

УДК 612.215.3-02:616.711/.714-001-085:611.013]-092.9

© Р. М. БОРИС¹, Т. В. ДАЦКО²ДП "Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України"¹, м. Одеса
ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України"²

Структурна перебудова печінки у динаміці експериментальної краніоскелетної травми та її корекції фетальними нервовими клітинами

R. M. BORYS¹, T. V. DATSKO²SE "Ukrainian Scientific Research Institute of Transport Medicine of MPH of Ukraine"¹ Odessa
Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky²

STRUCTURAL ALTERATION OF LIVER IN THE DYNAMICS OF EXPERIMENTAL CRANIAL-SKELETAL INJURYS AND ITS CORRECTION BY FETAL NERVE CELLS

В умовах експериментальної краніоскелетної травми відбуваються виражені структурні зміни в тканині печінки, які проявляються порушеннями структури часточки і балкової організації гепатоцитів, розвитком дистрофічних змін, що переважають у ранні періоди експерименту. Введення суспензії кріоконсервованих фетальних нервових клітин потенціює адаптаційні механізми і частково покращує структурну організацію гепатоцитів, підсилює регенерацію і потенціює відновлення часткової структури.

In the conditions experimental cranio-skeletal injury the expressed structural changes in the liver tissue, distraction of the lobules structure degeneration of hepatocytes, the development of degenerative changes that are prevalent in the early periods of the experiment were marked. The introduction of a suspension of cryopreserved fetal nerve cells potentiates the adaptive mechanisms and partially improves the structural organization of hepatocyte regeneration amplifies and potentiates recovery structure.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, протягом останніх 10–15 років кількість випадків черепно-мозкових травм збільшувалася у середньому на 2 % щорічно. У структурі травматизму на їх частку припадає 2/3 смертельних випадків. В останні десятиріччя спостерігають збільшення не тільки кількості черепно-мозкових ушкоджень а й тяжкості їх перебігу, особливо при поєднанні із скелетними травмами [4]. Це пов'язано із різким збільшенням кількості транспортних засобів, стрімкою урбанізацією тощо. Як правило, травмуються люди молодого і середнього, тобто найбільш працездатного віку, що надає проблемі не тільки медичного, а й важливого соціального значення.

Сукупність відхилень на тлі травматичної хвороби часто призводить до розвитку поліорганної недостатності, яка погано піддається традиційним засобам інтенсивної терапії і потребує нових підходів до її корекції [6]. Одним із новітніх методів корекції є застосування фетальних нервових клітин, які завдяки наявності недиференційованих структур здатні продукувати низку біологічно-активних речовин, що належать до регуляторів "надсистем-

ної" дії [1, 7]. Тому цей метод вважають перспективним для зниження інтенсивності системної реакції організму на запалення, яке виникає в умовах травматичної хвороби. Одним із органів, які піддаються цьому впливу на тлі тяжкої травми, є печінка [2]. Тому дослідження її патоморфологічних змін в динаміці політравми є важливим критерієм оцінки ефективності системного впливу фетальних нервових клітин і потребує глибокого дослідження.

Мета роботи: вивчити структурну перебудову печінки в динаміці періодів ранніх і пізніх проявів травматичної хвороби на тлі краніоскелетної травми та за умов введення суспензії кріоконсервованих фетальних нервових клітин щура.

Матеріали і методи. Експерименти виконано на 104 нелінійних білих щурах-самцях масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин поділили на три групи: контрольну і дві дослідні. У контрольну групу увійшли 8 інтактних тварин. У тварин обох дослідних груп (по 48 тварин) під тіопентало-натрієвим наркозом (40 мг×кг⁻¹ маси тіла) моделювали закриту черепно-мозкову травму за методикою [1, 7] у власній модифікації. Енергія удару становила 0,375 Дж, що відповідало

травмі середнього ступеня тяжкості. Крім цього, спеціально розробленим пристроєм наносили однократний удар по кожному стегну, що викликало закритий перелом стегнових кісток.

Через 12 год після травмування тваринам однієї із дослідних груп внутрішньочеревно вводили суспензію кріоконсервованих фетальних нервових клітин щура в дозі 5×10^6 клітин на 100 г маси тварини [7]. Суспензію фетальних нервових клітин виготовляли в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України (м. Харків) шляхом щадної механічної дисоціації фрагментів мозку ембріонів щурів 11-ти діб гестації і кріоконсервування на програмному заморожувачі УОП-6. Відігрівання зразків проводили на водяній бані при температурі 37°C . Тваринам іншої дослідної групи внутрішньочеревно вводили еквівалентний об'єм фізіологічного розчину. Тварин виводили з експерименту через 3, 7, 14 і 25 діб посттравматичного періоду. Для гістологічного дослідження тканину печінки фіксували в нейтральному 10 % розчині формаліну і заливали в парафін. Гістологічні зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Оцінювали структурну організацію печінкової часточки.

Під час роботи з лабораторними тваринами дотримувались міжнародних вимог щодо гуманного поводження з тваринами згідно із правилами "Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою" (European Convention, 1984); методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України про "Доклінічні дослідження лікарських засобів" (2001). Евтаназію щурів в усіх експериментах проводили шляхом тотального кровопускання з серця після попереднього тіопентало-натрієвого наркозу ($60 \text{ мг} \times \text{кг}^{-1}$ маси тіла тварини внутрішньочеревно).

Результати досліджень та їх обговорення.

При гістологічному дослідженні тканини печінки на 3 добу моделювання краніоскелетної травми виявлено, що структура печінкової часточки була збереженою частково. Центральні вени розширювались, в їх просвітах спостерігались еритроцити. Синусоїди погано контурувались, містили поодинокі макрофаги (рис. 1). Балкова організація гепатоцитів була порушеною, клітини мали різну форму ядер, окремі з них були із явищами білкової дистрофії цитоплазми. Портальні тракти помірно розширювались за рахунок незначного повнокров'я судин портальних зон та периваскулярного набряку із дрібноклітинною інфільтрацією.

Жовчні протоки були не розширені, явищ внутрішньоклітинного холестазу не спостерігали.

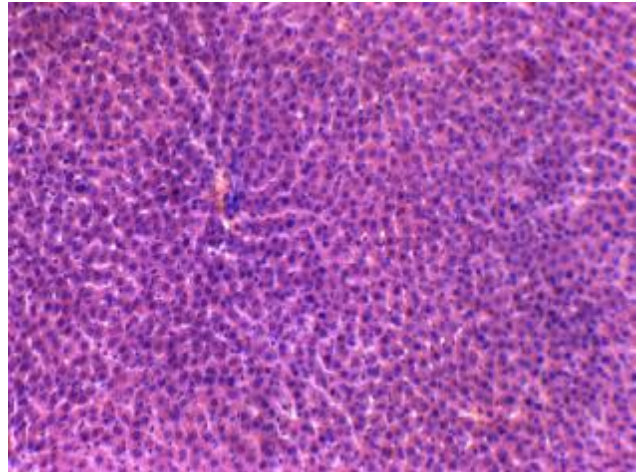


Рис. 1. Порушення часточкової структури печінки на 3 добу моделювання краніоскелетної травми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

На 7 добу експерименту структура печінкової часточки дещо відновлювалась, центральні вени розширювались більше і містили невелику кількість еритроцитів. Синусоїдні гемокапіляри візуалізувались добре, в їх просвітах виявлялись еритроцити та макрофаги. Дещо відновлювалась балкова організація гепатоцитів, проте зміни встановлені у структурі самих гепатоцитів, про що свідчили ознаки дрібнокраплинної жирової дистрофії в цитоплазмі та деструктивні зміни окремих ядер (рис. 2).

Ділянки портальних трактів незначно розширювались за рахунок повнокров'я судин, периваскулярного набряку. Жовчні протоки візуалізувались слабо, явищ внутрішньоклітинного холестазу не спостерігали.

На 14 добу експерименту структура печінкової часточки значно змінювалась, це супроводжувалось порушенням балкової організації. Центральні

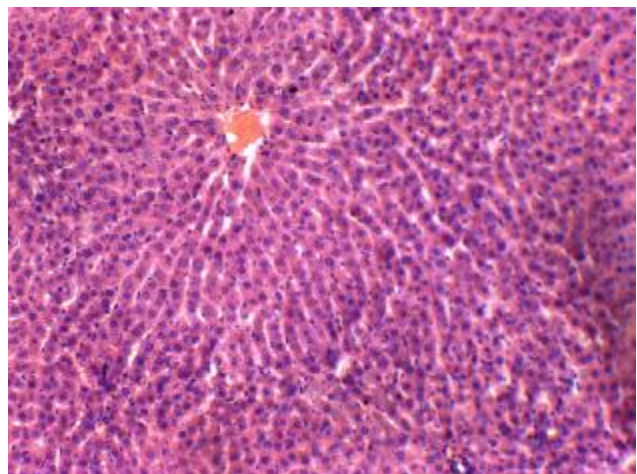


Рис. 2. Дрібнокраплинна жирова дистрофія окремих гепатоцитів на 7 добу моделювання краніоскелетної травми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

вени розширювались, окремі з них містили невелику кількість еритроцитів (рис. 3). Синусоїди на окремих ділянках погано візуалізувались, в їх просвітах накопичувались еритроцити та макрофаги. Балкова організація гепатоцитів була дещо порушеною, окремі клітини погано контурувались, змінювали структуру цитоплазми і ядра. Портальні тракти розширювались за рахунок повнокров'я судин, та периваскулярного набряку зі слабовираженою дрібноклітинною інфільтрацією.

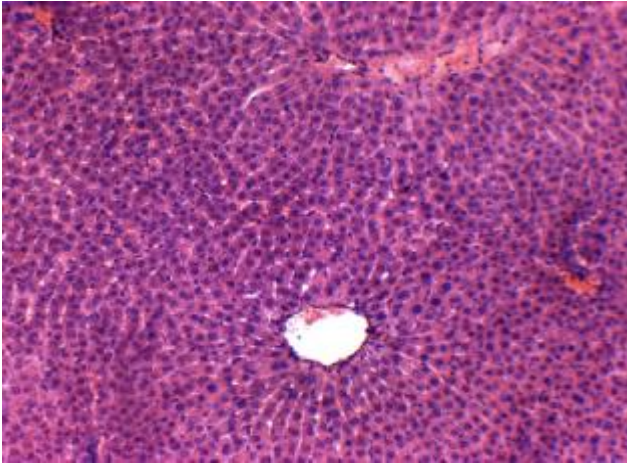


Рис. 3. Розширення центральних вен печінки на 14 добу моделювання краніоскелетної травми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

Жовчні протоки не розширювались, явищ внутрішньоклітинного холестазу не спостерігали.

До 25 доби експерименту структура печінкової часточки відновлювалась повільно, часточкова організація її була збереженою частково (рис. 4). Центральні вени залишалися розширеними і містили еритроцити. Синусоїди візуалізувались погано,

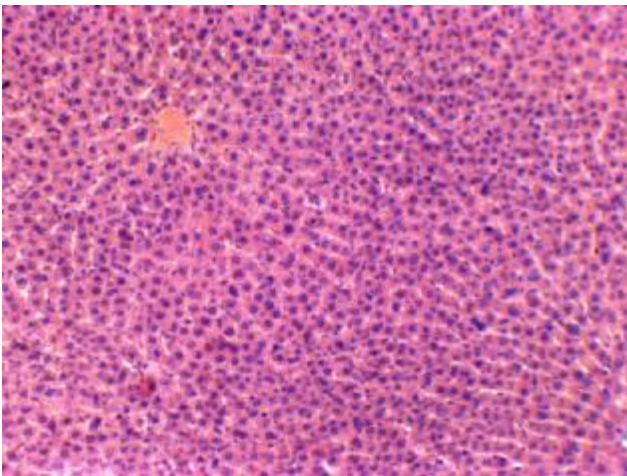


Рис. 4. Часткове збереження часточкової структури на 25 добу краніоскелетної травми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

в їх просвітах траплялися поодинокі макрофаги, балкова організація гепатоцитів залишалась порушеною. Контури клітин були не чіткими, цитоплазма однорідною. Портальні тракти були розширеними за рахунок повнокров'я судин.

Введення суспензії кріоконсервованих фетальних нервових клітин щурам із модельованою краніоскелетною травмою показало, що через 3 доби експерименту структурні зміни відображались покращенням балкової організації (рис. 5). При цьому центральні вени залишалися розширеними, у їх просвітах виявлялися еритроцити. В просвітах розширених синусоїдів виявлялися поодинокі еритроцити та макрофаги. Структура клітин усіх ділянок часточки була однотипною. Цитоплазма мала оксифільне забарвлення, чітко виражені ядра виявлялися у всіх клітин часточки.

Портальні тракти розширювались за рахунок слабовираженого периваскулярного набряку та незначної клітинної інфільтрації. Жовчні протоки контурувались погано.

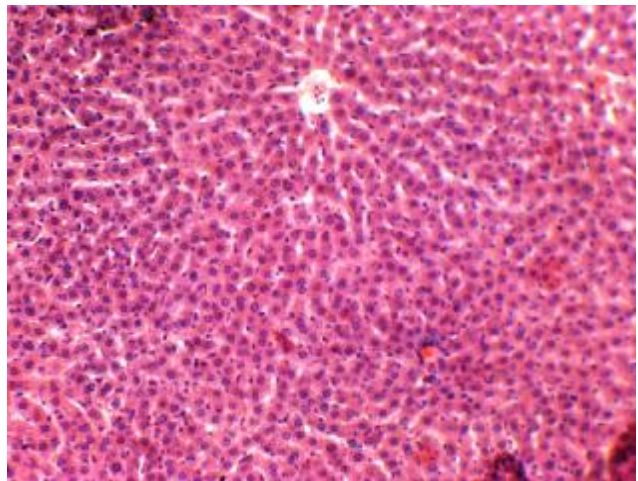


Рис. 5. Структура печінки на 3 добу краніоскелетної травми та її корекції фетальними нервовими клітинами. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

На 7 добу експерименту структура печінкової часточки залишалась збереженою, центральні вени дещо розширювались, проте їх просвіти були вільними від еритроцитів (рис. 6). Балкова організація гепатоцитів залишалась збереженою по всій довжині часточки. Структура клітин була однотипною, цитоплазма – насиченою, однорідною. Ядра, подекуди гіперхромні, містили усі клітини. Портальні тракти дещо розширювались за рахунок повнокров'я судин. Жовчні протоки візуалізувались слабо, ознак холестазу не спостерігали.

На 14 добу дослідження ми спостерігали помірне порушення структури печінкової часточки,

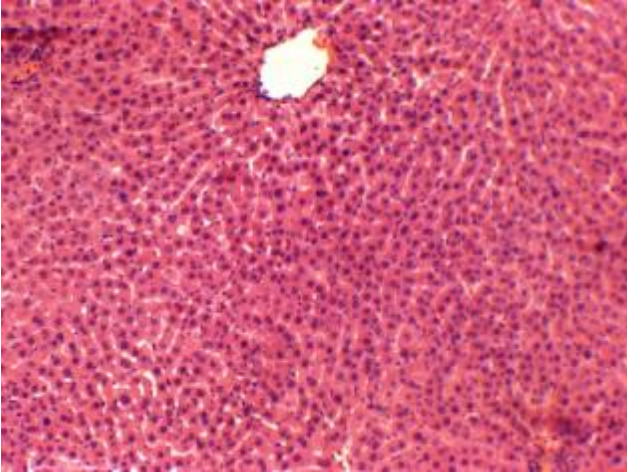


Рис. 6. Розширення центральних вен печінки на 7 добу краніоскелетної травми та її корекції фетальними клітинами. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

при цьому центральні вени та синусоїди практично не візуалізувались (рис. 7). Балкова організація часточки була збереженою частково. Структура клітин також була різною. Гепатоцити середньої третини часточки та перипортальних зон мали різну форму, неоднорідну структуру цитоплазми та ядер. У даних ділянках була слабовиражена білкова дистрофія, проте основна частина гепатоцитів залишалась неушкодженою.

Портальні тракти помірно розширювались за рахунок незначного повнокрів'я судин. Жовчні протоки не візуалізувались.

До 25 доби часточкова структура та балкова організація гепатоцитів відновлювались, при цьому центральні вени залишались розширеними та повнокровними. У просвітах синусоїдів виявляли поодинокі еритроцити та макрофаги. Структура

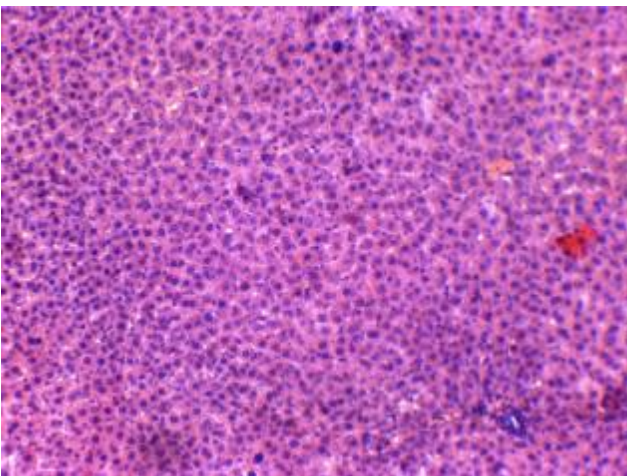


Рис. 7. Незначне порушення структури часточки на 14 добу краніоскелетної травми та її корекції фетальними нервовими клітинами. Забарвлення гематоксиліном та еозином. 180.

клітин була однорідною та однотипною. Гепатоцити середньої третини часточки та перипортальних зон мали однакову структуру цитоплазми та ядер. Портальні тракти мали звичайну структуру, жовчні протоки контурувались (рис. 8).

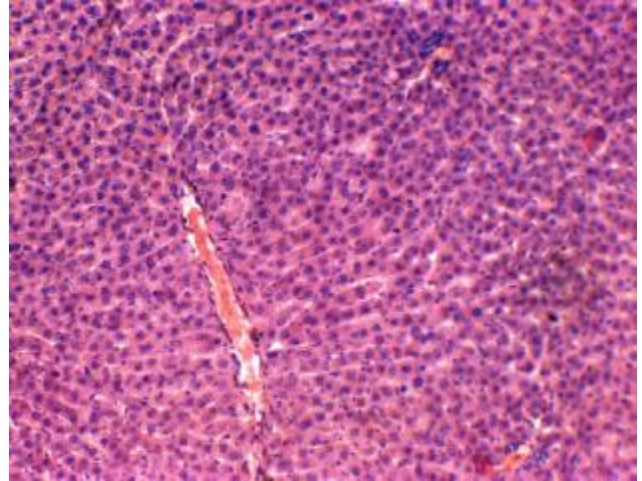


Рис. 8. Відновлення структури гепатоцитів на 25 добу після краніоскелетної травми та її корекції фетальними нервовими клітинами. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 180$.

При застосуванні клітинної терапії в структурі печінки виникали менші порушення внаслідок запобігання розвитку дистрофічних змін, особливо у віддаленому посттравматичному періоді. Відновлення структури гепатоцитів, яке мало місце у корегованих тварин, вказує на можливість системного впливу фетальних нервових клітин в умовах модельованої травми та перспективність застосування фетальної клітинної терапії в умовах тяжкої травми, і потребує поглибленого вивчення.

Висновки. 1. За умов експериментальної краніоскелетної травми відбуваються виражені структурні зміни в тканині печінки, які проявляються порушеннями часточкової будови та балкової організації гепатоцитів, розвитком дистрофічних змін, і є переважаючими з раннього періоду експерименту.

2. Введення суспензії кріоконсервованих фетальних нервових клітин потенціює адаптаційні механізми та частково покращує структурну організацію гепатоцитів, сприяє посиленню регенерації та відновленню часточкової будови.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі передбачається поглибити вивчення властивостей фетальної клітинної терапії в умовах тяжкої травми з використанням інших критеріїв її системних проявів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Апоптические процессы в тимусе и головном мозге при развитии экспериментального аллергического энцефаломиелимита до и после лечения фетальными нервными клетками / А. Н. Гольцев, Е. А. Порожан, Н. Н. Бабенко, М. В. Останков // Патология. – 2001. – Т. 8, № 2. – С. 69–72.
2. Клинико-патофизиологическое обоснование феномена взаимного отягощения у пострадавших при сочетанной закрытой травме / В. Н. Денисенко, В. В. Бурлука, Я. Л. Заруцкий [и др.] // Проблемы військової охорони здоров'я. – 2002. – С. 15–22.
3. Ельський В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельський, С. В. Зяблицев – Донецк : Новый мир, 2008. – 140 с.
4. Ельський В. Н. Патофизиология, диагностика и интенсивная терапия тяжелой черепно-мозговой травмы / В. Н. Ельський, А. М. Кардаш, Г. А. Городник ; под ред. В. И. Черния. – Донецк : Новый мир, 2004. – 200 с.
5. Peden M. World report on road traffic injury prevention. / M. Peden, R. Scurfield, D. Sleet [et al.] // Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004.
6. Рошчін Г. Г. Надання медичної допомоги постраждалим з політравмою на догоспітальному етапі : методичні рекомендації / [Г. Г. Рошчін, Ю. О. Гайдасв, О. В. Мазуренко та ін.]. – К., 2003. – 33 с.
7. Терапия фетальными нервными клетками в остром периоде экспериментального ишемического инсульта (антиоксидантный эффект) / Д. В. Лебединец, С. Е. Овсянников, В. В. Лебединец [и др.] // Проблемы криобиологии. – 2010. – Т. 20, № 3. – С. 338–347.

Отримано 19.04.13