

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

© Коллектив авторов, 2017
УДК 611.36.018:612.273.2:599.323.4

Р.В.Янко, М.И.Левашов, В.А.Березовский, Е.Г.Чака, Л.Н.Плотникова, И.Г.Литовка

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ ГЕПАТОЦИТОВ У ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ И НОРМОТЕНЗИВНЫХ КРЫС

Отдел клинической физиологии соединительной ткани (и.о. зав. — д-р мед. наук М.И.Левашов), Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАНУ, г. Киев, Украина

Цель работы — исследовать морфологические особенности гепатоцитов у нормотензивных (Вистар) и спонтанно-гипертензивных (линия SHR) крыс-самцов.

Материал и методы. На препаратах печени 24 крыс обеих линий, окрашенных гематоксилином—эозином, по Ван-Гизону и методом Массона, проводили гистологические и морфометрические исследования.

Результаты. Выявлены различия в структуре печени между крысами разных линий. Так, в печени у крыс линии SHR наблюдали достоверно большие размеры гепатоцитов и их ядер, ядерно-цитоплазматическое соотношение, большее количество двуядерных клеток по сравнению с животными линии Вистар.

Выводы. Выявленные морфологические особенности гепатоцитов у спонтанно-гипертензивных крыс, вероятно, отражают более высокий уровень метаболических процессов, чем свойственный гепатоцитам крыс линии Вистар.

Ключевые слова: *гепатоциты, морфометрия, крысы линий Вистар и SHR*

Клинические наблюдения свидетельствуют о том, что длительная артериальная гипертензия (АГ) может привести к нарушению морфофункционального состояния печени, что, в свою очередь, негативно отражается на характере и тяжести течения заболевания [4].

Крысы линии SHR являются адекватной моделью для изучения патогенеза АГ, а также для исследования сопутствующих ей изменений в организме. Исследования, в которых была бы дана морфометрическая характеристика гепатоцитов у крыс линии SHR и проведено сравнение с таковой у нормотензивных животных, отсутствуют. Эта проблема актуальна, так как крысы линии SHR могут иметь и иные генетически-детерминированные особенности других органов и систем, которые оказывают влияние на механизмы развития и характер течения АГ.

Цель данной работы — исследовать морфометрические различия гепатоцитов у спонтанно-гипертензивных и нормотензивных крыс.

Материал и методы. Исследование проведено на 24 крысах-самцах нормотензивных — линии Вистар и спонтанно-гипертензивных — линии SHR. Животные были взяты из вивария питомника Института физиологии им. А.А.Богомольца НАНУ. Все протоколы исследований соответствовали положениям Европейской конвенции

о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей (г. Страсбург, 1985). На данное исследование получено разрешение локального этического комитета (№ 7 от 31.02.2015 г.). Возраст крыс в конце эксперимента составлял 4 мес, масса — 330 ± 10 г. Крысы находились в унифицированных условиях на стандартном рационе питания. Артериальное давление у крыс определяли неинвазивным методом на хвостовой артерии. Все измерения проводили с помощью сфигмоманометра (S-2 SHE, Германия). В эксперимент брали крыс линии SHR с систолическим давлением не ниже 145 мм рт. ст. Систолическое давление у крыс линии Вистар в среднем составляло 120 мм рт. ст.

Крыс декапитировали под эфирным наркозом.

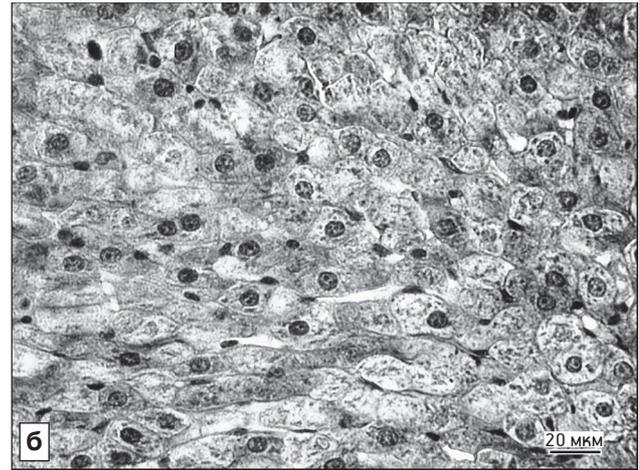
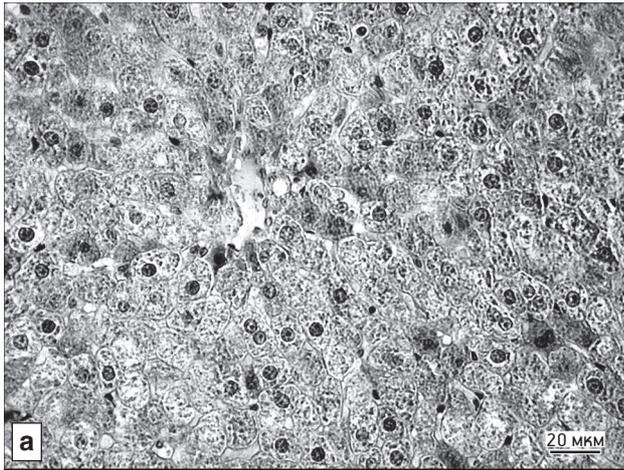
Для морфологических и морфометрических исследований из печени изготавливали гистологические препараты по стандартной методике. Срезы окрашивали гематоксилином Бемеера — эозином, по Ван-Гизону и методом Массона [1]. При использовании цифровой камеры микропрепараты фотографировали на микроскопе «Nicon» (Япония). Морфометрию осуществляли с помощью компьютерной программы «Image J».

На гистологических срезах печени при ув. 400 подсчитывали количество гепатоцитов; измеряли их диаметр, площадь поперечного сечения клеток, цитоплазмы и ядер. Измеряли расстояние между ядрами смежных клеток; подсчитывали количество ядрышек в 100 ядрах.

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью программного обеспечения Statistica 6.0 for Windows и программы Microsoft Excel 2010. Значимость

Сведения об авторах:

Янко Роман Васильевич (e-mail: biolag@ukr.net), Левашов Михаил Иванович (e-mail: levashov@biph.kiev.ua), Березовский Вадим Акимович (e-mail: vadber@biph.kiev.ua), Чака Елена Георгиевна (e-mail: lenchaka@ukr.net), Плотникова Лидия Николаевна (e-mail: lidiiyanik@ukr.net), Литовка Ирина Георгиевна (e-mail: litir@biph.kiev.ua), отдел клинической физиологии соединительной ткани, Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАНУ, 01024, Украина, г. Киев, ул. Богомольца, 4



Печень крысы линии Вистар (а) и линии SHR (б).

Окраска гематоксилином Бемера — эозином. Ув. 400

различий между контрольными и экспериментальными группами после предварительной проверки на нормальность оценивали по t-критерию Стьюдента. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования. У крыс как линии Вистар, так и линии SHR пластинки гепатоцитов имели радиальную направленность, центральные вены, ветви воротной вены, синусоиды оставались умеренно кровенаполненными. Междольковая соединительная ткань выражена слабо. Гепатоциты — среднего и большого размера, имели хорошо выраженные контуры, ядра — округлой формы, расположенные в центре клетки, ядрышки — округлой формы, среднего размера (рисунк). Окраска цитоплазмы была умеренно интенсивной, иногда в ней встречались вакуоли или включения.

Сравнительные исследования морфометрических данных структуры паренхимы печени у интактных крыс двух разных линий позволили выявить определенные различия. Гепатоциты у крыс линии SHR имели значимо большие размеры, а именно — площадь поперечного сечения клетки, её ядра и цитоплазмы превышали на 22, 34 и 20% соответствующие показатели у крыс линии Вистар. Ядерно-цитоплазматическое отношение у спонтанно-гипертензивных крыс было большим на 12%, чем у нормотензивных животных. Количество одноядерных гепатоцитов (в поле зрения) у крыс линии SHR было меньше, что, вероятно, связано с их большими размерами. Количество двуядерных клеток и соотношение двуядерных/одноядерных гепатоцитов у этой линии крыс было значимо больше на 17 и 21% соответственно, чем у животных линии Вистар. Значимых различий количества ядрышек в ядрах гепатоцитов и расстояния между ядрами смежных клеток у крыс разных линий не выявлено. Ядрышко-

ядерное соотношение гепатоцитов у спонтанно-гипертензивных крыс было меньше на 26%, что связано с большими размерами ядер клеток, чем у нормотензивных животных (таблица).

Обсуждение полученных данных. В результате проведенных исследований обнаружены различия структуры гепатоцитов у гипертензивных и нормотензивных живот-

Морфометрическая характеристика функционального состояния гепатоцитов у крыс разных линий ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Исследованные показатели	Линия Вистар	Линия SHR
Диаметр гепатоцита, мкм	20,0±0,26	21,9±0,6
Площадь, мкм ² :		
гепатоцита	341±15	415±17*
ядра	49,1±1,6	65,9±1,5*
цитоплазмы	292±13	349±14*
Ядерно-цитоплазматическое отношение, усл. ед.	0,170±0,006	0,190±0,009
Количество гепатоцитов, шт. (в поле зрения при ув. 400):		
общее	126±2,9	123±6
одноядерных	123±3	120±6
двуядерных	3,0±0,11	3,50±0,10*
Соотношение двуядерные/одноядерные гепатоциты, усл. ед.	0,024±0,001	0,029±0,001*
Количество ядрышек в ядре	1,69±0,04	1,64±0,05
Ядрышко-ядерное соотношение, усл. ед.	0,034±0,001	0,025±0,002*
Расстояние между ядрами смежных гепатоцитов, мкм	11,4±0,4	11,7±0,4

* Различия по сравнению с показателями у крыс линии Вистар значимы при $p < 0,05$.

ных. У крыс линии SHR отмечены большие размеры гепатоцитов, их ядер, ядерно-цитоплазматическое отношение, количество двуядерных клеток, чем у крыс линии Вистар, что свидетельствует, прежде всего, о более значительной функциональной активности паренхимы печени крыс линии SHR, активации внутриклеточных гиперпластических процессов, повышении энергетических и регенераторных возможностей клеток [5]. Для печени всех млекопитающих характерно наличие двуядерных гепатоцитов, количество которых изменяется на протяжении жизни. Большинство исследователей склонны считать, что образование двуядерных гепатоцитов из одноядерных представляет собой резерв полиплоидизации, которая равнозначна клеточно-му размножению [3].

Результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод о том, что гепатоциты у спонтанно-гипертензивных крыс имеют более высокий уровень метаболических процессов, чем у крыс линии Вистар. Этот факт может отражать общую закономерность генетически детерминированных различий в интенсивности метаболических процессов у крыс этих линий.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: М.И.Л., В.А.Б., И.Г.Л.

Сбор и обработка материала: Р.В.Я., Е.Г.Ч.

Статистическая обработка данных: Л.Н.П.

Анализ и интерпретация данных: Р.В.Я., В.А.Б.

Написание текста: Р.В.Я., М.И.Л.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. СПб.: СпецЛит, 2010. 95 с. [Korzhevskij D. Je., Giljarov A. V. Fundamentals of histological technique. St. Petersburg: SpecLit, 2010. 95 p. In Russ.].
2. Никоненко А.Г. Введение в количественную гистологию. Киев: Книга-Плюс, 2013. 256 с. [Nikonenko A. G. Introduction to quantitative histology. Kiev: Kniga-Plus, 2013. 256 p. In Russ.].
3. Романова Л.П., Малышев И.И. Роль двуядерных гепатоцитов в регенерации печени после механической травмы в раннем онтогенезе у крыс // Вестн. Чувашск. ун-та. 2011. № 3. С. 398–402 [Romanova L. P., Malyshev I. I. The role of binuclear hepatocytes in liver regeneration after mechanical trauma in early ontogenesis in rats // Vestnik Chuvashskogo universiteta. 2011. № 3. P. 398–402. In Russ.].
4. Henriksen J. H., Moller S. Hypertension and liver disease // Curr. Hypertens. Rep. 2004. Vol. 6, № 6. P. 453–461.
5. Rui L. Energy metabolism in the liver // Comp. Physiol. 2014. Vol. 4, № 1. P. 177–197. doi: 10.1002/cphy.c130024.

Поступила в редакцию 13.03.2017

Получена после доработки 12.06.2017

MORPHOMETRIC DIFFERENCES OF HEPATOCYTES FROM HYPERTENSIVE AND NORMOTENSIVE RATS

Yanko R. V., Levashov M. I., Berezovskiy V. A., Chaka Ye. G., Plotnikova L. N., Litovka I. G.

Objective — to examine the morphological peculiarities of hepatocytes of normotensive (Wistar) and spontaneously hypertensive (SHR) young male rats.

Material and methods. Histological and morphometric studies were performed on the sections of liver of 24 rats of both strains stained with hematoxylin—eosin, Van Gieson, and using Masson method.

Results. The differences in the structure of the liver between the rats of different strains were demonstrated. In the liver of SHR rats, the hepatocytes had significantly larger cell and nuclear sizes, higher nuclear-cytoplasmic ratio and proportion of binucleated cells, as compared to those in Wistar rats.

Conclusions. Morphological features of hepatocytes from spontaneously hypertensive rats probably reflect the higher level of their metabolic processes than in Wistar rat hepatocytes.

Key words: *hepatocytes, morphometry, Wistar and SHR rats*
Department of Clinical Physiology of Connective Tissue, A.A. Bogomolets Institute of Physiology NASU, 4 Bogomoletz St, 01024 Kiev, Ukraine