

© Коллектив авторов, 2017
УДК 611.36:616-099:599.323.4

О.А.Зайко¹, О.В.Якубенко², В.В.Асташов¹, А.В.Синдирева³, С.И.Мозговой⁴

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ СЕЛЕНИТОМ НАТРИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ

¹ Кафедра анатомии человека (зав. — проф. В.И.Козлов), ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва; ² кафедра педагогики и психологии детства (зав. — канд. пед. наук Н.П.Мурзина), ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет»; ³ кафедра экологии, природопользования и биологии (зав. — проф. Н.А.Поползухина), ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А.Столыпина»; ⁴ кафедра патологической анатомии (зав. — проф. А.В.Кононов), ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет»

Изучали гистологические и биохимические изменения печени у 20 взрослых белых крыс-самцов после интрагастрального введения селенита натрия в дозе 5 мг/кг в течение 6 сут. Половине животных с целью коррекции поражений печени на фоне интоксикации селенитом перорально вводили раствор предшественников глутатиона (ПБГ). Группу контроля составили 10 интактных животных. Введение селенита приводило к нарушению гистоархитектоники печени, развитию деструктивных процессов в клетках перипортальной и центральной зон печеночной дольки. Нарушался отток лимфы и желчи из печеночной дольки, приводя к развитию отеков и расширению портальных трактов, межклеточных пространств с их последующей инфильтрацией нейтрофилами и лимфогистиоцитарными элементами. В центральных венах отмечено повреждение эндотелия, в синусоидах увеличивалось количество звездчатых макрофагов. Уменьшалось количество двуядерных гепатоцитов. Биохимически выявлены гипоксия, закисление тканей, интенсификация свободнорадикальных процессов, истощение фонда глутатиона, антиоксидантной системы и чрезмерная липопероксидация мембранных структур гепатоцитов. Введение крысам раствора ПБГ способствовало уменьшению выраженности и распространенности дистрофических изменений гепатоцитов, снижению степени мононуклеарной инфильтрации и венозного полнокровия печени на фоне усиления ее репаративной регенерации. Таким образом, восполнение дефицита глутатиона тормозило явления гипоксии, снижало степень липопероксидации мембранных структур печени и уменьшало тяжесть развивающихся в ней деструктивных процессов.

Ключевые слова: печень, структура, функция, селен, глутатион

Недостаточная обеспеченность организма селеном (Se) способствует развитию сердечно-сосудистых, онкологических, инфекционных и других заболеваний [1, 12]. С целью оздоровления населения Российской Федерации принято решение о массовой селенизации воды и продуктов питания [8]. Поскольку соединения этого микроэлемента имеют низкий терапевтический порог, даже относительно небольшое превышение их дозы способно привести к отравлению [15]. Молекулярные механизмы этого явления до конца не изучены, что лимитирует разработку методов детоксикации [10, 13, 14].

Цель исследования: выявить структурно-функциональные преобразования печени в экспериментальных условиях при пероральном введении высоких доз селенита натрия и после кор-

рекции аминокислотами, участвующими в биосинтезе глутатиона.

Материал и методы. Опыты проведены на 30 белых крысах-самцах массой 190–220 г, выращенных и содержащихся в стандартных условиях вивария Омского государственного медицинского университета. Крысы были разделены на 3 группы по 10 животных в каждой. Содержание, кормление, уход и выведение из эксперимента крыс осуществляли в соответствии с требованиями санитарных правил № 104573 от 06.04.73 г., приказа № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР, правил проведения качественных клинических испытаний в РФ (утвержденными МЗ РФ 29.12.98), положений Хельсинской декларации (2000).

1-ю (контрольную) группу составляли интактные животные. Крысам 2-й подопытной группы (Se) 1 раз в сутки в течение 5 сут интрагастрально, с помощью зонда вводили раствор селенита натрия в дозе 5 мг/кг массы. Животным 3-й подопытной группы (Se+ПБГ), которые тем же спосо-

Сведения об авторах:

Зайко Олег Александрович (e-mail: oleg.zayko@bk.ru), *Асташов Вадим Васильевич* (e-mail: vastashov3@gmail.com), кафедра анатомии человека, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

Якубенко Оксана Витальевна (e-mail: jakubenko_ov@mail.ru), кафедра педагогики и психологии детства, ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет», 644080, г. Омск, Проспект Мира, 32

Синдирева Анна Владимировна (e-mail: sindireva72@mail.ru), кафедра экологии, природопользования и биологии, ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П.А.Столыпина», 644008, г. Омск, ул. Институтская площадь, 1

Мозговой Сергей Игоревич, кафедра патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет», 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12

бом получали селенит натрия, дополнительно ежедневно в течение 5 сут перорально вводили раствор предшественников биосинтеза глутатиона (ПБГ): глутамата натрия, ацетилцистеина и глицина в дозах соответственно 20,0; 100,0 и 10 г/кг массы. На 6-е сутки исследования животных выводили из эксперимента под эфирным наркозом.

Исследовали печень, которую фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине (pH 7,2–7,4) в течение 12 ч и заливали в парафин по общепринятой методике. Серийные срезы, толщиной 4–5 мкм, изготавливали с использованием ротационного микротомы Microm HM-340E (Microm, Германия). Просматривали и фотографировали микропрепараты с использованием микроскопа Axioskop 40, фотокамеры MRc5 и программного комплекса AxioVision 4.8.2 (Carl Zeiss, Германия).

С помощью окулярной сетки при увеличении в 32 раза под микроскопом МБС-10 (ЛЗОС, Россия) проводили морфометрический анализ структурных компонентов печени: определяли относительные площади, занимаемые клетками и межклеточным пространством. Оценивали также выраженность инфильтрации, венозного полнокровия, наличие дистрофических изменений, некрозов. Активность репаративных процессов оценивали по относительному содержанию двуядерных гепатоцитов в одном поле зрения. Измерения проводили не менее чем в 20 полях зрения на микроскопе МИКМЕД-2 (ЛОМО, Россия) при помощи окулярной сетки, смонтированной в окуляр 10, под объективом 40 [9].

У животных брали кровь, которую разделяли на плазму и форменные элементы, и ткани печени, из которой готовили надмитохондриальную фракцию [6]. В последней определяли активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионпероксидазы (ГлПО), содержание глутатиона (G-SH) и малонового диальдегида (МДА). В печени также определяли содержание гликогена, а в приготовленных из нее липидных экстрактах — антиокислительную активность липидов (АОАЛ), содержание диеновых конъюгатов (ДК) и липофусциноподобного пигмента (ЛФПП). В крови определяли содержание билирубина и активность аланинаминотрансферазы (АлАТ). Результаты исследования обрабатывали статистически с использованием параметрических, непараметрических методов и корреляционно-регрессионного анализа.

Результаты исследования. При изучении морфологических преобразований печени у животных группы Се на 6-е сутки эксперимента были отмечены дистрофические изменения, которые распространялись на всю дольку. Нарушался отток лимфы, желчи из печеночной долики, приводя к развитию отеков и расширению портальных трактов, межклеточных пространств, содержащих лимфоцитарногистиоцитарные элементы и нейтрофилы.

Наиболее часто встречались гепатоциты с ядрами, имеющими 1–2 ядрышка, реже — 3 и совсем редко — 4. Содержание двуядерных гепатоцитов на 60,4 % уменьшилось по сравнению с таковым у интактных животных ($2,7 \pm 0,5$ и $6,7 \pm 0,3$ соответственно).

В печени у крыс этой группы происходило уменьшение АОАЛ на 19,6 % ($P = 0,0012$) по сравнению с аналогичным показателем в контрольной

группе. Активность СОД и каталазы на 6-е сутки острой интоксикации Се была снижена соответственно на 29,3 ($P = 0,0008$) и 23,2 % ($P = 0,0012$) по сравнению с таковой у животных контрольной группы.

Истощение фонда липидных антиоксидантов приводило в печени к чрезмерной липопероксидации мембранных структур, что выражалось в увеличении в ней содержания продуктов перекисного окисления липидов — ДК, МДА и ЛФПП (соответственно на 49,0 ($P = 0,0008$), 45,8 ($P = 0,0008$) и 155,6 % ($P = 0,0008$) по сравнению с аналогичными показателями у контрольных — интактных животных).

Активность ГлПО в печени крыс, подвергшихся острой интоксикации селенитом натрия, была снижена на 43,9 % ($P = 0,0008$) по сравнению с таковой у интактных животных. Торможению ее способствовало развитию дефицита G-SH, содержание которого в гепатоцитах было снижено на 32,1 % ($P = 0,0012$) по сравнению с контролем.

В группе Се+ПБГ гистоархитектоника органа выглядела сохранной. Некроз имел локальный характер (до 5–7 клеток) и выявлялся как в перипортальной, так и в периферической зонах долики, при наличии не более 3 локусов. В отдельных полях зрения отмечалась лимфоцитогистиоцитарная инфильтрация портальных трактов.

В печени животных данной группы происходило увеличение содержания G-SH и АОАЛ на 23,8 ($P = 0,0060$) и на 33,5 % ($P = 0,0012$) соответственно. В гомогенатах печени концентрация продуктов перекисного окисления липидов ДК, МДА и ЛФПП была снижена соответственно на 24,2 ($P = 0,0012$), 28,1 ($P = 0,0008$) и 44,6 % ($P = 0,0008$) по сравнению с аналогичными показателями у животных группы Се. Первые 2 параметра статистически значимо не отличались от контроля, а третий продолжал превышать его (на 46,7 %; $P = 0,0008$). Данное явление, наряду с сохранностью фонда G-SH, привело к повышению активности СОД и каталазы на 33,5 ($P = 0,0008$) и 25,6 % ($P = 0,0012$) соответственно. Введение ПБГ не оказывало влияния на активность ГлПО в печени животных группы Се. Она продолжала оставаться более низкой, чем у интактных крыс (на 15,9 %; $P = 0,0008$). Снижение степени деструкции печени способствовало меньшему поступлению из нее АлАТ. Активность последней в плазме крови у животных группы Се+ПБГ на 28,6 % была ниже, чем у крыс группы Се ($P = 0,0008$). Тем не менее она продолжала превышать аналогичный показатель у интактных крыс (на 69,5 %; $P = 0,0008$). О лучшей сохранности гепатоцитов свидетельствовала также более низкая, чем у крыс группы

Се, концентрация билирубина в сыворотке крови животных группы Се+ПБГ (на 35,3 %; $P = 0,0012$). Она статистически значимо не отличалась от аналогичного параметра у интактных крыс.

Обсуждение полученных данных. Многообразие повреждающего действия селенита натрия на клетки печени проявляется развитием деструктивных процессов не только в перипортальных клетках, но и в гепатоцитах центральной зоны печеночной дольки. Данное явление приводит к нарушению как синтетической, так и детоксикационной функции печени [4, 7]. Чрезмерной липопероксидации мембранных структур способствует также недостаточно эффективное функционирование ферментов, ответственных за инактивацию уже образовавшихся гидроперекисей липидов [5]. Истощение антиоксидантной системы, развитие дисбаланса между активностью ферментов оказывает цитотоксическое действие на клетки печени [6, 13]. Уменьшение фонда G-SH — одного из ведущих антиоксидантов в печени, являющегося также универсальным внутриклеточным антидотом при интоксикациях — можно связать с усиленным вовлечением данного трипептида в реакции инактивации перекисных соединений [11].

Выявленное уменьшение количества двуядерных гепатоцитов можно объяснить угнетением активности их репаративной регенерации, связанное с недостаточным обеспечением генома субстратами для биосинтеза ДНК и РНК, в частности, пуриновыми и пиримидиновыми нуклеотидами [2].

Из представленных нами данных следует, что одним из ведущих факторов повреждения гепатоцитов селенитом натрия является развившийся в организме дефицит G-SH. Нами была предпринята попытка предотвращения его путем введения крысам, подвергшимся интоксикации этим веществом, ПБГ: глутамата, ацетилцистеина и глицина.

Введение крысам на фоне селенита натрия раствора ПБГ способствует уменьшению дистрофических и некротических изменений в печени [3, 11]. Снижается степень воспалительной инфильтрации и венозного полнокровия на фоне усиления репаративной регенерации. Отмечаются признаки активации ретикулоэндотелиальной системы, выражающиеся в увеличении количества звездчатых макрофагов печени. В ядрах гепатоцитов выявляются множественные (2–4), увеличенные в размерах ядрышки. Возрастает количество двуядерных гепатоцитов.

Использование аминокислот, участвующих в биосинтезе G-SH, с целью коррекции изменений, связанных с введением больших доз селени-

та натрия, уменьшает дефицит антиоксидантов, степень развития процессов перекисного окисления мембранных структур, но полностью его не предотвращает.

Итак, ведение крысам больших доз селенита натрия приводит к развитию гипоксии с последующей интенсификацией анаэробного гликолиза, ведущей к закислению тканей лактатом. Это способствует чрезмерной интенсификации свободно-радикальных процессов, истощению антиперекисной защиты, уменьшению фонда G-SH, усилению липопероксидации мембранных структур гепатоцитов, с развитием нарушений гистоцитоархитектоники печени. Восполнение дефицита G-SH введением предшественников в его биосинтезе не только сглаживает явления гипоксии, снижает степень липопероксидации мембранных структур печени, но и уменьшает тяжесть развившихся в ней деструктивных процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Основы патологоанатомической практики. М.: Медицина, 1994.
2. Азизова М.А. Морфология и некоторые морфометрические параметры печени лабораторных животных с различным характером питания // Наука молодых. 2016. № 2. С. 6–13.
3. Вредные химические вещества. Неорганические соединения V–VIII групп: справ. изд. / Под ред. В.А. Филова. Л.: Химия, 1989.
4. Кашаева М.Д. Морфология печени и почек при печеночной недостаточности // Морфология. 2008. Т. 133, вып. 2. С. 61.
5. Конвай В.Д. и Воронов О.Э. Роль острого нарушения метаболизма пуринов в патогенезе повреждений печени низкими температурами // Омский научный вестник. 2007. № 2(57). С. 24–30.
6. Конвай В.Д., Золин П.П. Роль острого нарушения метаболизма пуринов в развитии постреанимационной патологии печени // Омский научный вестник. 2003. № 3 (24), С. 168.
7. Милуков В.Е., Маршудова Х.М. Современные клинко-анатомические представления о строении и функциях печени // Журн. анат. гистопатол. 2014. Т. 3, № 1(9). С. 64–70.
8. Приказ главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 5 от 11.07.2000 г. О коррекции качества питьевой воды по содержанию биогенных элементов. М. 2000.
9. Сапожников А. Г., Доросевич А.Е. Гистологическая и микроскопическая техника: руководство. Смоленск: Изд. САО, 2000.
10. Скальный А.В., Киселев М.Ф. Элементный статус населения России. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2010.
11. Толпыгина О.А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты // Бюл. Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. 2012. Т. 2, № 2. С. 178–180.
12. Эллотт В., Эллотт Д. Биохимия и молекулярная биология. М.: Изд. НИИ биомед. химии РАМН, 2000.
13. Fordyce F.M., Zhang G., Green K., Liu X. Soil, grain and water chemistry and human selenium imbalance in Enshi District,

- Hubei province // China. Appl. Geochem. 2000. Vol. 15, № 1, P. 117–132.
14. Knight R., Marlatt V.L., Baker J.A. et al. Dietary selenium disrupts hepatic triglyceride stores and transcriptional networks associated with growth and Notch signaling in juvenile rainbow trout // Biomed Khim. 2015. Vol. 61, № 4. P. 449–461.
15. Zhang R., Yi R., Bi Y. et al. The Effect of Selenium on the Cd-Induced Apoptosis via NO-Mediated Mitochondrial Apoptosis Pathway in Chicken Liver // Aquat. Toxicol. 2016. Vol. 180. P. 103–114.

Поступила в редакцию 19.12.2016
Получена после доработки 03.03.2017

MORPHO-FUNCTIONAL CHANGES OF THE LIVER IN AN ACUTE INTOXICATION WITH SODIUM SELENITE AND THEIR CORRECTION

*O.A.Zayko¹, O.V.Yakubenko², V.V.Astashov¹,
A.V.Sindireva³, S.I.Mozgovoy⁴*

Histological and biochemical changes of the liver were studied in 20 adult male albino rats after intragastric administration of sodium selenite at a dose of 5 mg/kg during 6 days. One half of the animals received orally the solution of glutathione biosynthetic precursors (GSP) for correction of the liver damage. The control group was formed by 10 intact animals. The administration of sodium selenite resulted in the disruption of liver histo-

architectonics, development of destructive processes in the cells of the periportal and the central zones of hepatic lobules. The outflow of lymph and bile from the hepatic lobules was compromised, leading to the development of edema and expansion of the portal tracts, intercellular spaces, with their subsequent infiltration with neutrophils and lympho-histiocytic elements. In the central veins, marked endothelial damage was noted, while in the sinusoids, a number of stellate macrophages was increased. The number of binucleated hepatocytes was decreased. Biochemical analysis demonstrated hypoxia, acidification of the tissues, intensification of free radical processes, depletion of glutathione stores and antioxidant system, excessive lipid peroxidation of membranous structures of hepatocytes. Administration GSP solution to rats lead to the decrease in the severity and extension of hepatocyte dystrophic changes, reduction in the extent of mononuclear cell infiltration and venous hyperemia of the liver, associated with the activation of its reparative regeneration. Thus, the replenishment of glutathione deficiency inhibited the phenomenon of hypoxia, decreased the degree of lipid peroxidation of liver membranous structures and reduced the severity of destructive processes developing in it.

Key words: *liver, structure, function, selenium, glutathione*

¹ Department of Human Anatomy, Russian University of People's Friendship, Moscow; ² Department of Pedagogy and Psychology of Childhood, Omsk State Pedagogical University; ³ Department of Ecology, Environmental Management and Biology, Omsk State Agrarian University; ⁴ Department of Pathological Anatomy, Omsk State Medical University