

УДК 612.354.2

## ГИСТОТОПОГРАФИЯ И ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОСУДИСТОГО РУСЛА ПЕЧЕНОЧНОГО АЦИНУСА В УСЛОВИЯХ МНОГОКРАТНОЙ ЭТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

**Антонова Е.И., Бармина С.А., Волкова Е.С., Костина О.М.**

*ФГБОУ ВО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова», Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии, Ульяновск, e-mail: wolkova.katja97@mail.ru*

Печень является жизненно важным органом. Полифункциональность печени в эволюции формировалась таким образом, что даже в физиологической норме функционирование органа протекает в условиях повышенной концентрации токсических веществ. Одним из гепатотоксикантом является этанол, который не является чужеродным агентом для печени. Проведен анализ результатов гистотопографии и динамики показателей сосудистого русла структурно-метаболической единицы печени – печеночного ацинуса. С использованием морфологических методов отмечено увеличение венозного звена печеночного ацинуса в области портального тракта и просвета синусоидных капилляров перивенулярной и центрлобулярной зон на протяжении 15-ти суток. С помощью метода электронной микроскопии определены изменения объемной плотности ядра, ядрышка и липидов на протяжении всего эксперимента. Со стороны клеточного состава крови животных отмечено угнетение клеточного и гуморального иммунитета, который постепенно восстанавливается от острого опыта к третьим суткам, стойкое снижение объемных показателей эритроцитов и содержания в них количества гемоглобина, а также в гетерогенности тромбоцитов, увеличение общего количества лейкоцитов что указывает на стресс в ответ на действие этаноловой интоксикации в многократном режиме.

**Ключевые слова:** ацинус, гепатоциты, сосудистое русло, объемная плотность

## HISTOTOPOGRAPHY AND DYNAMICS OF INDICATORS OF THE VASCULAR BED OF THE HEMATIC ACINUS IN THE CONDITIONS OF MULTIPLE ETHANOL INTOXICATION

**Antonova E.I., Barmina S.A., Volkova E.S., Kostina O.M.**

*Ulyanovsk state pedagogical university named after I.N. Ulyanov, Ulyanovsk, e-mail: barmina.lana@inbox.ru*

The liver is a vital organ. The polyfunctionality of the liver in evolution was formed in such a way that even in the physiological norm, the functioning of the organ proceeds under conditions of elevated concentrations of toxic substances. One of the hepatotoxicants is ethanol, which is not a foreign agent to the liver. The analysis of the results of histotopography and the dynamics of indicators of the vascular bed of the structural and metabolic unit of the liver – hepatic acini was carried out. With the use of morphological methods, an increase in the venous level of the hepatic acini in the portal tract and the lumen of the sinusoidal capillaries of the perivenular and centrolobular zones was observed over a period of 15 days. Using the method of electron microscopy, changes in the bulk density of the nucleus, nucleolus and lipids were determined throughout the experiment. On the part of the cellular composition of the blood of animals, inhibition of cellular and humoral immunity is noted, which gradually recovers from acute experience by the third day, a persistent decrease in erythrocyte volume indices and their hemoglobin content, as well as in platelet heterogeneity, an increase in total white blood cells, which indicates stress in response to the action of ethanol intoxication in a multiple mode.

**Keywords:** acinus, hepatocytes, vascular bed, bulk density

Одна из приоритетных функций этого органа – детоксикационная, состоит в обезвреживании эндогенных и экзогенных токсических веществ. Сложность структуры, полифункциональность, быстрота вовлечения печени в деструктивные и репаративные процессы – все это определяет неослабевающий интерес исследователей к проблемам ее регенерации, а в частности, к источникам и механизмам. В связи с этим цель нашего исследования – изучение динамики интегральных показателей состояния организма, гистотопографии печеночного ацинуса и ультраструктуры гепатоцитов в условиях многократного действия этаноловой интоксикации.

Избыточное поступление экзогенного этанола в организм сопровождается патологическими изменениями в обмене угле-

водов, липидов, белков, нейромедиаторов, гормонов, активацией свободно-радикальных процессов в тканях [1].

Печень образована на 80% паренхимными клетками – гепатоцитами и на 6,5% непаренхимными (мезенхимными, стромальными) – клетки Ито, клетками Купфера, эндотелиальными, Pit-клетками, внутрипеченочными лимфоцитами [2]. Гепатоциты – высокодифференцированные клетки, основная масса которых находится в G0-фазе клеточного цикла.

Основной структурной единицей принято считать печеночную дольку. Но в последние десятилетия понятие о печеночной дольке перетерпело значительные изменения. В настоящее время рассматриваются три модели печеночных долек: классиче-

ская, портальная и ацинарная [3]. Классические дольки отделены друг от друга соединительной тканью [4].

Следующая структурно-метаболическая единица – ацинус – имеет форму ромба, вершины которого образованы центральными венами соседних гексогональных печеночных долек и смежными портальными зонами; не является частью классической дольки, располагается на территории двух соседних классических долек [5].

Забор образцов печени мышей для гистологических исследований проводился после многократной этаноловой интоксикации: через 20 минут (острый эксперимент), через 1-е, 3-и, 7-е и 15-е сутки. Раствор этанола ( $DL_{50}$ ) подавался животным в качестве единственного источника питья три раза через трое суток.

Забор материала проводился под легким эфирным наркозом. Печень забиралась из правой крупной доли печени с последующей фиксацией в 10% забуференном нейтральном формалине и заливкой в парафин далее изготавливали серийные срезы по стандартной методике.

Для морфологического анализа образцы печени фиксировали в 10% – нейтральном забуференном формалине, заливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилином Майера и эозином. На гистологических срезах печени определяли диаметр сосудов ацинуса портального тракта: артериолы, вены, желчного протока, лимфатического русла, а также синусоидных капилляров и центральной вены.

Анализ показателей периферической крови проводился с помощью геманализатора МЕК-6450К, (NihonKondeh Япония).

Электронномикроскопическое исследование проводилось для оценки объемной плотности ( $мкм^3/мкм^3$ )  $V_v$ , поверхностной плотности ( $мкм^2/мкм^3$ ) –  $S_v$  и численной плотности ( $мкм^0/мкм^3$ )  $N_v$  митохондрий, хроматина, ядрышка, липидов, лизосом, гликогена гепатоцитов. Для этого в каждом случае анализировали 50 полей зрения паренхимы печени, произвольно отснятых при просмотре материала в электронном микроскопе при увеличении 3000–20000. Объемную, поверхностную и численную плотность изучаемых структур измеряли на электроннограммах с использованием встроенной программы «UTHSCSA ImageTool 3.0» Количественные параметры оценивались на единицу площади ( $100 мкм^2$ ) паренхимы печени. Образцы печени животных фиксировали погружением в 4% растворе параформа на 0,1M фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением сахарозы (5%). После фиксации заключали в парафин, готовили фронтальные срезы толщиной 10мкм, окрашивали 0,1%

толуидиновым синим, дофиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия и заливали в смесь эпон-аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом, цитратом свинца. Просмотр и фотографирование ультратонких срезов производили на электронном микроскопе «Hitachi-600H» (Япония).

После многократного получения этанола в виде единственного источника питья остром периоде и на протяжении 15–ти суток наблюдений отмечается нарушение кровоснабжения печеночного ацинуса. Об этом свидетельствуют количественные показатели, так в остром опыте отмечается увеличение внутреннего диаметра вены и синусоидных капилляров II и III зоне ацинуса на 10%, 16%, 14% соответственно в сравнении с контрольной группой.

На первые сутки эксперимента внутренний диаметр вены увеличивается на 8%, диаметр синусоидных капилляров во II и III портальных зонах на 27% и 12%.

На 3-е сутки просвет вены увеличивается на 9%. Диаметры синусоидных капилляров в центролобулярной и перивенулярной зонах увеличиваются на 27% и 12,4%.

На 7-е сутки анализ динамики изменения показателей внутреннего диаметра сосудов портального тракта выявил незначительное увеличение диаметра вены на 1%. Диаметры синусоидных капилляров в центролобулярной зоне практически сравнялись и перивенулярной зонах остаются увеличенными на 20%.

На 15-е сутки в перивенулярной зоне утрачивается балочное расположение гепатоцитов, увеличивается межклеточный просвет, сохраняется ориентация разрастания волокон коллагена из области портального тракта к центральной вене, но и в перивенулярной области этот процесс не затухает, и тяжи волокон внедряются в паренхиму. Диаметры синусоидных капилляров в центролобулярной зоне незначительно ниже контроля на 5% и перивенулярной зоне остаются увеличенными на 24%. Диаметр вены увеличен на 1%.

Показатели периферической крови отражают угнетение клеточного и гуморального иммунитета, который постепенно восстанавливается от острого опыта к 3-е суткам. Так в остром опыте показатель общего числа лейкоциты увеличивается более чем в три раза, средний объем эритроцитов, наоборот, снижается на 1%, средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах снижается на 5%, показатель количество тромбоцитов увеличивается на 25% и показатель гетерогенности тромбоцитов снижается на 6,8%.

На первые сутки эксперимента наблюдается небольшое уменьшение у показателей

MCV на 9,2%, MCHC на 1,2% и RDW на 7,7%. В свою очередь на третьи сутки небольшое уменьшение наблюдается MCV на 9,2%, MCHC на 1,2% и RDW на 7,7%.

На седьмые сутки эксперимента сутки после алкоголизации выявлены следующие изменения показателей крови: наблюдается уменьшение показателя WBC на 25%. В свою очередь небольшое увеличение наблюдается у показателей MCV на 2,9%, MCHC на 2% и уменьшение RDW на 1,8%, PLT на 3%.

На пятнадцатые сутки после алкоголизации выявлены следующие изменения показателей крови: наблюдается значительное уменьшение показателя WBC – 52%. В свою очередь увеличение наблюдается у показателей MCV на 24%, MCHC на 25% и RDW на 25%, PLT на 45%.

На субклеточном уровне выявлено, что в остром эксперименте наблюдается снижение Vv митохондрий на 50%, Vv ядра на 15%, Vv ядрышка на 35% и Vv липидов на 13%. На первые сутки Vv митохондрий уменьшается на 12%, ядра на 5%, ядрышка на 32% и Vv липидов увеличивается на 42%.

На третьи сутки эксперимента снижается Vv митохондрий на 30%, Vv ядра на 15% и Vv ядрышка на 30%, что отражает нарушение работы генов и нарушение клеточного дыхания. Объемная плотность липидов Vv наоборот увеличивается на 17%.

На 7 сутки Электронномикроскопически выявлено, что объемная плотность митохондрий остается меньше по сравнению с контролем на 16%, что может отражать нарушение клеточного дыхания. Ближе к контролю становятся показатели объема ядра на 8% и на 30% уменьшился показатель объема ядрышка, уменьшение объема ядрышка говорит о замедлении процесса сбора рибосом и как следствие в цитоплазме снижается интенсивность синтеза белка. Тогда как объем липидов – 43% увеличивается, на фоне снижения интенсивности снижения белка активизируется процесс липогенеза, за счет активации алкогольдегидрогеназы и проявляются все начальные признаки ожирения печени. На пятнадцатые сутки уменьшается объемная плотность митохондрий на 30%, объемная плотность ядра и ядрышка на 45% и 27% соответственно. Объем липидов на 40% увеличился.

Таким образом наши исследования выявили изменения со стороны сосудистого русла печеночного ацинуса, большем притоке венозной крови с реактивными метаболическими (особенно на 3-и сутки эксперимента), увеличение просвета синусоидных капилляров в центрлобулярной и перивенулярной зоне ацинуса могут вызывать аутоповреждения гепатоцитов, что проявляется в полученных ультраструктурных показателях. Так

достоверно выявлено снижение объемной плотности митохондрий (особенно в остром опыте), ядра и ядрышка (также в большей мере в остром опыте), это указывает на нарушение отвода электронов от митохондрий для использования во внутриклеточном метаболизме и развитие метаболической депрессии. Изменения объемных показателей ядра и ядрышка отражают затухание матричных синтезов, так как с ядрышками связаны процессы транскрипции и процессинга р-РНК. Размеры и структура ядрышек в большинстве случаев коррелируют с объемом клеточного белкового синтеза гепатоцитами. Изменения объемных показателей ядра отражает нарушение процессов перестройки гетерохроматина, которая осуществляется в соответствии с потребностями синтеза РНК и белка, обеспечивая согласование уровней транскрипции и трансляции. Объемные показатели липидов снижаются в остром опыте и на 1-е сутки, на 3-и сутки наоборот увеличиваются, это указывает на токсическое действия этанола результатом которого является нарушение обмена липидов, что сопровождается снижением утилизации жирных кислот гепатоцитами с одной стороны с другой стороны увеличение объемных показателей липидов может указывать на использование продуктов их расщепления в качестве источника эндогенной воды. Выявленные интегральные показатели проявляются в стойком снижении показателей объемных показателей эритроцитов и содержания в них гемоглобина, а также в гетерогенности тромбоцитов. В остром опыте резко увеличивается число лейкоцитов (лейкоцитоз) и тромбоцитов. Это отражает нарушение транспорта газов крови, в свою очередь резкое увеличение количества тромбоцитов на протяжении всего эксперимента отражает увеличение свертываемости крови. Увеличение общего количества лейкоцитов указывает на стресс в ответ на действие этаноловой интоксикации.

#### Список литературы

1. Шикалова И.А., Шилов В.В., Васильев С.А., Батоцыренов Б.В., Лоладзе А.Т. Фармакологическая коррекция токсических поражений печени у больных с тяжелыми формами острых отравлений этанолом // Эксперим. и клин. фармакол. – 2012. – Т. 75, № 4. – С. 30–33.
2. Байкова И.Е., Никитин И.Г., Гогова Л.М. Алкогольная болезнь печени // Болезни органов пищеварения. – 2011. – Т. 19. – С. 1068.
3. Ельчанинов А.В., Большакова Г.Б. Прлиферация и клеточная гибель гепатоцитов регенерирующей печени плодов крыс // Цитология. – 2012. – Т. 54. – С. 313–317.
4. Бобков П.С., Дробленков А.В., Карелина Н.Р. Количество эндотелиоцитов синусоидных капилляров печени как показатель направленности алкогольного фиброза // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2011. – Т. 18; № 2. – С. 29–30.
5. Дробленков А.В., Бобков П.С., Карелина Н.Р. Центроацинарная направленность капилляризации и перисинусоидального фиброза печени при алкогольном стеатозе у человека // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т. 8; № 1. – С. 74–77.