значить і надмірне виділення гістаміну тканинними базофілами та базофілами крові. Відомо, що гістамін легко піддається окисненню. Є відомості, що ГХН знижує вміст гістаміну в крові людей за важких отруєнь психофармакологічними речовинами [14]. Провівши детальний пошук серед наукової літератури нам не вдалося віднайти інформації щодо безпосереднього впливу гістаміну на структурні особливості тканин печінки, оскільки відомо, що на мембранах клітин цих органів розташовані рецептори до гістаміну. Невивченим залишається також питання взаємної дії гістаміну і гіпохлориту натрію на морфологію клітин різних тканин організму. Попередньо нами був поставлений дослід, згідно якого ми вивчили дію гістаміну та ГХН на прооксидантно-антиоксидантний стан органів щурів (легені, серце, плазма крові, нирки, печінка) [2,3,4,5,19]. У даній серії експериментів ми мали на меті дослідити вплив гістаміну та ГХН на інтактних тварин, а також сумісну дію цих речовин на клітини печінки щурів.

Отже, дослідження такого плану матимуть важливе значення для розуміння механізму дії ГХН та гістаміну на клітинному рівні й відкриють широкі можливості для профілактики різних типів захворювань, що супроводжуються вивільненням гістаміну з тканинних базофілів та базофілів крові.

Мета дослідження: вивчити вплив гістаміну і ГХН на якісні (за допомогою світлової і електронної мікроскопії) та кількісні (за допомогою морфометричного аналізу) показники печінки щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Дослід проводили на білих нелінійних щурах-самцях. Маса тварин була в межах 180–220 г. Експеримент тривав 21 добу. Перша група тварин слугувала контролем. Тваринам другої та третьої груп на протязі 14-ти днів підшкірно вводили розчини гістаміну у дозі 1 та 8 мкг/кг, відповідно (розчини гістаміну готували, використовуючи гістамін дигідрохлорид). Дози гістаміну є такими, які зумовлюють патологічні прояви в експериментальних умовах [7]. Четвертій групі тварин одночасно вводили гістамін, концентрацією 1 мкг/кг, та ГХН у концентрації 5 мг/л. П'ятій групі одночасно вводили гістамін, у концентрації 1 мкг/кг та ГХН, концентрацією 20 мг/л. Шостій і сьомій групі щурів одночасно підшкірно вводили гістамін (концентрацією 8 мкг/кг) та випоювали ГХН, концентрацією 5 мг/л та 20 мг/л, відповідно. З метою виявлення впливу ГХН на структурні та функціональні параметри клітин інтактних щурів, нами було сформовано ще восьму і дев'яту групи, де тваринам випоювали ГХН у концентраціях 5 та 20 мг/л, відповідно. З 14-ї доби тваринам припиняли підшкірне введення гістаміну та випоювання ГХН. В період з 14-ї до 21-ї доби досліду щурі перебували на реабілітації.

На 1-шу, 7-му, 14-ту, 21-шу доби досліду по 5 тварин декапітували під легким ефірним наркозом з дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою (Страсбург, Франція 1986) та згідно з «Загальними принципами

роботи на тваринах”, затвердженими І Національним конгресом по біоетиці (Київ, Україна, 2001). Відбирали ліву часточку печінки. Тканини фіксували у формаліні (15%). Виготовляли гістозрізи (товщиною до 10 мкм), які фарбували гематоксилін-еозином. Гістопрепарати вивчали за допомогою мікроскопа МБР-3 при збільшенні $\times 10$, $\times 40$. Фотографування здійснювали фотокамерою HIGH PERFORMANCE COLOR CCD CAMERA VISION, під'єднаною до мікроскопа МБР-3 і комп'ютера LG (програма OLYMPUS DP-Soft). Отримані зображення тканин печінки опрацьовували, використовуючи комп'ютерну програму Image J [16]. За допомогою цієї програми визначали такі морфометричні показники: 1) площа профілю гепатоцита (Скл), мкм²; 2) периметр профілю гепатоцита (Ркл), мкм; 3) площа профілю ядра гепатоцита (Ся), мкм²; 4) периметр профілю ядра гепатоцита (Ря), мкм; 5) відношення Ся до Скл (Ся:Скл); 6) коефіцієнт форми гепатоцита ($F=P^2/4PS$; де P – периметр, S – площа об'єкта, $P=3,14$). Якщо F рівне 1, то це свідчить, що округлість клітини є ідеальною. Чим ближче значення F до 0, тим більше витягнутою буде округлість; 7) коефіцієнт елонгації гепатоцита (KE) – відношення більшого діаметра клітини до меншого; 8) кількість вакуолізованих клітин; 9) кількість клітин, ядра яких містять два і більше ядерця.

Статистичне опрацювання результатів досліджень проводили з використанням програми „Excel-2010” для Windows. Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками двох альтернативних сукупностей даних вираховували коефіцієнт Стьюдента. Достовірною вважалася різниця при показнику $p \geq 0,95$, $p \geq 0,99$, $p \geq 0,999$.

Проводили електронно-мікроскопічне дослідження печінки щурів 1-ї, 3-ї, 6-ї, 7-ї експериментальних груп на 7-му та 14-ту доби досліду. Для електронної мікроскопії зразки тканин фіксували (протягом 1 год. при $t = 4^\circ\text{C}$) 1,5% розчином глютарового альдегіду в 0,2 М какодилатному буфері (pH 7,2). Після цього зразки промивали какодилатним буфером і додатково фіксували 2%-ним розчином чотирьохокису осмію в тому ж буфері протягом 1 год. ($t = 4^\circ\text{C}$). Препарати відмивали від фіксаторів і обезводнювали в зростаючих концентраціях етилового спирту (50° , 70° , 90° і 100°). Додатково обезводнювали в 2-х змінах окису пропілену і поміщали в епоксидну смолу епон-812. Для виготовлення зрізів використовували ультрамікромом УМТП-6 з алмазним ножом. Ультразрізи контрастували 2%-ним розчином ураніацетату протягом 15 хв. і додатково цитратом свинцю за Рейнольдсом [23]. Зрізи переглядали і фотографували за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа ПЕМ-100 [8, 18].

Результати досліджень та їх обговорення. Нами встановлено, що гістамін у дозі 1 мкг/кг зумовлює появу вакуолей у цитоплазмі гепатоцитів щурів впродовж всього часу підшкірного його введення (14 діб), тоді як гістамін у вищій досліджуваній дозі (8 мкг/кг) веде до вакуолізації клітин на 1-шу та 7-му доби експерименту (табл. 1, рис. 1, б). Варто зазначити, що ступінь вакуолізації клітин зростає після реабілітаційного періоду (на 21-шу добу) як за дії гістаміну нижчої дози, так і за впливу вищої. Підвищен-

ня кількості клітин з вакуолізованою цитоплазмою свідчить про порушення водно-сольового обміну, внаслідок посилення гістаміном проникності судин, та накопичення продуктів розпаду. Структурні ушкодження клітин печінки за впливу гістаміну пов'язані також з тим, що ця сполука згущує кров, а це веде до пониження оксигенації печінки. У відповідь на підвищений рівень гістаміну в печінці повинна зростати активність гістамінази (ферменту який інактивує гістамін) і, як наслідок, ймовірно утворюється значна кількість NH_3 , який має знешкоджуватися мітохондріями цього органу, до сечовини [11]. За різних патологічних станів аміак може не включатися в цикл сечовини та з'єднуватися з α -кетоглутаровою кислотою і виключати її з циклу Кребса [11]. Цим самим гальмується продукція АТФ і зменшується вихід енергії. Функція клітин знижується. На фоні гідропічної дистрофії, про що вказує вакуолізація гепатоцитів, відбувається зростання клітин, ядра яких мають два і більшу кількість ядерць (табл. 1, рис. 1, б). Це відбувається, ймовірно, внаслідок активації компенсаторно-приспосувальних реакцій у печінці у відповідь на дію гістаміну обох досліджуваних концентрацій. Ступінь підвищення вмісту багатоядерцевих ядер клітин корелює із ступенем зростання вакуолізованих гепатоцитів.

Гістамін у обох досліджуваних дозах зумовлює незначне зменшення периметра профілю гепатоцитів приблизно на 30%, починаючи з 7-ї доби його дії (табл. 2). Периметр профілю ядер знижується вже з першої доби дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг. Поряд із пониженням периметра профілю клітин, відбувається спадання показника площі профілю гепатоцитів. Потрібно зазначити, що найбільш виражене пониження площі профілю гепатоцитів та площі профілю їхніх ядер (на 61% та 58%, відповідно) відбувається після реабілітаційного періоду, після дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг (табл. 2). У гепатоцитах за дії гістаміну в дозі 1 мкг/кг з'являється тенденція до збільшення показника Ся:Скл, тоді як гістамін у дозі 8 мкг/кг веде до зниження цього співвідношення, що свідчить про структурно-функціональні зміни клітин (табл. 2).

Потрібно відмітити, що гістамін у обох дозах (1 мкг/кг та 8 мкг/кг) на 7-му добу досліду викликає підвищення показника коефіцієнта форми профілю гепатоцитів на 13% і 18%, відповідно, що свідчить про збільшення округлості клітин печінки (табл. 1). В цей час відбувається більш виражене зростання кількості клітин із вакуолізацією цитоплазми та клітин, ядра яких містять два і більше ядерць. Це вказує на те, що гістамін на 7-му добу досліду порушує обмінні процеси у гепатоцитах, викликає гідропічну дистрофію, за рахунок змін водно-електролітного та білкового обміну, які призводять до змін колоїдно-осмотичного тиску в клітині [12]. За рахунок цього змінюється округлість гепатоцитів.

За допомогою електронної мікроскопії встановлено, що досліджуваний біогенний амін призводить до ушкодження мітохондрій, ендоплазматичної сітки. Так, на 7-му добу дії гістаміну виявлено набубнявіння мітохондрій, які набувають кулястої форми. Матрикс окремих мітохондрій низької електронної щільності, що свідчить про зміну його хімічного складу та про

МОРФОЛОГІЯ

Таблиця 1.

Коефіцієнт елонгації профілю клітин (КЕ), коефіцієнт форми профілю клітин (F), клітини з вакуолізацією цитоплазми, клітини, ядра яких мають два і більшу кількість ядерць у печінці щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію

	№ групи	КЕ, M±m	p	Fкл, M±m	p	Вакуолізовані клітини, M±m	p	Багатоядерцеві клітини, M±m	p
1 доба	Контроль	1,3±0,1		0,845±0,02		0±0		0,8±0,37	
	Гістамін, 1 мкг/кг	1,2±0,03	*	0,775±0,02	*	1,8±0,49	*	10,8±1,15	***
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,2±0,04	0,83	0,842±0,04	0,05	3±0,44	**	25,4±0,6	***
	ГХН, 5 мг/л	1,2±0,03	0,78	0,851±0,01	0,22	2,8±0,37	**	40±1,3	***
	ГХН, 20 мг/л	1,4±0,08	0,32	0,832±0,007	0,56	1,8±0,8	0,91	1,6±0,24	0,88
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	1,3±0,01	0,52	0,829±0,02	0,38	0,8±0,37	0,9	18,4±0,74	***
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	1,223±0,01	*	0,858±0,01	0,39	35,6±0,81	***	0,2±0	0,9
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	1,365±0,07	0,16	0,853±0,02	0,24	2,4±0,4	**	15,2±0,68	***
	Гістамін, 8 мкг/л+ ГХН, 20 мг/л	1,306±0,07	0,34	0,822±0,02	0,56	3±0,47	**	16,2±0,58	***
7 доба	Контроль	1,445±0,09		0,774±0,02		0,4±0,24		3,6±0,4	
	Гістамін, 1 мкг/кг	1,298±0,08	0,72	0,875±0,02	***	13,2±0,73	***	18±0,95	***
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,203±0,05	0,94	0,912±0,003	***	6±0,54	***	33,4±0,74	***
	ГХН, 5 мг/л	1,327±0,05	0,68	0,864±0,01	***	18,2±0,86	***	4,4±0,67	0,65
	ГХН, 20 мг/л	1,375±0,041	0,46	0,876±0,02	***	36,8±0,73	***	1,2±0,2	**
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	1,253±0,02	0,89	0,781±0,04	0,21	5,8±0,58	***	19,8±0,58	***
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	1,321±0,1	0,59	0,865±0,008	***	48,2±0,8	***	2±0,47	*
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	1,405±0,06	0,27	0,869±0,025	**	2,8±0,73	*	20,2±0,86	***
	Гістамін, 8 мкг/л+ ГХН, 20 мг/л	1,304±0,07	0,72	0,832±0,009	*	6,4±0,67	***	16,6±0,51	***
14 доба	Контроль	1,493±0,06		0,772±0,01		0,2±0,2		1,6±0,4	
	Гістамін, 1 мкг/кг	1,407±0,03	0,77	0,794±0,02	0,65	2,4±0,51	*	5,8±0,8	**
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,384±0,05	0,8	0,765±0,03	0,17	0,4±0,24	0,45	4,2±0,2	**
	ГХН, 5 мг/л	1,262±0,03	*	0,879±0,01	***	8,6±0,74	***	38,4±0,67	***
	ГХН, 20 мг/л	1,194±0,02	**	0,896±0,005	***	3,2±0,37	***	3,2±0,58	0,94
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	1,275±0,02	*	0,749±0,02	0,68	13,2±0,97	***	21±1,37	***
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	1,225±0,015	**	0,845±0,01	**	22,2±2,47	***	0,6±0,24	0,93
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	1,239±0,023	**	0,853±0,02	**	13,2±0,73	***	33±0,7	***
	Гістамін, 8 мкг/л+ ГХН, 20 мг/л	1,275±0,02	*	0,889±0,007	***	4,4±0,51	***	24,8±0,86	***

МОРФОЛОГІЯ

21 доба	Контроль	1,334±0,85		0,859±0,02		4,6±0,6		1,8±0,94	
	Гістамін, 1 мкг/кг	1,263±0,05	0,5	0,835±0,02	0,6	10,8±0,58	***	19±1,45	***
	Гістамін, 8 мкг/кг	1,425±0,051	0,61	0,777±0,02	*	14,4±1,24	***	44,4±1,56	***
	ГХН, 5 мг/л	1,449±0,05	0,72	0,842±0,01	0,57	6±0,55	0,88	29,2±0,73	***
	ГХН, 20 мг/л	1,263±0,054	0,5	0,852±0,02	0,24	11,2±0,58	***	9,8±0,66	***
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	1,223±0,045	0,71	0,872±0,02	0,36	9,4±0,74	**	17±0,94	***
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	1,392±0,092	0,35	0,847±0,004	0,53	15±1	***	0,4±0,24	*
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	1,265±0,044	0,5	0,886±0,009	0,79	5,8±0,66	0,78	32,6±0,6	***
	Гістамін, 8 мг/л+ ГХН, 20 мг/л	1,155±0,018	0,89	0,908±0,005	*	18,8±0,96	***	0,6±0,24	*

ушкодження мембранної проникності (рис. 2, б, в). Мітохондріальні зміни є, більшою мірою, типовими для гепатоцитів за впливу гістаміну у дозі 8 мкг/кг на 14-ту добу досліджу (рис. 2, в). У клітинах печінки за дії гістаміну на 7-му добу переважає агранулярна ендоплазматична сітка, яка втрачає свою структурованість (відбувається фрагментація з утворенням дрібних пухирців), що свідчить про пониження біосинтетичних процесів та про накопичення рідини, з'являється значна кількість вторинних лізом, піноцитозних пухирців. В цей час в окремих гепатоцитах відбувається початковий некроз [8], який проявляється через збільшення електронної щільності гіалоплазми за рахунок коагуляції білків, контракції колоїдів, які виходять за межі фізіологічної норми, та руйнування мембранних структур, в основному агранулярної ендоплазматичної сітки (рис. 2, б, в). В цитоплазмі часто зустрічаються жирові гранули. Нами встановлено наявність у гепатоцитах великого розміру лізосом (телолізосом), які містять ліпопігменти, тобто продукти, які ензими лізосом важко розщеплюють або взагалі не розщеплюють (рис. 2, в). Після розчинення лізосомальної мембрани вони довгий час знаходяться в цитоплазмі, і лише в поодиноких випадках залишають клітину. Ліпопігментами прийнято називати групу цитоплазматичних гранул і включень від жовтого до темно-коричневого кольору, які містять білки і важкорозчинні ліпіди; їхній колір обумовлений продуктами окиснення і полімеризації ненасичених жирних кислот. Лізосомне походження ліпопігментів науково підтверджено біохімічно, гістохімічно і електронно-мікроскопічно. Ліпопігменти поділяють на ліпофусцин, що зустрічається в паренхіматозних і нервових клітинах, і цероїд, який утворюється в макрофагах [13]. Отже, в досліджуваних гепатоцитах, а саме в телолізосомах наявний ліпофусцин. Підшкірне введення щурів гістаміну зумовлює підвищення вмісту гетерохроматину в ядрах, тоді як у контрольних зразках переважає еухроматин. На 7-му добу досліджу в ядрах окремих гепатоцитів гістамін у концентрації 8 мкг/кг веде до тотальної конденсації хроматину по всій площі (рис. 2, в). Вважаємо, що такі зміни є початковим

пікнозом ядер, одним із типів необоротних морфологічних змін. За дії гістаміну як на 7-му, так і на 14-ту добу відбувається втрата типових для гепатоцитів ансамблів мітохондрій з ендоплазматичною сіткою.

Отже, гістамін у гепатоцитах щурів зумовлює гідропічну дистрофію, яка пов'язана з порушенням структури мітохондрій та ендоплазматичної сітки внаслідок, ймовірно, зміни водно-сольового і білкового обміну. Відомо, що білки, складають близько 4,5% від маси жовчних міцел. В жовчі є декілька десятків протеїнів з молекулярною масою від 6 до 220 кДа. Основна маса білків є глобулінами, а менша – альбумінами крові, які за допомогою ендцитозу захоплюються на синусоїдальній мембрані гепатоцита і після трансцитозу викидаються екзоцитозом в жовчні капіляри. Невелика частина білків жовчі синтезується в гепатоциті і також поступає в жовч [9]. Більш виражений негативний вплив гістаміну на печінку щурів виявлений на 7-му добу.

Провівши морфометричний аналіз нами встановлено, що вполювання інтактним тваринам ГХН у концентрації 5 мг/л веде до появи клітин із вакуолізацією цитоплазми впродовж всього терміну дії даного чинника (рис. 1, в). ГХН у концентрації 20 мг/л справляє такий самий ефект, починаючи з 7-ї доби (табл. 1). Важливо зазначити, що найбільша ступінь вакуолізації гепатоцитів зафіксована на 7-му добу досліджу, за дії ГХН обох досліджуваних концентрацій. Після реабілітаційного періоду вакуолізація цитоплазми гепатоцитів зберігається лише після впливу ГХН у концентрації 20 мг/л. Цікаво зазначити, що ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює значне підвищення вмісту багатоядерцевих ядер гепатоцитів (крім 7-ї доби) впродовж досліджу (табл. 1). У клітинах печінки щурів за дії ГХН у концентрації 20 мг/л на 7-му добу досліджу виявлено зниження кількості багатоядерцевих ядер на 67%, що свідчить про пониження функціональної активності. На 21-шу добу (реабілітація) у гепатоцитах вміст багатоядерцевих клітин зростає, порівняно з контролем (рис. 1, г). Таким чином, можна твердити, що ГХН у нижчій досліджуваній концентрації зумовлює активацію пластичних функцій гепатоцитів, тоді як ГХН у вищій кон-

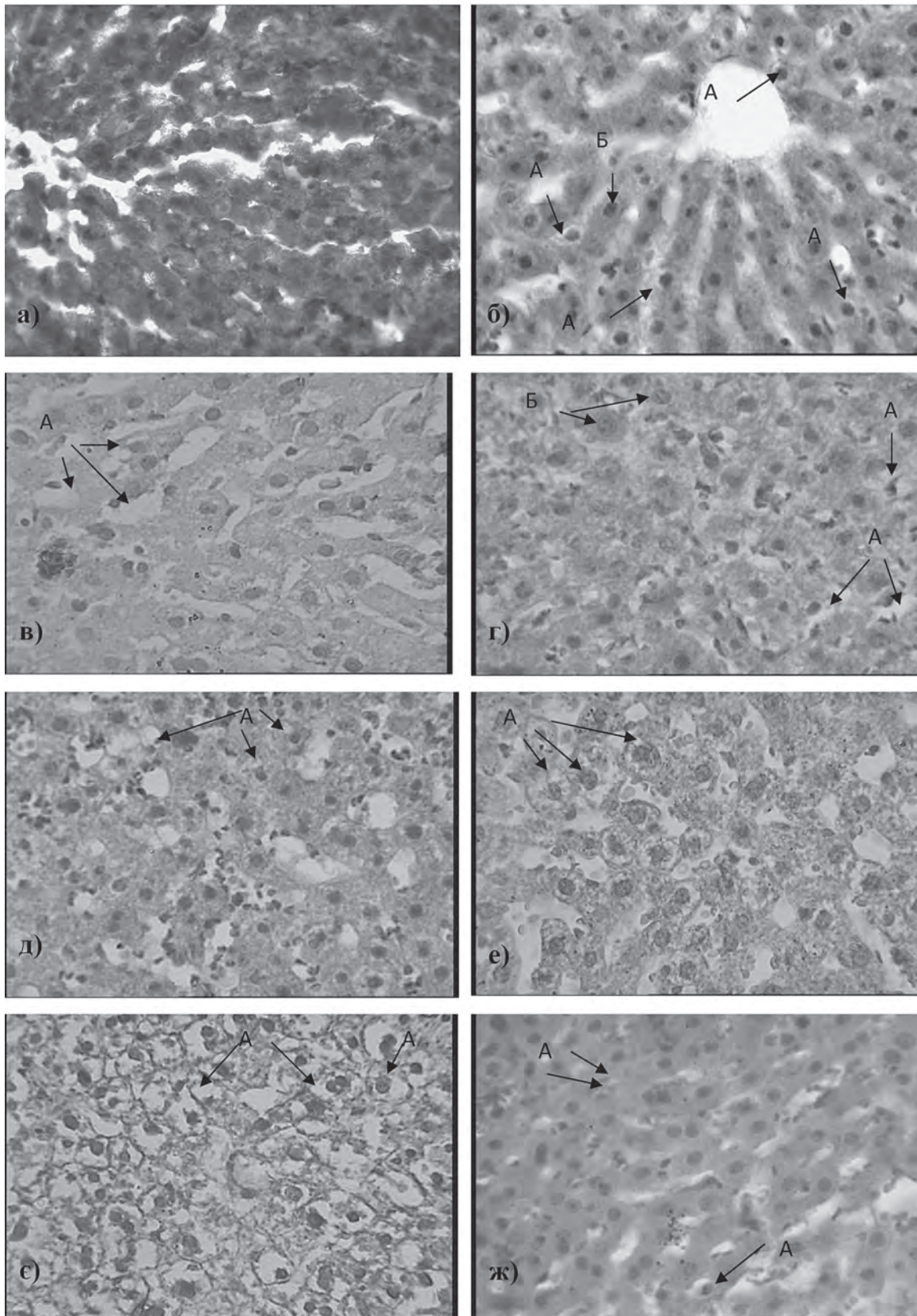


Рис. 1. Печінкова часточка щурів. Забарвлення гематоксилін-еозином. Ок. 10, об. 40; а) контроль, 7 доба; б) гістамін, 8 мкг/кг, 7 доба; в) гіпохлорит натрію, 5 мг/л, 7 доба; г) гіпохлорит натрію, 20 мг/л, 21 доба; д) гіпохлорит натрію, 5 мг/л та гістамін, 1 мкг/кг, 14 доба; е) гіпохлорит натрію, 5 мг/л та гістамін, 8 мкг/кг, 14 доба; є) гіпохлорит натрію, 20 мг/л та гістамін, 1 мкг/кг, 7 доба; ж) гіпохлорит натрію, 20 мг/л та гістамін, 8 мкг/кг, 14 доба.

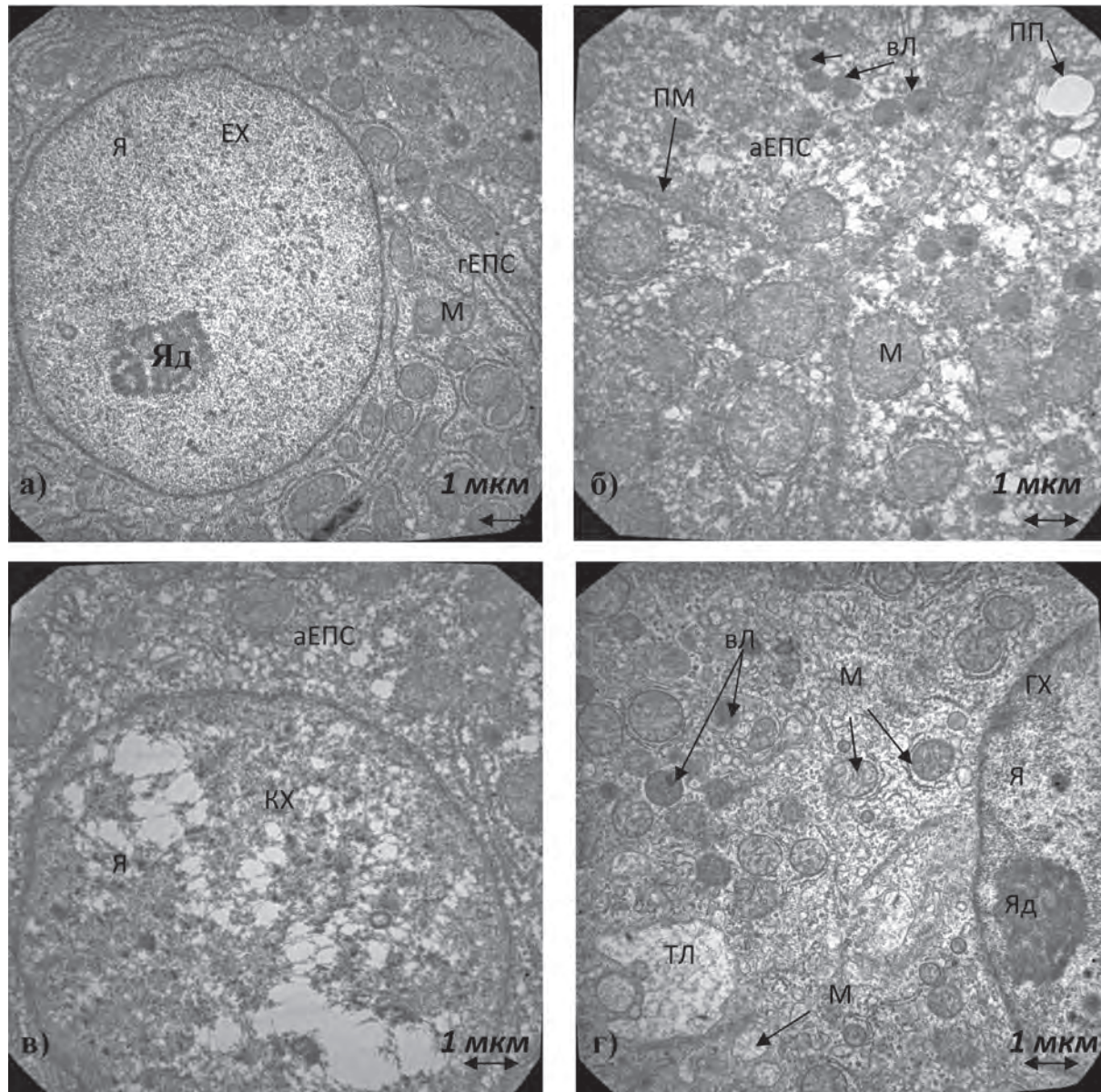


Рис. 2. Електронна мікрофотографія клітини печінки щурів: а) контроль, 7 доба. $36. 20000$; б) гістамін, 8 мкг/кг, 7 доба. $36. 22000$; в) гістамін, 8 мкг/кг, 7 доба. $36. 22000$; г) гістамін, 8 мкг/кг, 14 доба. $36. 20000$. Тут і далі: Я – ядро; Яд – ядерце; М – мітохондрія; гЕПС – гранулярна ендоплазматична сітка; аЕПС – агранулярна ендоплазматична сітка; вЛ – вторинна лізосома; ПП – піноцитозний пухирець; ПМ – плазматична мембрана; ТЛ – телолізосома; КХ – конденсація хроматину; ЕХ – еухроматин; ГХ – гетерохроматин.

центрації, навпаки. На 1-шу добу досліду за дії ГХН відбувається зниження площі профілю клітин і ядер та периметр профілю клітин і ядер, проте вже на 7-му добу відбувається зниження тільки площі і периметра профілю клітин. В цей час показники площі і периметра профілю ядер гепатоцитів повертаються до меж контролю. За дії ГХН обох досліджуваних концентрацій як на 14-ту, так і на 21-шу доби досліду зберігається пониження показників площі і периметра профілю клітин приблизно на 30%, порівняно з контролем (**табл. 2**). Потрібно зазначити, що ГХН у концентрації 20 мг/л зумовлює зростання площі і периметра профілю ядер у гепатоцитах на 14-ту добу досліду на 19 та 13%, відповідно, що є ознакою набрякання ядра. Потрібно зазначити, що на 7-му добу

досліду показник $S_{я}:S_{кл}$ зростає на 59% за впливу ГХН обох досліджуваних концентрацій (**табл. 2**). Оскільки в цей час площа і периметр ядер є в межах контролю, а площа і периметр гепатоцитів знижені, то вказаний показник ($S_{я}:S_{кл}$) свідчить про зміни, які відбуваються саме у цитоплазмі клітин. Коефіцієнт форми профілю гепатоцитів на 7-му і 14-ту добу зростає приблизно на 14%, а також понижується коефіцієнт елонгації за дії ГХН (5 і 20 мг/л), що свідчить про зростання округлості клітин (**табл. 1**).

Потрібно зазначити, що у печінкових часточках за дії ГХН у концентрації 20 мг/г на 1-шу добу досліду зростає просвіт синусоїдів між трабекулами, проте вже на 21-шу добу простежується протилеж-

МОРФОЛОГІЯ

Таблиця 2.

Площа, периметр профілю клітин та ядер, відношення площі профілю ядра до площі профілю клітини у печінці щурів за дії гістаміну та гіпохлориту натрію

	№ групи	Скл, мкм ² M±m	ρ	Ся, мкм ² M±m	ρ	Відношення Ся:Скл	Ркл, мкм M±m	ρ	Ря, мкм M±m	ρ
1 доба	Контроль	522,7±18,9		85,6±4,4		0,164	88,1±0,5		34,1±0,9	
	Гістамін, 1 мкг/кг	421,8±22,8	**	80,2±6,2	0,52	0,190	82,5±2,6	0,89	34,3±1,9	0,06
	Гістамін, 8 мкг/кг	428,8±39,8	0,92	59,5±3,7	***	0,139	79,6±3,4	0,93	26,2±0,9	***
	ГХН, 5 мг/л	407,8±8,3	**	55,4±1,9	***	0,135	77,2±0,7	***	26,6±0,7	***
	ГХН, 20 мг/л	424,1±23,2	*	67,6±2,2	**	0,159	77,03±2,2	**	31,5±0,5	*
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	408,3±14,7	**	69,9±2,1	**	0,171	78,1±1,9	**	29,4±0,5	**
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	511,1±15	0,35	71,4±3,4	*	0,139	86,7±1,5	0,57	28,8±0,8	**
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	475,1±37,8	0,7	127,1±10,5	*	0,267	82,9±2,9	0,84	42,2±1,7	**
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	399,3±5,9	**	57,6±1,5	***	0,144	78,1±0,8	***	28,4±0,6	**
7 доба	Контроль	494,3±11,2		68,7±11,2		0,139	90,4±1,5		32,8±2,5	
	Гістамін, 1 мкг/кг	396,4±17,8	**	52,3±2,8	0,78	0,131	77,1±1,5	***	27,4±0,5	0,9
	Гістамін, 8 мкг/кг	341,3±7,9	***	44,2±2,4	0,9	0,129	69,1±0,9	***	25,4±0,7	*
	ГХН, 5 мг/л	312,4±15,7	***	69,2±1,3	0,3	0,221	67,2±1,4	***	31,9±0,6	0,23
	ГХН, 20 мг/л	431,6±17,6	*	95,8±6,8	0,92	0,222	77,6±1,5	***	36,7±1,3	0,78
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	427,1±13	**	64,2±4,7	0,28	0,150	80,9±1,3	**	27,2±0,9	0,91
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	397,9±12,4	***	68,4±1,9	0,2	0,171	75,9±0,9	***	29,8±0,5	0,69
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	437,9±16,8	*	80,9±4,7	0,64	0,184	79,5±2,2	**	33,8±0,9	0,28
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	353,3±12,4	***	78,5±1,9	0,57	0,222	71±0,9	***	31,5±0,5	0,38
14 доба	Контроль	507,6±31		77,3±2,2		0,152	90,5±3,1		31,9±0,8	
	Гістамін, 1 мкг/кг	336,6±19,8	**	56,5±2,9	***	0,168	73,8±2,2	**	28,3±1,3	0,94
	Гістамін, 8 мкг/кг	311,1±9,4	**	44,7±3,4	***	0,144	74,3±2,5	**	27±1,4	*
	ГХН, 5 мг/л	413,6±16,5	*	63,9±2,2	**	0,154	76,7±1,3	**	27,2±0,4	**
	ГХН, 20 мг/л	424,6±8,2	*	92,7±0,9	***	0,218	78,2±0,8	*	35,9±0,3	**
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	303,8±21,7	**	42,1±3,2	***	0,138	70,4±2,7	**	22,5±1	***
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	511,7±12,7	0,09	84,7±1,9	*	0,165	87,7±1,8	0,52	34,3±0,4	*
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	583,6±29,6	0,89	88,8±2,1	**	0,152	90,3±2,3	0,05	35,6±0,6	**
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	327,9±4,4	**	52,9±1,6	***	0,161	68,1±0,3	**	26,9±0,6	**
21 доба	Контроль	562,8±23,2		113,3±1,7		0,201	90,3±1,7		40±0,3	
	Гістамін, 1 мкг/кг	220,02±3	***	47,5±1	***	0,216	56,2±0,7	***	25,5±0,5	***
	Гістамін, 8 мкг/кг	350,5±4,1	***	63,3±2,7	***	0,180	73±1,2	***	28,5±0,9	***
	ГХН, 5 мг/л	346,9±23,5	***	41,3±1,3	***	0,119	71,1±2,4	***	24,6±0,5	***
	ГХН, 20 мг/л	232,2±4,4	***	48,9±0,7	***	0,210	59,5±0,5	***	24,4±0,3	***
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	422,9±4,5	**	98,7±3,2	**	0,233	78,5±0,4	**	39,6±0,5	0,46
	Гістамін, 1 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	474,9±16,4	*	82,6±3,9	***	0,174	83,7±1,5	*	34,5±0,4	***
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 5 мг/л	337,1±14,9	***	71,8±5,5	***	0,213	69±1,7	***	31,4±1	***
	Гістамін, 8 мкг/кг+ ГХН, 20 мг/л	368,5±14,8	***	59,8±2	***	0,162	77±1,4	***	29,9±0,5	***

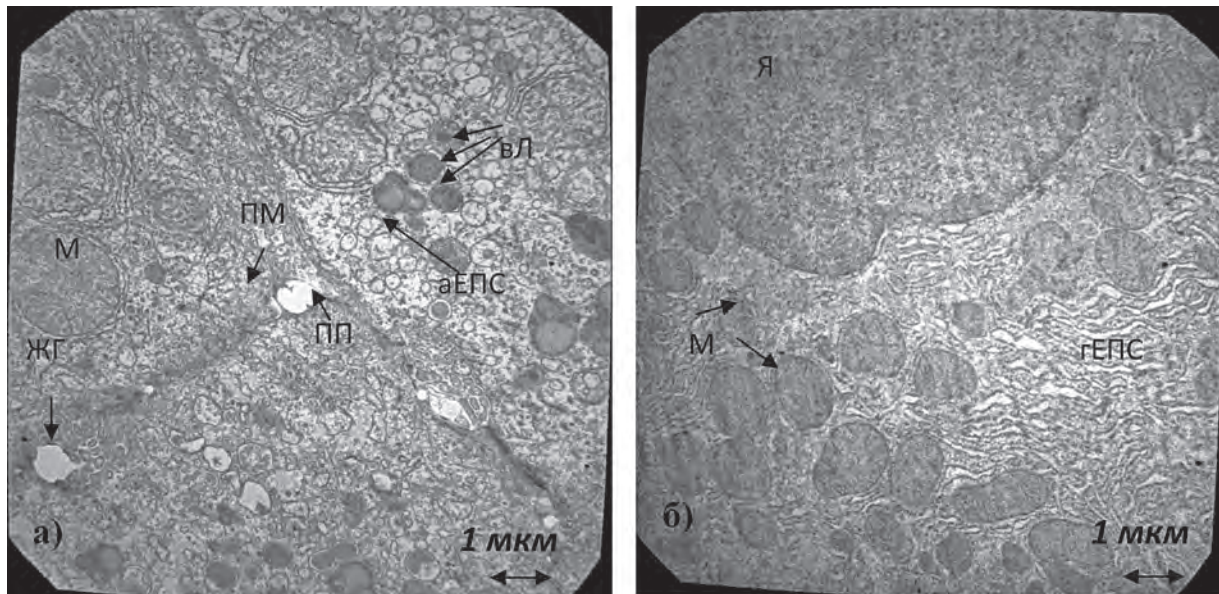


Рис. 3. Електронна мікрофотографія клітини печінки щурів за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 5 мг/л: а) 7 доба дослідю. Зб. 20000; б) 14 доба дослідю. Зб. 20000. Тут і далі: ЖГ – жирова гранула.

ний ефект, що веде до порушення прохідності крові та жовчі у печінці (рис. 1, г).

Негативна дія ГХН вищої досліджуваної концентрації пов'язана з тим, що ця речовина має потужні окисні властивості, а ступінь впливу залежить від її концентрації [22]. ГХН вступає в реакцію з органічними речовинами, викликаючи декарбоксилювання органічних кислот тканин, наприклад амінокислот, ненасичених жирних кислот [26].

Наші результати узгоджуються з даними літератури, де показано (у дослідях *in vitro*), що 0,025–0,0025% ГХН викликає цитоплазматичну вакуолізацію, набрякання мітохондрій та розширення ендоплазматичної сітки у фібробластах та ендотеліальних клітинах та 90% інгібування нейтрофілів, міграцію, проте не загибель клітин [20].

Одночасне вживання ГХН у концентрації 5 мг/л і підшкірне введення щурам гістаміну в дозі 1 і 8 мкг/кг зумовлює зростання вакуолізованих гепатоцитів, порівняно з контролем (рис. 1, д, е). Ступінь вакуолізації підвищується до 21-ї доби дослідю. Проте, потрібно відмітити, що, порівнюючи з групами тварин, яким лише підшкірно вводили гістамін, кількість гепатоцитів з ознаками вакуолізації цитоплазми є нижчою (табл. 1). Комбінація речовин ГХН (5 мг/л) та гістаміну (8 мкг/кг) у печінці щурів зумовлює підвищену кількість еритроцитів в синусоїдах, що пов'язано з зростанням проникності судин. Відомо, що гістамін веде до підвищення проникності стінок судин, а ГХН розріджує кров (рис. 1, е). ГХН у концентрації 5 мг/л та паралельна дія гістаміну (1 і 8 мкг/кг) спричиняє зростання багатоядерцевих ядер гепатоцитів, особливо на 14-ту добу, що є позитивною динамікою (табл. 1). За одночасної дії цих речовин у печінці є тенденція до пониження площі профілю клітин. На 1-шу, 7-му та 21-шу доби дослідю зростає відношення Ся:Скл (табл. 2). На 7-му та 14-ту доби дії ГХН у концентрації 5 мг/л та поєданого впливу гістаміну в дозі 8 мкг/кг відбувається зростання ко-

ефіцієнта форми профілю клітин, що свідчить про динамічні зміни цитоскелету, руху цитоплазми та в'язкості цитоплазми клітин. Провівши електронно-мікроскопічне дослідження гепатоцитів встановлено, що за одночасної дії гістаміну (8 мкг/кг) і ГХН у концентрації 5 мг/л відбувається розширення та фрагментація цистерн агранулярної ендоплазматичної сітки. Переважає агранулярна ендоплазматична сітка на 7-му добу дослідю, значне набубнявіння мітохондрій, матрикс яких набуває низької електронної щільності, внаслідок чого добре проглядаються кристи (рис. 3, а). У гіалоплазмі наявні жирові гранули, піноцитозні пухирці. Підвищується вміст вторинних лізосом. Електронна щільність плазматичних мембран по всій довжині не є однаковою, з наявними електронно-щільними ділянками. На окремих проміжках плазматичної мембрани спостерігається «розпушеність», що свідчить про зміну в ній процесів ліпопероксидації (рис. 3, а). Таким чином, у клітинах печінки розвивається гідропічна дистрофія. На 14-ту добу дослідю наявні типові для гепатоцитів комплекси мітохондрій з гранулярною ендоплазматичною сіткою, проте просвіт цистерн ендоплазматичної сітки гіпертрофованих, що свідчить про порушення нею синтезу білків, а саме альбумінів сироватки крові, та мембранних ліпідів (рис. 3, б). В цей час хроматин в ядрі дифузний, проте з підвищеною електронною щільністю (рис. 3, б). Мітохондрії збільшених розмірів, проте матрикс електронно-щільний, як у контрольних зразках.

Отже, сумісний вплив ГХН у концентрації 5 мг/л та гістаміну в обох досліджуваних концентраціях зумовлює гідропічну дистрофію. Більш виражені структурні зміни притаманні гепатоцитам за дії ГХН (5 мг/л) та гістаміну у дозі 8 мкг/кг. Порівнюючи з впливом на печінку лише гістаміну, структурні зміни клітин за дії ГХН у концентрації 5 мг/л і гістаміну є менш виражені, про що свідчать показники світлової

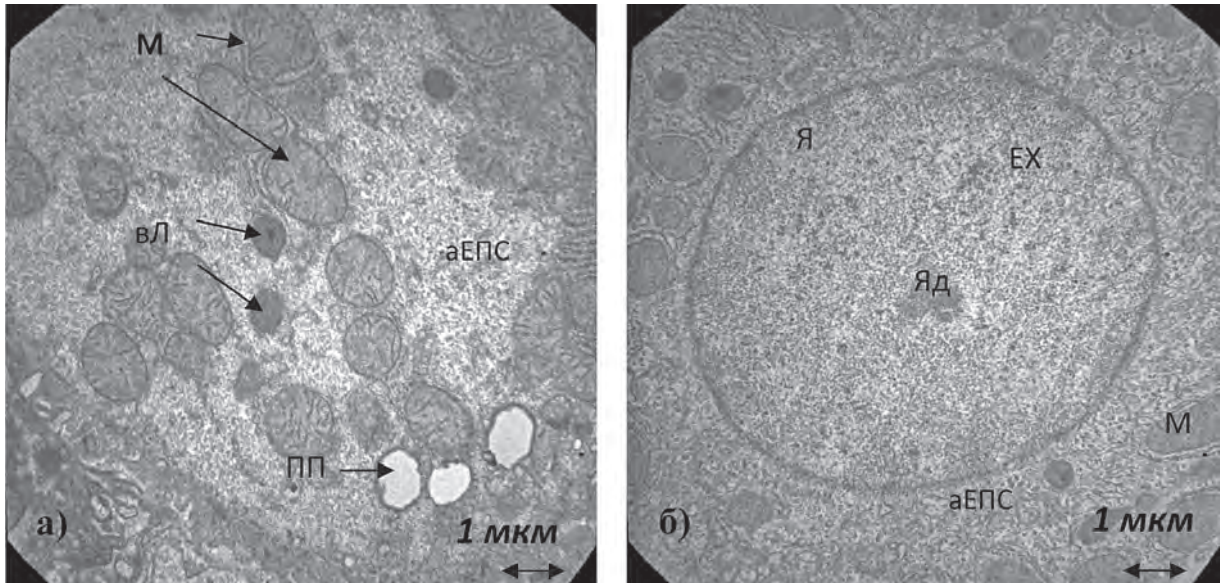
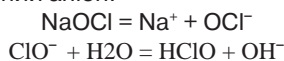


Рис. 4. Електронна мікрофотографія клітин печінки щурів за дії гістаміну в дозі 8 мкг/кг та гіпохлориту натрію в концентрації 20 мг/л: а) 7 доба досліджу. Зб. 22000; б) 14 доба досліджу. Зб. 20000.

і електронної мікроскопії та морфометричного аналізу.

Випоювання щурам ГХН у концентрації 20 мг/л на тлі дії гістаміну веде до зростання вакуолізації цитоплазми гепатоцитів впродовж досліджу (табл. 1, рис. 1, е, ж). Виразений негативний вплив чинить введення в організм щурів ГХН (20 мг/л) та гістаміну в дозі 1 мкг/кг на всіх етапах дослідження. Так, на 7-му добу кількість вакуолізованих клітин становить $48,2 \pm 0,8$, тоді як у контролі $0,4 \pm 0,24$ (рис. 1, е). На фоні значної вакуолізації знижується вміст клітин, ядра яких мали б по два і більше ядерець, що свідчить про пониження функціональної активності гепатоцитів. На першу добу дії ГХН (20 мг/л) та гістаміну (1 мкг/кг) знижується показник площі профілю ядра, який зростає вже на 14-ту добу досліджу. Натомість площа профілю клітини знижується на 7-му добу на 20%, а також спадає показник периметра профілю гепатоцитів на 16% (табл. 2). Після реабілітаційного періоду показники площі і периметра профілю клітин і ядер є нижчими від контролю. На 7-му та 14-ту доби дії ГХН (20 мг/л) і гістаміну (1 мкг/кг) зростає коефіцієнт форми профілю клітин (табл. 1), що свідчить про набуття гепатоцитами більш вираженої округлої форми. Відношення більшого діаметра клітини до меншого (коефіцієнт елонгації) достовірно спадає на 1-шу та 14-ту доби досліджу і це підтверджує округлість клітин (табл. 1).

У науковій літературі [11] є повідомлення, що у водних розчинах ГХН існує як гіпохлоритна кислота та гіпохлоритний аніон.



Ці компоненти реагують з органічними речовинами шляхом доповнення, заміщення чи окиснення [21]. HOCI швидко вступає в реакцію з первинними амінами та іншими N-вмісними сполуками з утворенням хлорамінів та азотно-хлоро-похідних [20]. Отже, значну негативну дію ГХН у концентрації 20

мг/л та гістаміну в дозі 1 мкг/кг, ми пов'язуємо із утворенням великої кількості шкідливих сполук у печінці щурів (наприклад карбонільних сполук, хлорамінів). Відомо, що хлораміни можуть зумовлювати денатурацію білків. Можливо, гістамін у нижчій концентрації стимулює ендogenous викид гістаміну тканинними базофілами та базофілами крові з якими реагує ГХН. З даних літератури відомо, що в низьких концентраціях гістамін зумовлює викид в кров'яне русло активних форм кисню нейтрофілами, тоді як високі його концентрації інгібують цей процес [6]. Ймовірно гістамін у дозі 1 мкг/кг веде до підвищення утворення активних форм кисню. Також відомо, що ГХН вступає в реакцію з біогенними амінами, утворюючи карбонільні сполуки. Такі сполуки утворюються і під час ферментативного руйнування гістаміну аміноксидазами в організмі. Сукупність цих факторів, ймовірно, і зумовлює такий негативний ефект на структурні особливості гепатоцитів за сумісної дії ГХН (20 мг/л) та гістаміну в дозі 1 мкг/кг.

Функціональна активність клітин за впливу ГХН у концентрації 20 мг/л і гістаміну в дозі 8 мкг/кг зростає, про що свідчить підвищення кількості багатоядерцевих ядер (табл. 1). На фоні зростання вакуолізації цитоплазми відбувається зменшення площі та периметра профілю гепатоцитів і ядер (табл. 1, 2). Варто зазначити, що вакуолі, які утворюються в цитоплазмі є менших розмірів на 14-ту добу дії досліджуваних чинників (рис. 1, ж). До 21-ї доби незначно зростає коефіцієнт форми профілю гепатоцитів (на 5%).

За впливу ГХН у концентрації 20 мг/л та гістаміну в дозі 8 мкг/кг відбуваються зміни у будові клітин на 7-му добу. Так, нами виявлено зростання електронної щільності гіалоплазми, в якій в окремих ділянках зруйновані цистерни ендоплазматичної сітки. Вигляд такої гіалоплазми є дифузним. Відомо, що некротичні зміни відбуваються з коагуляцією білків та руйнацією мембранних структур. З'являється ве-

лика кількість вторинних лізосом. Мітохондрії у стані набряку, подекуди із світлим матриксом (рис. 4, а). В ядрі переважає гетерохроматин. Такі зміни притаманні і на 14-ту добу досліду, проте в цей час наявні гепатоцити, в ядрах яких переважає еухроматин, розміри мітохондрій повертаються до меж норми (рис. 4, б).

Висновки

1) За впливу гістаміну в гепатоцитах щурів відбувається гідропічна дистрофія, порушується звична будова мітохондрій та ендоплазматичної сітки.

2) ГХН у концентрації 5 мг/л зумовлює активацію пластичних функцій гепатоцитів, внаслідок зростання кількості багатоядерцевих ядер, тоді як ГХН у вищій концентрації веде до спадання цих процесів. ГХН як у нижчій, так і у вищій концентрації зумовлює вакуолізацію цитоплазми гепатоцитів.

3) Одночасне вживання ГХН у концентрації 5 мг/л і підшкірне введення щурам гістаміну в дозі 1 і 8 мкг/кг веде до зростання кількості вакуолізова-

них гепатоцитів, порівняно з контролем, проте, порівнюючи з групами тварин, яким вводили гістамін, кількість гепатоцитів з гідропічною дистрофією є нижчою.

4) Виражений негативний вплив чинить вживання щурам ГХН (20 мг/л) та підшкірні ін'єкції гістаміну в дозі 1 мкг/кг на всіх етапах дослідження, де на фоні значної вакуолізації знижується вміст клітин, ядра яких мали по два і більше ядерець.

Перспективи подальших досліджень. В майбутньому потрібно провести дослідження щодо можливості утворення азотно-хлоро-похідних в організмі за одночасного введення гістаміну та ГХН, щоб спростувати чи підтвердити те, що похідне може бути причиною негативної дії цих двох досліджуваних речовин. Потрібно провести детальний аналіз структури тканин легень за дії гістаміну і ГХН, оскільки відомо, що гістамін впливає на гладку мускулатуру цього органу, спричиняючи спазм.

Література

1. Bishko O.I. Histamin i blokatory histaminovykh retseptoriv. Strukturni ta funktsionalni aspekty / O.I. Bishko // Visnyk Lvivskoho universytetu. Seriya biologichna. – 2012. – 60. – S. 40-57.
2. Bishko O.I. Stan systemy antyoksydantnoho zakhystu v plazmi krovi ta sertsevomu m'язi shchura za dii histaminu ta hipokhlorytu natriiu / O.I. Bishko, N.P. Harasym, D.I. Sanahurskyi // Ukrainyskiy biokhimichnyi zhurnal. – 2014. – Vol. 86, № 6. – S. 56-65.
3. Bishko O.I. Systema antyoksydantnoho zakhystu u pechintsii ta nyrkakh shchura za vplyvu histaminu ta hipokhlorytu natriiu / O.I. Bishko, N.P. Harasym, D.I. Sanahurskyi // Eksperymentalna ta klinichna fiziologiya i biokhimiia. – 2014. – № 3. – S. 33-43.
4. Bishko O.I. Vmist pervynykh i vtorynykh produktiv lipoperoksydatsii u tkanyakh shchura za dii histaminu ta hipokhlorytu natriiu / O.I. Bishko, N.P. Harasym, D.I. Sanahurskyi // Biologichni Studii / Studia Biologica. – 2014. – T. 8, № 2. – S. 75-90.
5. Bishko O.I. Vilnoradykalni protsesy v tkanyakh shchura za dii hipokhlorytu natriiu ta histaminu / O.I. Bishko, N.P. Holovchak, M.Ia. Boiko, D.I. Sanahurskyi // Biofizychnyi visnyk. – 2014. – T. 31, № 1. – S. 14-26.
6. Yskusnyykh A.Iu. Vliyanie hystamyna na funktsionalnye svoystva neutrofilov y yntestynnoho protsesa peroksydnoho oksyleniya lypydov v krovy donorov / A.Iu. Yskusnyykh, O.V. Basharyna, V.H. Artiukhov, A.A. Alabovskiy // Vestnyk VHU, Seryia: Khymiya, Bylohyya, Farmatsyya. – 2008. – № 1. – S. 93-96.
7. Komarenko A. Doslidzhennia roli N1-retseptoriv u reaktsiakh voritnykh sudyn pechinky shchuriv na histamin / A. Komarenko, A. Tieriekhov, A. Vorobiova // Cherk. nats. un-t im. B. Omelnytskoho. Ser. biol. – 2008. – № 128. – S. 54-58.
8. Mandzynets S.M. Zminy ultrastrukturnoi orhanizatsii klitin zarodkiv v'iuuna za umov vplyvu avermektynu / S.M. Mandzynets, O.R. Kulachkovskiy, M.V. Bura // Tsytolohyya y henetyka. – 2011. – № 5. – S. 58-64.
9. Morozov Ya. Patohenetycheskye aspekty kholesterozha zhelchnoho puzyria / Ya. Morozov // Dokazatelnaia hastroenterologiya. – 2014. – T. 3, № 1. – S. 3-14.
10. Naumova O.A. Syndrom nizkoi tolerantnosti k hystamynu / O.A. Naumova // Dytiachyi likar. – 2013. – T. 3, № 24. – S. 44-50.
11. Patolohichna anatomii i patolohichna fiziologiya liudyny / Ia.Ia. Bodnar, V.V. Faifura. – Ternopil: Ukrmedknyha, 2000. – 494 s.
12. Patolohichna anatomii / V.H. Shlopov. – Vinnytsia: NOVA KNYHA, 2004. – 768 s.
13. Patolohycheskaia anatomii / A.Y. Strukov, V.V. Serov. – M.: Lytterra, 2010. – 848 s.
14. Petrov S.Y. Prymenenye htpokhloryta natriya v klynycheskoi toksykologiy: dySSERTatsiya na soyskanye uchenoi stepeny doktora medytsynskyykh nauk / S.Y. Petrov. – Moskva, 2005. – 197 s.
15. Protsey perekydnoho oksynennia lipidiv u zhyvykh orhanizmach: monohrafiia / N.P. Holovchak, A.V. Tarnovska, H.I. Kotsiumbas, D.I. Sanahurskyi. – Lviv: LNU imeni Ivana Franka, 2012. – 250 s.
16. Rukovodstvo k yspolzovaniyu prohrammnoho kompleksa ImageJ dlia obrabotky yzobrazhenyi. Uchebnoe metodycheskoe posobyie / A.L. Koniukhov. – Tomsk: Kafedra TU, TUSUR, 2012. – 105 s.
17. Chekman I.S. Klinichna farmakologiya protyhistaminnykh preparativ / I.S. Chekman // Medytsyna zaliznychnoho transportu Ukrainy. – 2002. – № 2. – S. 58-61.
18. Bodnarchuk N.O. Structural changes of loach embryos during embryogenesis under the influence of Flurenizyd / N.O. Bodnarchuk, O.R. Kulachkovskiy, S.M. Mandzynets, D.I. Sanagurskiy // Annales UMCS, sectio ee zootechnica. – 2016. – Vol. 34, № 4. – P. 19-30.
19. Harasym N.P. Activity of key enzymes of antioxidant system in rat blood plasma under the effect of histamine and sodium hypochlorite / N.P. Harasym, O.I. Bishko, S.M. Mandzynets, A.B. Heneha, M.B. Halan, V.P. Otchych, D.I. Sanahurskyi // Studia Biologica. – 2017. – Vol. 11, № 1. – P. 33-40.
20. Hidalgo E. Cytotoxicity mechanisms of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness / E. Hidalgo, R. Bartolome, C. Dominguez // Chemico-Biological Interactions. – 2002. – № 139. – P. 265-282.
21. Lebedev A.T. GC-MS comparison of the behavior of chlorine and sodium hypochlorite towards organic compounds dissolved in water / A.T. Lebedev, G.M. Shaydullina, N.A. Sinikova, N.V. Harchevnikova // Water Research. – 2004. – № 38. – P. 3713-3718.
22. Myung Woo Byun Effects of irradiation and sodium hypochlorite on the micro-organisms attached to a commercial food container / Woo Byun Myung, Ho Kim Jang, Ho Kim Dong, Ju Kim Hyun, Jo Cheorun // Food Microbiology. – 2007. – № 24. – P. 544-548.

23. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E.S. Reynolds // J. Cell Biol. – 1963. – № 17. – P. 208-212.
24. Shahid M. Histamine, Histamine Receptors, and their Role in Immunomodulation: An Updated Systematic Review / M. Shahid, T. Tripathi, F. Sobia, S. Moin, M. Siddiqui, R. Khan // The Open Immunology Journal. – 2009. – № 2. – P. 9-41.
25. Taylor Francis Histamine regulation of pancreatitis and pancreatic cancer: a review of recent findings / Francis Taylor, Graf Allyson, Hodges Kyle, Kennedy Lindsey, Hargrove Laura, Price Mattie, Kearney Kate, Francis Heather // Hepatobiliary Surg Nutr. – 2013. – Vol. 2, № 4. – P. 216-226.
26. Yasuko Kaneko The effect of sodium hypochlorite treatment on the development of a-amylase activity in mung bean cotyledons / Kaneko Yasuko, Morohashi Yukio // Plant Science. – 2003. – № 164. – P. 287-292.

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА ДІЇ ГІСТАМІНУ ТА ГІПОХЛОРИТУ НАТРІЮ

Гарасим Н. П., Бішко-Москалюк О. І., Кулачковський О. Р., Луцик М. В., Санагурський Д. І.

Резюме. Досліджено вплив гіпохлориту натрію (ГХН) та гістаміну, а також одночасну їхню дію на гепатоцити щурів на 1-шу, 7-му, 14-ту доби досліду і після реабілітаційного періоду (21-ша доба). Встановлено, що гістамін зумовлює гідропічну дистрофію, зміну в будові мітохондрій, ендоплазматичної сітки. Випоювання шурам ГХН у концентрації 5 мг/л веде до зростання кількості багатоядерцевих ядер у гепатоцитах. ГХН у концентрації 20 мг/л знижує вміст багатоядерцевих ядер клітин. ГХН як у нижчій, так і у вищій концентрації зумовлює вакуолізацію цитоплазми гепатоцитів. Виявлено, що одночасне введення в організм щурів ГХН у концентрації 5 мг/л і гістаміну (1 і 8 мкг/кг) веде до зростання кількості вакуолізованих гепатоцитів, порівняно з контролем, проте, порівнюючи з групами тварин, яким вводили гістамін, кількість гепатоцитів з гідропічною дистрофією є нижчою. Значний негативний вплив на якісні і кількісні показники гепатоцитів чинить одночасна дія ГХН (20 мг/л) та гістаміну в дозі 1 мкг/кг на всіх етапах дослідження.

Ключові слова: печінка, гістамін, гіпохлорит натрію, морфометрія.

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИСТАМИНА И ГИПОХЛОРИТА НАТРИЯ

Гарасим Н. П., Бішко-Москалюк О. І., Кулачковський О. Р., Луцик М. В., Санагурський Д. І.

Резюме. Исследовано влияние гипохлорита натрия (ГХН) и гистамина, а также одновременное их действие на гепатоциты крыс на 1, 7, 14 сутки опыта и после реабилитационного периода (21 сутки). Установлено, что гистамин вызывает гидропическую дистрофию, изменение в строении митохондрий, эндоплазматической сети. Выпойвание крысам ГХН в концентрации 5 мг/л ведет к росту количества многоядерцевых ядер в гепатоцитах. ГХН в концентрации 20 мг/л снижает содержание многоядерцевых ядер клеток. ГХН как в низшей, так и в высшей концентрации вызывает вакуолизацию цитоплазмы гепатоцитов. Обнаружено, что одновременное введение в организм крыс ГХН в концентрации 5 мг/л и гистамина (1 и 8 мкг/кг) ведет к росту количества вакуолизированных гепатоцитов по сравнению с контролем, однако, по сравнению с группами животных, которым вводили гистамин, количество гепатоцитов с гидропической дистрофией ниже. Значительное негативное влияние на качественные и количественные показатели гепатоцитов оказывает одновременное действие ГХН (20 мг/л) и гистамина в дозе 1 мкг/кг на всех этапах исследования.

Ключевые слова: печень, гистамин, гипохлорит натрия, морфометрия.

STRUCTURAL CHANGES IN RATS LIVER UNDER THE INFLUENCE OF HISTAMINE AND SODIUM HYPOCHLORITE

Harasym N. P., Bishko-Moskalyuk O. I., Kulachkovsky O. R., Lutsyk M. V., Sanahursky D. I.

Abstract. Histamine (2-[4-imidazolyl] ethylamine) was first described as an endogenous substance in 1910, and as a mediator of allergic reactions – in 1932. Histamine is synthesized from the histidine amino acid with the participation of pyridoxal phosphate co-enzyme (derivative of vitamin B6) and the enzyme L-histidinedecarboxylase. It is produced in mast cells, basophils, platelets and some neurons, which is intracellular in bubbles and is excreted when stimulated.

Histamine is a powerful mediator of a number of biological reactions (bronchospasm, tachycardia, arrhythmia, dizziness, headache, allergic rash on the skin, etc.). In medicine, as a detoxifier, sodium hypochlorite (SH) is used. This substance is officially used for disinfection of tap water. It is important to study the safety of the use of SH in medicine for the treatment of patients with allergic reactions, and also the excessive allocation of histamine by mast cells and basophils.

The purpose of the study was to study the influence of histamine and SH on high quality (by means of light and electron microscopy) and quantitative (by morphometric analysis) rat liver indices.

The left lobe of the liver was selected. The tissues were fixed in formalin (15%). The histology preparations were stained with hematoxylin-eosin. The obtained images of liver tissues were processed using Image J. computer program. Electron microscopic research of rat liver was carried out.

Influence of sodium hypochlorite (SH), histamine and their simultaneous action on hepatocytes of rats on 1 st, 7 th, 14 th day of the experiment and after the rehabilitation period (21st day) was investigated. It has been established that histamine causes hydroptic dystrophy, a change in the structure of mitochondria, an endoplasmic reticulum. Giving rats SH at a concentration of 5 mg/l leads to an increase in the number of multi-nucleus nuclei in hepatocytes. SH at a concentration of 20 mg/l reduces the content of multi-nucleus nuclei of cells. SH in both the lower and higher concentrations causes vacuolation of the hepatocyte cytoplasm. It has been found that the simultaneous SH of 5 mg/l and histamine (1 and 8 µg/kg) into the body, increases the number of vacuolated

hepatocytes compared to control, however, when compared with the groups of animals administered histamine, the number of hepatocytes with hydropathic dystrophy is lower.

Functional activity of cells under the influence of SH at a concentration of 20 mg/l and histamine in a dose of 8 µg/kg increases, as evidenced by the increase in the number of multi-nucleus nuclei. Against the background of the growth of vacuolation of the cytoplasm, there is a decrease in the area and perimeter of the profile of hepatocytes and nuclei. The vacuoles formed in the cytoplasm are smaller in size on the 14th day of the effect of the investigated factors. By the 21st day the coefficient of the form of the profile of hepatocytes increases slightly (by 5%). Significant negative influence on qualitative and quantitative parameters of hepatocytes simultaneously effect SH (20 mg/l) and histamine at a dose of 1 µg/kg at all stages of the study. We associate a significant negative effect of SC in a concentration of 20 mg/l and histamine in a dose of 1 µg/kg, with the formation of a large number of harmful compounds in the liver of rats (for example, carbonyl compounds, chloramines). It is known that chloramines can cause denaturation of proteins. Possibly, histamine at a lower concentration stimulates the endogenous release of histamine by mast cells and basophils with which SH reacts. From the literature it is known that in low concentrations of histamine causes the release of the active forms of oxygen by neutrophils in the bloodstream, while its high concentrations inhibit this process. Probably histamine at a dose of 1 µg/kg leads to an increase in the formation of active forms of oxygen. It is also known that SH reacts with biogenic amines, forming carbonyl compounds. Such compounds are formed during the enzymatic destruction of histamine by aminoxidases in the organism. The combination of these factors, probably, also causes such a negative effect on the structural features of hepatocytes with the combined action of SH (20 mg/l) and histamine in a dose of 1 mg/kg.

Keywords: liver, histamine, sodium hypochlorite, morphometry.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 08.11.2017 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2017-4-3-141-304-311

УДК 612.172 : 611.127-018

Загоруйко Г. Е., Загоруйко Ю. В.

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ РАЗМЕРОВ И ЧИСЛА КАРДИОМИОЦИТОВ, ИХ ЯДЕР В ПРОЦЕССЕ ПРЕНАТАЛЬНОГО И РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ СЕРДЦА КРЫС

Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)

prof.zagoruykoGE@gmail.com

Исследование проведено в соответствии с тематикой НИР «Структурные перестройки компонентов сердечно-сосудистой системы в условиях нормального и аномального гистогенеза у человека и экспериментальных животных», № государственной регистрации 0111U006621.

Вступление. Большинство экспериментов по возрастной морфологии, биохимии и физиологии проводится на лабораторных животных, в том числе на крысах Wistar стадного разведения. Продолжительность жизни этих животных не превышает 2,5-3 года [8]. Белых крыс используют при исследовании механизмов онтогенеза и поиска экспериментальных путей продления жизни [11,16,20,21]. На протяжении десятилетий, исследования по возрастной биохимии, физиологии и морфологии проводили на крысах в возрасте: 1, 3, 12 и 24 месяцев [16]. Иногда – на крысах в возрасте 4, 24 и 33 месяцев [17]. Однако, результаты работ выполненных на крысах в возрасте 1, 3, 12 и 24 месяцев, или 4, 24 и 33 месяцев, естественно не отражают всей полноты гармонии природного процесса постнатального онтогенеза сердца этих животных от рождения до глубокой старости и смерти. Необходимо увеличить число возрастных групп лабораторных животных и «заполнить» экспериментальными данными не иссле-

дованные временные интервалы последовательных стадий онтогенеза сердца млекопитающих, на примере белых крыс Wistar. Одним из развивающихся научных направлений общебиологической проблемы кардиомиогенеза, является исследование закономерностей возрастных изменений структурных компонентов паренхимы и стромы миокарда в процессе онтогенеза человека [1,3], некоторых позвоночных животных [14,18,19], белых крыс [2,6,7,10]. Известно [9,10,17,19], что паренхима миокарда желудочков сердца половозрелых млекопитающих и человека состоит из множества взаимосвязанных различными видами межклеточных контактов постмитотических кардиомиоцитов (КМЦ), функционирование которых «сокращение ↔ расслабление» начинается еще на ранних этапах эмбрионального развития сердца и заканчивается в момент смерти макроорганизма. На поздних стадиях постнатального онтогенеза млекопитающих, в сердечнососудистой системе развиваются характерные для процесса старения морфофункциональные изменения, которые коррелируют с биологическим возрастом и темпом старения организма [20,21]. Однако имеющаяся информация о динамике изменений структурно-функциональной организации миокарда желудочков сердца в процессе постнатального