

В группе пациентов с хроническим криптогенным гепатитом выявлены особенности поражения глаз, сходные с теми, которые имели место при аутоиммунном гепатите.

*Ключевые слова:* гепатиты, заболевания глаз, дети, больные гепатитом.

**Panteleeva V. G., Sheyko V. I. Eye Involvement in Children with Chronic Hepatitis**

The most frequent and severe deviations were able to eye in children with autoimmune hepatitis. Total of those or other symptoms were observed in 85% of cases, which is considerably higher than in the group of chronic viral hepatitis (60 and 50%). On the part of the bulbar conjunctiva were observed not only changes in the caliber of the arterioles and venules, but also the formation of vascular glomeruli (in 20% of the cases), as well as «avascular zone» (15%), which was not in viral hepatitis. Noteworthy is the fact of change on the part of the limb in 56% of cases. On the severity of retinal angiopathy evidenced by the high rate of change of the arteries (70%), and 2 times the frequency of the trait in viral hepatitis. Only in patients with autoimmune hepatitis were mikrogemorragii in the fundus. A significant number of patients in this group showed signs of retinopathy (20%) and subatrophic changes the retinal pigment epithelium (40%).

In the group of patients with cryptogenic chronic hepatitis peculiarities of the eye, similar to those that occurred in patients with autoimmune hepatitis.

*Key words:* hepatitis, eye disease, children with hepatitis.

Стаття надійшла до редакції 20.05.2013 р.

Прийнято до друку 26.06.2013 р.

Рецензент – д. мед. н., проф. О. А. Виноградов.

УДК 91.436.1:57.043

**С. Н. Смирнов, И. С. Мочалова, М. П. Смирнова,  
М. М. Бадин**

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ  
КРЫС, ПЕРЕНЕСШИХ ВОЗДЕЙСТВИЕ ОБЩЕЙ ХРОНИЧЕСКОЙ  
ГИПЕРТЕРМИИ СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ**

Температура окружающей среды является одним из основных постоянно действующих экологических факторов. Ее отклонения от допустимых для живого организма пределов приводит к ряду нарушений

в органах и тканях [1; 2]. Так, Б. Е. Мельник расценивает перегревание организма как физиологический стресс, который наблюдается у животных и человека. Срыв механизмов компенсации при этом может быть обусловлен непосредственным повреждающим действием температуры на ткани и органы, а также вторичным развитием их функциональной недостаточности [3]. Ключевыми моментами в патогенезе перегревания организма являются гипоксия, токсемия, ацидоз, ионный дисбаланс, обезвоживание, а также непосредственное повреждение клеточных и тканевых структур [4 – 7]. Особенно часто перегревание организма развивается в результате влияния условий климатических зон с жарким климатом, а также вследствие действия нагревающего микроклимата, возникающего на промышленных предприятиях (в горной, металлургической, коксохимической, стекольной промышленности и некоторых других) [8].

Печень является уникальным органом, участником многих обменных процессов в организме и ряда компенсаторных реакций, возникающих при повреждениях или болезнях. Поэтому изучение морфофункциональных изменений, развивающихся в этом органе при действии гипертермии, является особо актуальным [9; 10].

Как известно, аминотрансферазы являются ключевыми ферментами белкового обмена и связующим звеном между ним и углеводным обменом. Увеличение содержания сывороточных аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) служит одним из маркеров разрушения гепатоцитов, при котором происходит усиленный выход этих внутриклеточных ферментов в кровь. Поэтому высокий уровень данных ферментов свидетельствует о цитолитическом синдроме. АлАТ является более специфичным маркером заболеваний печени, чем АсАТ [11; 12]. Увеличение активности сывороточной гаммаглутамилтрансферазы (ГГТ) также происходит из-за повреждения клеточной мембраны гепатоцитов. ГГТ является специфическим ферментом печени и желчных протоков. Известно, что изменения активности гаммаглутамилтрансферазы наблюдаются ранее и более выражены, чем изменения активности других ферментов [13; 14]. Щелочная фосфатаза (ЩФ) присутствует практически во всех тканях организма. Однако исследование ЩФ сыворотки крови обычно представляет интерес в связи с диагностикой гепатобилиарных заболеваний. Увеличение активности сывороточной ЩФ, наряду с ГГТ, может свидетельствовать о нарушении оттока желчи по желчевыводящим путям [14; 15].

Таким образом, определение активности указанных ферментов в сыворотке крови в комплексе имеет большую значимость в оценке нарушений функционирования гепатобилиарной системы и подтверждения структурных изменений в печени.

Целью данного исследования стало изучение развития структурно-функциональных изменений в печени при общем хроническом воздействии высокой температуры на организм крыс.

Работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГУ «Луганский государственный медицинский университет» и является частью темы кафедры медицинской биологии «Структурный гомеостаз тканей пищеварительного тракта, выделительной системы и интегрирующих систем организма (эндокринной, нервной и иммунной), его регуляция и коррекция изменений, возникающих в условиях действия экологически опасных факторов» (номер государственной регистрации 0104U010746).

Эксперимент проводили на 60 белых беспородных половозрелых крысах, которые были разделены на следующие группы: первая группа – контрольная (интактные животные), вторая – животные, которые подвергались действию хронической гипертермии средней степени тяжести (ХГСТ, 42,0 – 43,1 °С).

С целью воспроизведения условий с постоянной высокой температурой воздуха животных помещали в хорошо вентилируемую термокамеру, где удерживали их на протяжении 5 часов ежедневно в течение 2-х месяцев. Забор материала проводили на 1-е, 7-е, 15-е, 30-е и 60-е сутки после завершения воздействия гипертермии (у 6 животных в каждый срок из каждой группы). Ткань печени фиксировали в растворе нейтрального формалина, заливали в парафин. Срезы, полученные на санном микротоме, окрашивали гематоксилином и эозином. Кровь животных доставляли в лабораторию в течение 20 минут после взятия.

Гистологические особенности печеночной ткани изучали при помощи комплекса, состоящего из микроскопа Olympus BX41, соединенного системой адаптеров с цифровым фотоаппаратом той же фирмы. Определение активности ферментов крови крыс проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Cobas Integra 400 plus (Hoffmann-La Roche Ltd, Germany) кинетическим УФ и фотометрическим методами.

Полученные цифровые данные статистически обрабатывали при помощи описательного и сравнительного анализа с использованием критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

В ходе исследования установлено, что площадь ядер гепатоцитов интактных крыс контрольной группы с 1-х по 15-е сутки наблюдения уменьшалась на 5,6% ( $p \leq 0,05$ ). В более поздние сроки изменения были статистически недостоверны. Ядерно-цитоплазматический индекс гепатоцитов интактных крыс контрольной группы на протяжении исследования не изменялся. В течение 60-суточного наблюдения количество гепатоцитов и количество двуядерных гепатоцитов в 1 мм<sup>2</sup> печени интактных крыс контрольной группы не претерпевало статистически достоверных изменений (табл. 1).

Таблиця 1

**Количество гепатоцитов в 1 мм<sup>2</sup>, площадь ядер и ядерно-цитоплазматический индекс гепатоцитов крыс, перенесших действие ХГСТ**

Сутки	Количество гепатоцитов в 1 мм <sup>2</sup>		Площадь ядер гепатоцитов		Ядерно-цитоплазматический индекс гепатоцитов	
	Интактные крысы (M ± m, ед / мм <sup>2</sup> )	Крысы, перенесшие действие ХГСТ (M ± m, ед / мм <sup>2</sup> )	Интактные крысы (M ± m, мкм <sup>2</sup> )	Крысы, перенесшие действие ХГСТ (M ± m, мкм <sup>2</sup> )	Интактные крысы (M ± m)	Крысы, перенесшие действие ХГСТ (M ± m)
1-е	2167,65 ± 95,27	2418,96 ± 59,90*	39,80 ± 0,51	41,06 ± 0,70	0,15 ± 0,01	0,19 ± 0,01*
7-е	2187,95 ± 63,62	2224,43 ± 81,35	39,15 ± 1,23	38,60 ± 0,63●	0,14 ± 0,01	0,16 ± 0,01●
15-е	2152,39 ± 56,25	2069,42 ± 38,56●	37,57 ± 0,78●	38,20 ± 1,18	0,16 ± 0,02	0,18 ± 0,02
30-е	2038,90 ± 57,94	2167,58 ± 94,55●	38,18 ± 1,01	39,47 ± 0,95	0,15 ± 0,01	0,16 ± 0,02
60-е	2201,87 ± 71,39	2460,58 ± 63,17*●	38,39 ± 1,77	38,14 ± 1,25	0,15 ± 0,01	0,17 ± 0,01

Примечание: \* –  $p \leq 0,05$  в сравнении с показателями контрольной группы (интактные крысы); ● –  $p \leq 0,05$  в сравнении с другими сроками исследования в пределах группы

Количество гепатоцитов в 1 мм<sup>2</sup> печени крыс на 1-е и на 60-е сутки после прекращения влияния ХГСТ превышало соответствующий показатель у интактных крыс контрольной группы на 11,6 и 11,7 % соответственно ( $p \leq 0,05$ ). Во временной динамике изменений количества гепатоцитов по завершении влияния ХГСТ отмечалось постепенное уменьшение значения показателя в период с 1-х по 15-е сутки на 14,5% ( $p \leq 0,05$ ) с последующим его увеличением с 15-х по 60-е сутки на 18,9% ( $p \leq 0,05$ ).

Площадь ядер гепатоцитов крыс после прекращения действия ХГСТ не изменялась в сравнении с аналогичными показателями у интактных крыс контрольной группы. Временная динамика изменения площади ядер у крыс, перенесших воздействие ХГСТ, оказалась следующей: с 1-го по 7-й день исследования она уменьшалась на 6,0% ( $p \leq 0,05$ ). В дальнейшем колебания данного показателя не были статистически достоверными.

Ядерно-цитоплазматический индекс гепатоцитов крыс, перенесших действие ХГСТ, оказался большим, чем у интактных крыс контрольной группы, на 26,7% ( $p \leq 0,05$ ) на 1-е сутки после окончания действия гипертермии. В остальные сроки наблюдения различия не были статистически достоверными. Оценка временной динамики изменений

данного показателя в течение 60-суточного наблюдения выявила статистически достоверные изменения только в период с 1-х по 7-е сутки, когда было зарегистрировано уменьшение индекса на 15,8% ( $p \leq 0,05$ ) (табл. 1).

При исследовании изменения активности ферментов сыворотки крови наблюдали следующую картину. Активность АлАТ сыворотки крови интактных крыс контрольной группы в период с 1-х по 7-е сутки наблюдения снижалась на 11,8% ( $p \leq 0,05$ ), но в последующие сроки значение показателя изменялось незначительно. В активности АсАТ, ГГТ и ЩФ за 60 суток исследования статистически достоверных изменений не было (табл. 2).

Таблица 2

**Активность АлАТ и АсАТ сыворотки крови крыс, перенесших действие ХГСТ**

Сутки	Активность АлАТ		Активность АсАТ	
	Интактные крысы ( $M \pm m, ME / л$ )	Крысы, перенесшие действие ХГСТ ( $M \pm m, ME / л$ )	Интактные крысы ( $M \pm m, ME / л$ )	Крысы, перенесшие действие ХГСТ ( $M \pm m, ME / л$ )
1-е	134,79 ± 3,11	144,84 ± 3,25*	151,66 ± 7,08	163,64 ± 7,54
7-е	118,85 ± 5,58●	139,95 ± 2,23*	167,20 ± 9,73	159,20 ± 7,36
15-е	122,64 ± 17,68	129,43 ± 3,54●	148,66 ± 8,94	169,68 ± 7,83
30-е	129,12 ± 15,26	130,28 ± 9,32	159,96 ± 10,23	164,96 ± 6,15
60-е	124,78 ± 6,34	126,36 ± 8,48	161,03 ± 8,39	172,03 ± 8,26

Примечание: \* –  $p \leq 0,05$  в сравнении с показателями контрольной группы (интактные крысы); ● –  $p \leq 0,05$  в сравнении с другими сроками исследования в пределах группы

По завершении влияния ХГСТ активность ферментов сыворотки крови крыс оказалась следующей. Активность АлАТ на 1-е сутки исследования повышалась на 7,5% ( $p \leq 0,05$ ), на 7-е сутки – на 17,8% ( $p \leq 0,05$ ). В дальнейшем значения данного показателя не отличались от таковых у интактных крыс контрольной группы. Во временной динамике изменений активности АлАТ сыворотки крови крыс, перенесших действие ХГСТ, было отмечено постепенное ее уменьшение на 10,6% ( $p \leq 0,05$ ) в период с 1-х по 15-е сутки. В последующие сроки наблюдения статистически значимые колебания отсутствовали (табл. 2).

Активность АсАТ сыворотки крови у интактных крыс контрольной группы и активность данного фермента у крыс, перенесших действие ХГСТ, во всех точках сравнения статистически значимо не различались. На протяжении 60-ти суток после прекращения влияния ХГСТ не было отмечено статистически достоверных колебаний активности АсАТ (табл. 2).

В активности ГГТ сыворотки крови крыс, перенесших действие ХГСТ, на 1-е сутки присутствовало увеличение на 11,0% ( $p \leq 0,05$ ). В более поздние сроки после воздействия не было отмечено статистически значимых отличий от соответствующих показателей у интактных крыс контрольной группы. Во временной 60-суточной динамике колебаний активности ГГТ после завершения действия ХГСТ статистически достоверные изменения отсутствовали (табл. 3).

После завершения действия ХГСТ активность ЩФ сыворотки крови крыс не имела статистически значимых отличий от соответствующего показателя у интактных крыс контрольной группы ни в одной из точек наблюдения. В период с 1-х по 60-е сутки по прекращению влияния ХГСТ в значениях активности ЩФ не было обнаружено статистически достоверных колебаний (табл. 3).

Таблица 3

**Активность ГГТ и ЩФ сыворотки крови крыс, перенесших действие ХГСТ**

Сутки	Активность ГГТ		Активность ЩФ	
	Интактные крысы ( $M \pm m$ , МЕ / л)	Крысы, перенесшие действие ХГСТ ( $M \pm m$ , МЕ / л)	Интактные крысы ( $M \pm m$ , МЕ / л)	Крысы, перенесшие действие ХГСТ ( $M \pm m$ , МЕ / л)
1-е	7,98 ± 0,18	8,86 ± 0,34*	240,05 ± 19,35	223,62 ± 11,24
7-е	7,91 ± 0,14	8,32 ± 0,37	234,30 ± 17,20	236,14 ± 13,19
15-е	8,14 ± 0,44	7,77 ± 0,53	262,80 ± 15,76	229,21 ± 12,93
30-е	8,50 ± 0,35	8,24 ± 0,57	252,73 ± 13,49	241,52 ± 16,94
60-е	8,04 ± 0,33	8,12 ± 0,45	258,30 ± 11,05	244,68 ± 17,73

*Примечание:* \* –  $p < 0,05$  в сравнении с показателями контрольной группы (интактные крысы); • –  $p < 0,05$  в сравнении с другими сроками исследования в пределах группы

Таким образом, действие ХГСТ приводит к возникновению структурных нарушений в печени крыс, которые сохраняются после прекращения влияния ХГСТ. Увеличение количества гепатоцитов в  $1 \text{ мм}^2$ , возрастание ядерно-цитоплазматического индекса наблюдается на протяжении 60-ти суток после окончания теплового воздействия.

Под воздействием ХГСТ происходит увеличение активности АлАТ и ГГТ сыворотки крови крыс, сохраняющееся в течение 7-дневного срока после воздействия. Повышение активности ферментов, источником которых являются печеночные клетки, может свидетельствовать о нарушении целостности гепатоцитов, их разрушении, что в дальнейшем может привести к нарушению функций органа в целом.

Дальнейшие исследования характера изменений в организме человека и животных под влиянием гипертермии позволят более детально изучить закономерности этих изменений, расширить и

систематизировать представления о механизмах действия этого физического фактора на различные органы и ткани.

Планируется дальнейшее изучение структуры гепатоцитов на ультрамикроскопическом уровне после воздействия хронической гипертермии, а также исследование возможного изменения уровней биохимических показателей, характеризующих белковый, углеводный и пигментный обмен.

#### **Список использованной литературы**

- 1. Benarroch E. E.** Thermoregulation: recent concepts and remaining questions / E. E. Benarroch // *Neurology*. – 2007. – Vol. 69. – P. 1293 – 1297.
- 2. Romanovsky A. A.** Thermoregulation: some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system / A. A. Romanovsky // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2007. – Vol. 292. – P. 37 – 46.
- 3. Мельник Б. Е.** Медико-биологические формы стресса / Б. Е. Мельник, М. С. Кахана. – Кишинев : Штиинца, 1981. – 176 с.
- 4. Андреева Л. И.** Особенности реакции организма здорового человека на гипертермическое воздействие / Л. И. Андреева, А. В. Банников, В. В. Горанчук // *Медицина труда и промышленная экология*. – 1999. – № 6. – С. 22 – 26.
- 5. Воздействие** высоких температур атмосферного воздуха на здоровье населения в Твери / Б. А. Ревич, Д. А. Шапошников, В. Т. Галкин и др. // *Гигиена и санитария*. – 2005. – № 2. – С. 20 – 24.
- 6. Стежка В. А.** Экспериментальное исследование некоторых патогенетических звеньев механизма повреждающего действия высокой температуры на организм / В. А. Стежка, С. П. Палийчук // *Довкілля та здоров'я*. – 2000. – № 2. – С. 12 – 19.
- 7. Horsman M. R.** Tissue physiology and the response to heat / M. R. Horsman // *Int. J. Hyperthermia*. – 2006. – Vol. 22. – P. 197 – 203.
- 8. Новиков В. С.** Физиология экстремальных состояний / В. С. Новиков, В. В. Горанчук, Е. Б. Шустов. – СПб. : Наука, 1998. – 247 с.
- 9. Антонова Е. И.** Стромально-паренхимные и ультрамикроскопические проявления первичной компенсаторно-приспособительной реакции печени млекопитающих после гипертермии / Е. И. Антонова // *Материалы V науч. Междунар. конф. «Современные проблемы экспериментальной и клинической медицины»*, Таиланд (Паттайа). *Фундаментальные исследования*. – 2008. – № 1. – С. 138 – 140.
- 10. Cytotoxicity and cell signalling induced by continuous mild hyperthermia in freshly isolated mouse hepatocytes** / M. J. Santos-Marques, F. Carvalho, C. Sousa et al. // *Toxicology* – 2006. – Vol. 224 (3). – P. 210 – 218.
- 11. Баканов М. И.** Функции печени (биохимические аспекты). Ч. 1 / М. И. Баканов // *Мед. науч. и учеб.-метод. журн.* – 2007. – № 40. – С. 3 – 16.
- 12. Katschinski D. M.** On heat and cells and proteins / D. M. Katschinski // *News Physiol. Sci.* – 2004. – Vol. 19. – P. 11 – 15.
- 13. Попова Т. Н.** Медицинская энзимология : учеб. пособие / Т. Н. Попова, Т. И. Рахманова, С. С. Попов. – Воронеж : ИПЦ Воронеж.

гос. ун-та, 2008. – 63 с. **14. Ravel R.** Clinical Laboratory Medicine: Clinical Applications of Laboratory Data / Richard Ravel. – 6<sup>th</sup> ed. – Mosby-Year Book, Inc., 1995. – 724 p. **15. Назаренко Г. И.** Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г. И. Назаренко, А. А. Кишкун. – М. : Медицина, 2002. – 544 с.

**Смірнов С. М., Мочалова І. С., Смірнова М. П., Бадін М. М. Структурно-функціональні зміни в печінці щурів, які зазнали вплив загальної хронічної гіпертермії середнього ступеня тяжкості**

Вивчали структурно-функціональні зміни в печінці щурів, що розвиваються під впливом хронічної гіпертермії середньої тяжкості (ХГСТ).

Результати показали, що ХГСТ викликає збільшення кількості печінкових клітин в 1 мм<sup>2</sup>, збільшення ядерно-цитоплазматичного індексу гепатоцитів щурів, що зберігається протягом 60-ти діб після закінчення теплового впливу, а також збільшення активності сироваткової аланінамінотрансферази і гаммаглутамілтрансферази, що зберігається протягом 7-денного терміну після впливу.

*Ключові слова:* гепатоцити, щури, гіпертермія, структурні порушення, ферменти.

**Смирнов С. Н., Мочалова И. С., Смирнова М. П., Бадин М. М. Структурно-функциональные изменения в печени крыс, перенесших воздействие общей хронической гипертермии средней степени тяжести**

Изучали структурно-функциональные изменения в печени крыс, развивающиеся под влиянием хронической гипертермии средней тяжести (ХГСТ).

Результаты показали, что ХГСТ вызывает увеличение количества печеночных клеток в 1 мм<sup>2</sup>, увеличение ядерно-цитоплазматического индекса гепатоцитов крыс, сохраняющееся на протяжении 60-ти суток после окончания теплового воздействия, а также увеличение активности сывороточной аланинаминотрансферазы и гамма-глутамилтрансферазы, сохраняющееся в течение 7-дневного срока после воздействия.

*Ключевые слова:* гепатоциты, крысы, гипертермия, структурные нарушения, ферменты.

**Smirnov S. N., Mochalova I. S., Smirnova M. P., Badin M. M. The Structural and Functional Changes in the Liver of Rats Undergoing Total Impact of Chronic Moderate Hyperthermia**

To study the structural and functional changes in the rat liver developed under the influence of chronic moderate hyperthermia (CMH).



The experiment was conducted on white outbred rats. The structural and functional changes in rats' liver were investigated by light microscopy, biochemical and statistical methods. The number of hepatocytes in 1 mm<sup>2</sup>, area of nuclei and nuclear-cytoplasmic index of rat hepatocytes were counted as well as the activity of serum enzymes (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma glutamyl transferase, alkaline phosphatase) was defined.

The results showed CMH action led to structural abnormalities in the rats' liver that persisted after the heat exposure. CMH caused increase in number of liver cells in 1 mm<sup>2</sup>, increase of nuclear-cytoplasmic index of rats' hepatocytes that have persisted for sixty days after the end of the hyperthermia. It also caused increase of serum alanine aminotransferase and gamma glutamyl transferase activity that have taken place for seven days after the exposure.

These data support the hypothesis that chronic hyperthermia causes changes in hepatocytes, which can then lead to dysfunction of the organ as a whole.

*Key words:* hepatocytes, rats, hyperthermia, structural damage, enzymes.

Стаття надійшла до редакції 13.05.2013 р.

Прийнято до друку 26.06.2013 р.

Рецензент – д. мед. н., проф. О. А. Виноградов.