

УДК 615.9

МОРФОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС ЧЕРЕЗ 72 ЧАСА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕТРАХЛОРМЕТАНА

Байгильдин С.С.^{1,2}, Каримов Д.О.¹, Хуснутдинова Н.Ю.¹, Смолянкин Д.А.¹, Репина Э.Ф.¹

¹ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа, Россия

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»

В статье дана сравнительная оценка морфологических изменений в печени через 72 часа после однократного подкожного введения белым беспородным крысам различных доз тетрахлорметана, применяемого для создания модели токсического гепатита. Установлено, что в паренхиме печени через 72 часа после однократного подкожного введения масляного раствора тетрахлорметана в дозах до 1 г/кг, обнаруживаются, в основном, признаки восстановительных процессов, а в группах с введением гепатотоксиканта в дозе 2 и 4 г/кг преобладают признаки некротических процессов.

Ключевые слова: тетрахлорметан, токсическое повреждение, гепатоциты, восстановление

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

RAT LIVER MORPHOLOGY AFTER 72 HOURS OF EXPOSURE TO CARBON TETRACHLORIDE

Baigildin S.S.^{1,2}, Karimov D.O.¹, Khusnutdinova N.Yu.¹, Smolyankin D.A.¹, Repina E.F.¹

¹ Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia

² Bashkir State University, Ufa, Russia

This paper presents comparative assessment of morphological changes in the liver after 72 hours of a single subcutaneous injection of various doses of carbon tetrachloride to white outbred rats. It has been shown that in the liver parenchyma after 72 hours a single subcutaneous CCl₄ injection in doses up to 1 g/kg, signs of recovery processes are mainly found, and in groups with the CCl₄ injection at a dose of 2 and 4 g/kg, signs of necrotic processes predominate.

Key words: carbon tetrachloride, toxic damage, hepatocytes, recover

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Тетрахлорметан (ТХМ) широко используется для создания моделей токсического гепатита, которые позволяют оценить защитные эффекты лекарственных средств [2,9]. При отравлении им обнаруживаются дозозависимые нарушения структурно-функционального состояния печени, которые обусловлены запуском процессов липопероксидации: цитолиз гепатоцитов, нарушение основных функций печени (синтетической, антитоксической и экскреторной), лейкоцитарная инфильтрация и холестаза [1,5]. В острых экспериментах после прекращения действия тетрахлорметана некоторые авторы наблюдали спонтанное восстановление морфологических нарушений [4].

Модель токсического гепатита, вызванная введением масляного раствора тетрахлорметана крысам, используемая в токсикологических экспериментах, обладает и некоторыми особенностями: при однократном применении низких доз клетки печени быстро восстанавливаются, что затрудняет оценку защитных эффектов лекарственных препаратов. Представляется интересным выявить дозу ТХМ, при введении которого наступают необратимые изменения в паренхиме печени крыс.

Целью настоящей работы являлось изучение морфологических изменений в паренхиме печени экспериментальных животных через 72 часа после однократного введения различных доз ТХМ.

Материал и методы исследования. В эксперименте были использованы белые беспородные крысы массой 200-300 г. (n=21). Условия содержания и обращения с используемыми в эксперименте животными соответствовали Директиве ЕС 2010/63/EU. Для создания экспериментальной модели вводили раствор ТХМ на подсолнечном масле подкожно в различных дозах. Эксперименты выполняли согласно требованиям этического комитета. Все животные были разделены на семь экспериментальных групп:

1 группа – подсолнечное масло (контрольные животные), 2 группа – масляный раствор ТХМ в дозе 0,125 г/кг, 3 группа – в дозе 0,25 г/кг, 4 группа – в дозе 0,5 г/кг, 5 группа – в дозе 1 г/кг, 6 группа – в дозе 2г/кг, 7 группа – в дозе 4 г/кг. Животных выводили из эксперимента через 72 часа после введения токсиканта.

Ткани печени для гистологического исследования фиксировались в 10% формалине на фосфатном буфере (рН=7,4) и подвергались стандартной процедуре гистологической проводки (через изопропанол) для заливки в парафин. Срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. Микроскопическое исследование производили на микроскопах Zeiss AXIO Imager.D2 и ЛОМО Микмед-2.

Результаты и обсуждение. Печень крыс контрольной группы, получавших подкожно подсолнечное масло, имела обычное строение. Морфологических признаков повреждений не обнаруживалось. Ядра гепатоцитов были приблизительно равных размеров. Редко встречались двоядерные гепатоциты. Цитоплазма гепатоцитов неоднородная, местами с сильными просветлениями, особенно вокруг ядер. В просветах между балками гепатоцитов видны вытянутые клетки – эндотелиоциты и менее вытянутые, угловатые клетки – клетки Купфера. Балки гепатоцитов были направлены к центральной вене радиально. Просвет центральной вены, выстланный эндотелиоцитами, не был нарушен, также как и просветы междольковых сосудов и желчных протоков портального тракта. Клеточный инфильтрат присутствовал в небольшом количестве в портальных трактах, однако не выходил в синусоиды. Для удобства паренхиму печени можно условно делить на 3 зоны: I – перипортальная зона, III– зона вокруг центральной вены, II- зона между I и III зоной (рис.1).

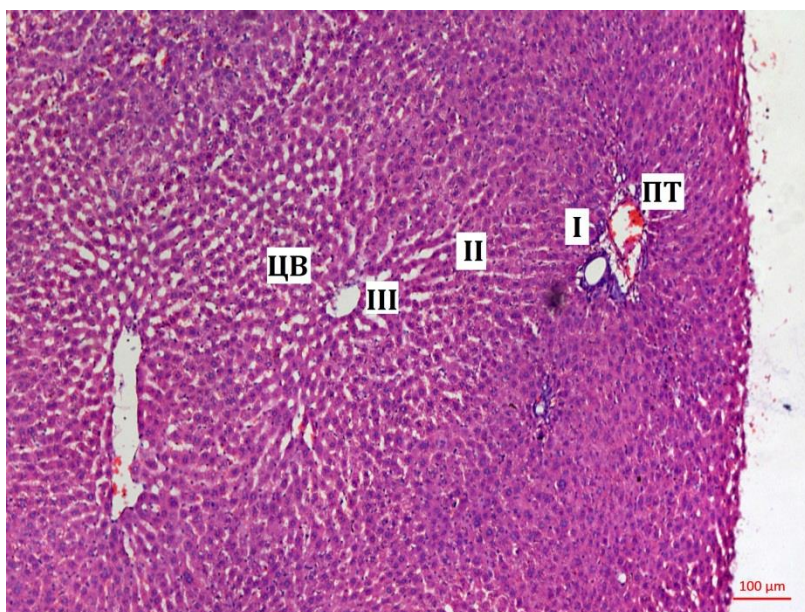


Рис. 1. Паренхима печени крыс контрольной группы. ЦВ – центральная вена, ПТ – портальный тракт, I,II,III – зоны печеночного ацинуса (окраска гематоксилином и эозином. Увел.Х100)

После подкожного введения раствора ТХМ в дозе 0,125 г/кг через 72 часа в гепатоцитах всех трех условных зон не наблюдались некротические изменения ядра и цитоплазмы, радиальность расположения печеночных трабекул была сохранена. Однако обнаруживался более заметный по сравнению с контрольной группой клеточный инфильтрат вокруг портальных трактов (рис.2), в синусоидах встречались активированные звездчатые клетки. Кроме того, некоторые гепатоциты были гипертрофированными и имели более крупное темное ядро (морфологический признак полиплоидизации), обнаруживались двуядерные гепатоциты, что указывает на интенсивные репаративно-восстановительные процессы.

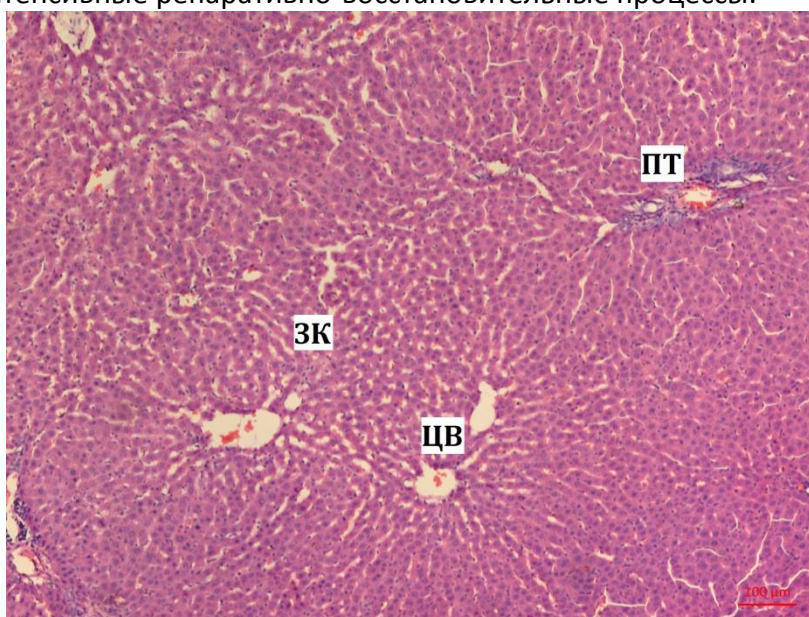


Рис. 2. Паренхима печени крыс 2-ой группы (0,125г/кг). ЦВ – центральная вена, ПТ – портальный тракт, ЗК – звездчатые клетки в синусоидах (окраска гематоксилином и эозином. Увел.Х100)

В группе с дозой 0,25г/кг у крыс в 3-ей зоне печеночного ацинуса признаки некробиоза в большинстве случаев не обнаруживались, все же редко встречались гепатоциты с гидропической и баллонной дистрофией (рис.3). Вокруг центральных вен присутствовала воспалительная инфильтрация. Радиальность расположения трабекул гепатоцитов прослеживалась у всех крыс данной группы. Как и в предыдущей группе, обнаруживались признаки репаративно-восстановительных процессов: часто встречались двоядерные и полиплоидные гепатоциты.

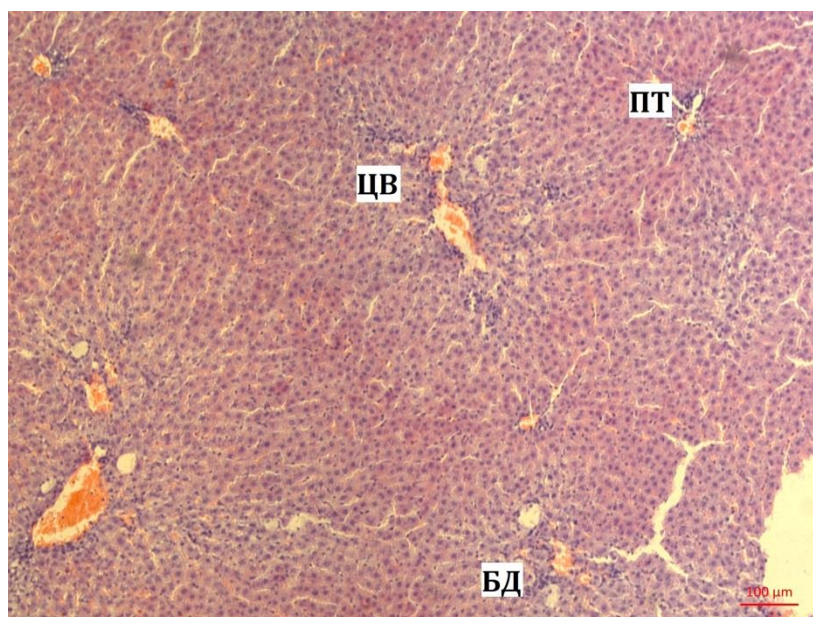


Рис. 3. Баллонная дистрофия (БД) в паренхиме печени крыс 3-ей группы (0,25 г/кг). ЦВ – центральная вена, ПТ – портальный тракт (окраска гематоксилином и эозином. Увел.Х100)

В группах с введением ТХМ в дозе 0,5 и 1 г/кг в централобулярных зонах паренхимы печени обнаруживались некроз гепатоцитов, лейкоцитарная инфильтрация (рис.4). Также в этой зоне встречались единичные тельца Каунсильмена, кроме того эти тельца встречались и в I зоне. Тельца Каунсильмена - апоптотические тельца в виде уплотненных гепатоцитов. Они характеризуются тёмно-розовой цитоплазмой с остаточными тельцами ядер [7]. Кроме того, при введении ТХМ в дозе **1 г/кг** обнаруживалась кровенаполненность центральных вен и некоторых портальных трактов и выход крови в паренхиму печени.

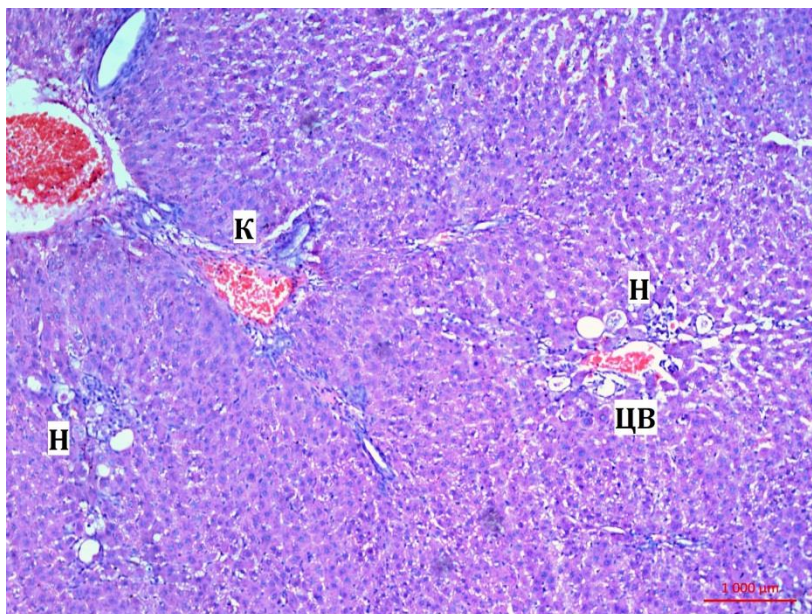


Рис. 4. Некротические участки (Н) в центролобулярных зонах печени крыс 4-ой группы (0,5 г/кг). ЦВ – центральная вена, К – кровенаполненность сосудов (окраска гематоксилином и эозином. Увел.Х100)

В группах с подкожным введением ТХМ в дозе 2 и 4 г/кг обнаруживались наиболее значительные повреждения. В III зоне печеночного ацинуса обнаруживалась крупнокапельная вакуолизация, инфильтрация воспалительными клетками, баллонная дистрофия, некроз гепатоцитов, апоптотические тельца. У крыс данных групп обнаруживались центролобулярные некрозы, которые иногда протягивались в центр-центральные мостовидные некрозы (рис.5). Мелкокапельная вакуолизация встречалась в I и II зонах ацинуса, но радиальность расположения балок гепатоцитов сохранялась. В некоторых портальных трактах присутствовала слабая клеточная инфильтрация.

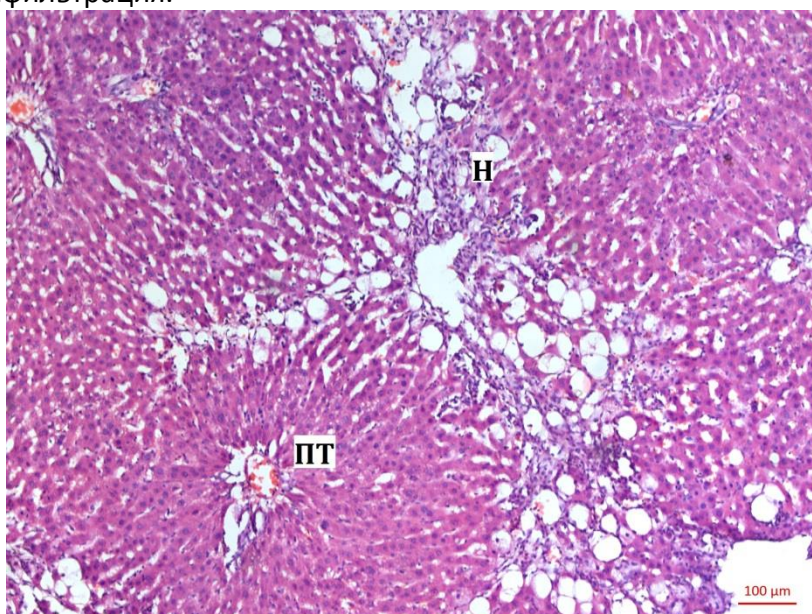


Рис. 5. Центр-центральные мостовидные некрозы в паренхиме печени крыс 6-ой группы (2 г/кг). ПТ – портальный тракт, Н – некротические зоны (окраска гематоксилином и эозином. Увел.Х100)

Проведенные исследования показали, что тетрахлорметан через 72 часа после затравки вызывает дозозависимый эффект повреждений печени. В группах с дозой 0,125 г/кг о воздействии тетрахлорметана на паренхиму печени крыс свидетельствовали лишь клеточный инфильтрат вокруг порталных трактов, а также признаки восстановительных процессов. Полученные данные согласуются с данными авторов [3,4], которые пишут, что прекращение введения малых доз животным ТХМ в острых экспериментах приводит к восстановлению морфологической картины паренхимы печени. В группе с дозой ТХМ 0,25 г/кг в печени крыс обнаруживались, хотя и редко, гепатоциты с балонной дистрофией, что вместе с воспалительной инфильтрацией указывает на некробиотические процессы, вызванные им [6,10]. Однако признаки репаративно-восстановительных процессов в данной группе преобладали.

В группах с введением ТХМ в дозе 0,5 и 1 г/кг усилилось проявление признаков некробиотических процессов: дополнительно выявлены кровенаполненность сосудов и выход крови в паренхиму, что также согласуется с данными некоторых авторов [3].

Наиболее серьезные повреждения обнаруживались в печени крыс групп с введением ТХМ в дозе 2 и 4 г/кг. Крупнокапельная вакуолизация III зоны в направлении к I зоне сменялась на мелкокапельную. О тяжести повреждений в паренхиме печени крыс данных групп свидетельствовали мостовидные некрозы, протягивающиеся между центральными венами. Известно, что мостовидные некрозы могут приводить к образованию септального фиброза [3,5,8,11].

Выводы: таким образом, через 72 часа после введения ТХМ в дозах до 1 г/кг в паренхиме крыс обнаруживаются признаки репаративно-восстановительных процессов, выражающихся в удалении погибших гепатоцитов воспалительными клетками, увеличении количества двуядерных гепатоцитов, гипертрофированных, полиплоидных клеток.

Необратимые повреждения через 72 часа после введения вещества, которые могут приводить к хронизации процессов в печени, наблюдались при дозах выше 2г/кг - выявлялись центрально-центральные мостовидные некрозы, воспалительные инфильтраты.

Список литературы:

- 1 Большухин, С. Ю. Влияние тетрахлорметана на состояние процессов липопероксидации крови и печени крыс / С. Ю. Большухин и др. //Биорадикалы и антиоксиданты. – 2014. – Т. 1, №. 1.
- 2 Экспериментальная фармакокоррекция токсических поражений печени антиоксидантами /В.А. Мышкин, А.Б. Бакиров, Э.Ф. Репина, Д.О. Каримов. — Уфа: Принт-2, 2016. — 173с.
- 3 Нартайлаков, М. А. Экспериментальное обоснование стимуляции регенерации печени фетальной тканью и аллогенным диспергированным биоматериалом / М. А. Нартайлаков и др. //Медицинский вестник Башкортостана. – 2007. – Т. 2, №. 5.
- 4 Ратькин, А. В. Гепатопротекторы препятствуют токсическому действию циклофосфана на печень крыс при CCl₄-гепатите / А. В. Ратькин и др. //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т. 68. – №. 2. – С. 47-50.
- 5 Смольякова, В. И. Гепатопротекторные эффекты тиофана при экспериментальном поражении печени тетрахлорметаном / В. И. Смольякова и др. //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т. 74, №. 8. – С. 37-40.
- 6 Domitrović R. Preventive and therapeutic effects of oleuropein against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice / R. Domitrović et al. // Pharmacological research. – 2012. – Т. 65, №. 4. – С. 451-464.

- 7 Elmore, S. A. Recommendations from the INHAND apoptosis/necrosis working group / S. A. Elmore et al. //Toxicologic pathology. – 2016. – Т. 44, №. 2. – С. 173-188.
- 8 Krishna, M. Patterns of necrosis in liver disease / M. Krishna //Clinical Liver Disease. – 2017. – Т. 10, №. 2. – С. 53-56.
- 9 Lee, I. C. The involvement of Nrf2 in the protective effects of diallyl disulfide on carbon tetrachloride-induced hepatic oxidative damage and inflammatory response in rats / I. C. Lee et al. //Food and Chemical Toxicology. – 2014. – Т. 63. – С. 174-185.
- 10 Taniguchi, M. Molecular process in acute liver injury and regeneration induced by carbon tetrachloride / M. Taniguchi et al. //Life sciences. – 2004. – Т. 75, №. 13. – С. 1539-1549.
- 11 Wang M. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells reverse liver damage in a carbon tetrachloride-induced mouse model of chronic liver injury / M. Wang et al. //in vivo. – 2016. – Т. 30, №. 3. – С. 187-193.

Поступила/Received: 15.10.2018
Принята в печать/Accepted: 25.10.2018