

**Литература.** 1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: руководство / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с. 2. Зубрицкий А. И. Корреляционный анализ микрометрических параметров легочного сердца при хронических заболеваниях легких / А. И. Зубрицкий // Архив патологии. – 1982. – № 8. С. 38–43. 3. Калиновська І. Г. Імунітогенез кишечнику курей в постнатальному періоді онтогенезу / І. Г. Калиновська // Проблемизооінженерії та ветеринарної медицини : зб. наук.праць Харківської державної зооветеринарної академії. – 2009. – Вип. 19, ч. 2, т. 2. – С. 42–48. 4. Кононский А. И. Гистохимия / А. И. Кононский. – К. : Вища школа, 1976. – 280 с. 5. Крок Г. С. Гистогенез подэпителиальной лимфоидной ткани пищеварительного тракта у некоторых высокопродуктивных линий кур / Г. С. Крок, Н. А. Мусиенко // Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных : научные труды Харьковского зооветеринарного института. – 1976. – Т. 227. – С. 122–129. 6. Купер Э. Сравнительная иммунология / Э. Купер ; пер. с англ. А. М. Оловникова. – М. : Мир, 1980. – 422 с. 7. Лимфоциты. Методы / под ред. Дж. Клауса ; пер. с англ. А. Н. Маца, А. А. Фельдшеровой. – М. : Мир, 1990. – 375 с. 8. Плохинский Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. – М. : Медицина, 1970. – 367 с. 9. Селезнев С. Б. Морфо-функциональные аспекты иммунной системы птиц / С. Б. Селезнев // Новые подходы в естественных исследованиях : экология, биология, с.-х. науки. – Саранск, 2001. – Вып. 1. – С. 28–30. 10. Селезнев С. Б. Структурная организация иммунной системы птиц и млекопитающих : лекционный курс / С. Б. Селезнев. – М. : РУДН, 1999. – 31 с. 11. Хомич В. Т. Топография, макро- і мікроструктура локальної сумки курей / В. Т. Хомич, Т. А. Литвин // Ветеринарна медицина України. – 1998. – № 9. – С. 22–23. 12. Яглов В. В. Нерешённые проблемы нормальной и патологической морфологии диффузной эндокринной системы / В. В. Яглов, Н. В. Яглова // Архив патологии. – 2011. – № 5. – С. 58–62. 13. Dayal Y. Endocrine cells of the gut and their neoplasms / Y. Dayal // Pathology of the Colon, Small Intestine and Anus. – New York : Churchill Livingstone, 1983. – P. 267–300. 14. Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study / K. Sjolund, G. Sanden, R. Hakanson, F. Sundler // Gastroenterology. – 1983. – № 85. – P. 1120–1130. 15. Immunohistochemical study on the endocrine cells in the gastrointestinal tract of the ostrich / Bernin Gencer Tarakci, Mine Yaman, Ali Bayraktar, Ihsan Yaman // Medicine Wet. – 2008. – Vol. 64 (1). – P. 64–67. 16. Olah I. Meckel's diverticulum. II. A novel lymphoepithelial organ in the chicken / I. Olah, B. Glick, R.L.Jr. Taylor // Anatomical Record. – 1984. – Feb; 208(2). – P. 253–263. 17. Singh I. A. A modification of the Masson-Hamperl method for staining of argentaffin cells / I. A. Singh // Anat. Anz. – 1964. – Vol. 115, № 1. – P. 81–82.

Статья передана в печать 26.03.2015 г.

УДК 599.323.4:612.35

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС В НОРМЕ

\*Лебедева Е.И., \*Мяделец О.Д., \*\*Прудников В.С.

\*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
г. Витебск, Республика Беларусь,

\*\* УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,  
г. Витебск, Республика Беларусь

*Цель исследования – оценка морфофункциональной характеристики печени белых крыс в норме. Исследование выполнено на 24 крысах обоего пола. В статье представлены данные о качественном гистохимическом распределении гликогена, липидов, сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы.*

*The aim of the study was to evaluate the morphological and functional characteristics of the liver of normal white rats. The study was performed on 24 rats of both sexes. The article presents data on the qualitative histochemical distribution of glycogen, lipids, succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase.*

**Ключевые слова:** белые крысы, печень, гистохимические и гистоэнзимологические методы исследования.

**Keywords:** white rat liver, histochemical and histoenzymological methods.

**Введение.** Печень занимает центральное место в поддержании гомеостаза в организме. В ней синтезируются белки крови, фосфолипиды, холестерин, осуществляется биотрансформация ксенобиотиков, катаболизм гормонов и многие другие процессы [13]. Согласно современным представлениям, структурно-функциональной единицей печени является классическая доля. Наряду с представлениями о классической доле существуют понятия о печеночном ацинусе и портальной доле как об альтернативных структурно-функциональных элементах печени. Концепция печеночного ацинуса удачно отражает не только зональные функциональные различия гепатоцитов, касающиеся выработки ферментов и желчи, но и связь этих различий со степенью удаления гепатоцитов от осевых сосудов. Кроме того, эта концепция позволяет лучше понять многие патологические процессы в печени [10].

С помощью морфометрических и гистохимических методов давно показано, что гепатоциты, в зависимости от их локализации в пределах ацинуса существенно различаются по ультраструктуре, активности ферментов и чувствительности к гепатотропным ядам. Механизм этого явления остается до сих пор невыясненным [8, 12, 13].

Во всех гепатоцитах хорошо развит как гладкий, так и шероховатый эндоплазматический ретикулум (ЭР). У крыс наибольшая площадь гладкого ЭР выявлена в центролобулярных клетках (ЦЛК). Данные о распределении шероховатого ЭР весьма противоречивы. Так, в одних работах указывается, что наибольшее его количество обнаружено в ЦЛК [15]. Однако в других работах было показано, что наибольшее его содержание выявляется в перипортальных клетках (ППК) [17]. У человека наибольшая площадь гладкого ЭР выявлена в ЦЛ зонах, а шероховатого в ЭР–ПП зонах [13].

Количество митохондрий в ЦЛК печени крыс почти в 2 раза больше, чем в ППК. Однако у человека наибольшее количество этих органелл выявлено в ППК. Количество диктиосом комплекса Гольджи в гепатоцитах крыс, наоборот, в 2 раза больше в ППК, чем в ЦЛК. [14].

По данным автора [16], характер распределения пероксисом зависит от возраста животных. Так, у крыс в возрасте 6 и 10 месяцев количество этих органелл преобладает в перипортальной зоне, а в возрасте 16 месяцев и старше – в центрлобулярной зоне. У человека различий между зонами по количеству пероксисом не обнаружено.

Современные представления о распределении лизосом довольно противоречивы. У крыс наибольшее количество этих органелл одни авторы обнаружили в центрлобулярной зоне [15], а другие в – перипортальной зоне [16].

В нормальной печени животных и человека на полутонких и ультратонких срезах отчетливо видно подразделение гепатоцитов на светлые и темные клетки. Значение структурно-функциональной гетерогенности гепатоцитов в печеночной дольке оценивается неоднозначно. Наиболее распространенным является представление, согласно которому гетерогенность отражает особенности микроциркуляции в печеночной дольке. Предполагают также, что структурно-функциональная гетерогенность может отражать возрастные изменения гепатоцитов. Допускается существование генетически закрепленной специализации темных и светлых клеток для определенных функций. Такой наиболее вероятной функцией является обмен ксенобиотиков [12].

В печеночной клетке в зависимости от суточного ритма, функционального состояния и характера питания обнаруживаются в разных количествах включения гликогена, тогда как липиды практически не выявляются [12].

В изученной литературе за последние 15 лет практически отсутствуют данные о гистохимическом и гистоэнзимологическом исследовании печени у здоровых животных, а также их количественная и полная качественная оценка.

С учетом вышесказанного исследование морфофункциональной характеристики печени белых крыс в норме представляет значительный интерес. Целью настоящего исследования явилась оценка морфофункциональной характеристики печени белых крыс в норме.

**Материал и методы исследования.** Исследование выполнено на 24 здоровых половозрелых беспородных белых крысах обоего пола (12 самцов и 12 самок) массой 180–250г в осенне-зимний период. В работе использовали крыс одного возраста (90–100 дней), прошедших карантинный режим вивария и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Животных содержали в пластиково-металлических клетках с опилками, по 6 особей в каждой клетке, со свободным доступом к корму и воде, при естественном освещении и температуре  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ . Животные получены из вивария Витебского государственного медицинского университета. На выполнение данного исследования получено разрешение этического комитета. Содержание животных соответствовало требованиям СанПиН 2.12.12-18.2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев), утвержденных постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь № 131 от 31.10.2006». Все исследования проводили согласно правилам лабораторной практики РБ (приложение к приказу Министерства Здравоохранения Республики Беларусь № 31 от 31.10.2006). Животных умерщвляли одномоментной гильотинной декапитацией. Морфологические и биохимические исследования выполнены в НИИПВМ и Б Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины.

Для морфологических исследований использовали следующие методы:

1. Общегистологические: окраска гематоксилином-эозином [11].
2. Специальные методы: выявление соединительной ткани по Маллори в собственной модификации [4].
3. Гистохимические методы: выявления гликогена по методу А.Л. Шабадаша [11], контроль с амилазой слюны в термостате при температуре  $37^\circ\text{C}$  в течение 30 мин; выявление нейтральных липидов смесью суданов III и IV в собственной модификации [5].

4. Гистоэнзимологические методы. В нефиксированных срезах печени толщиной около 10 мкм, приготовленных на микротоме-криостате HM525 (Германия) из замороженного в жидком азоте материала, изучали активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ; КФ 1.3.99.1) по методу Нахласа с нитро-СТ и цитохромоксидазы (ЦХО; КФ 1.9.3.1) по методу Берстона. Приготовление красителей, буферных растворов и окраску препаратов проводили в соответствии с прописями, приведенными в руководствах [7, 11]. При проведении гистоэнзимологических реакций для контроля специфичности гистохимического обнаружения ферментов ставили контроли: инактивация ферментов высокой температурой ( $+80^\circ\text{C}$ ) и проведение реакций без субстратов. В обоих контролях в клетках, обладающих соответствующей ферментативной активностью, выявлялась отрицательная реакция.

Биохимические исследования выполняли на биохимическом автоматическом анализаторе EuroLyser (Австрия) с использованием стандартных диагностических наборов реактивов фирмы «Cormay» (Польша) [6].

Изучение гистологических препаратов выполняли с помощью микроскопа OLYMPUS BX 51 со встроенной видеокамерой OLYMPUS XC 30 (Япония).

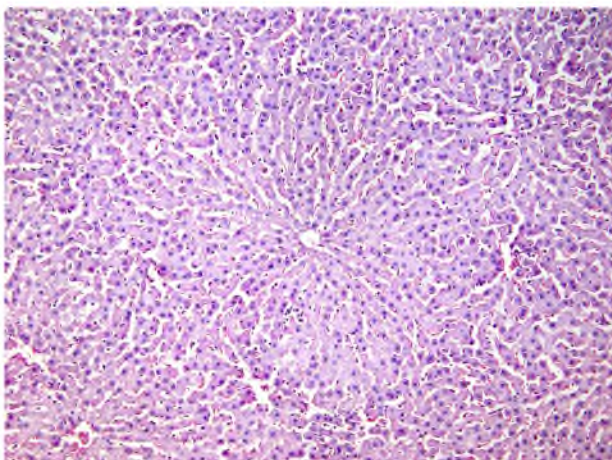
Статистический анализ полученных результатов проводили в табличном процессоре Microsoft Office Excel 2007 и STATISTIKA 6,1. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследований.** Наблюдение за здоровыми животными выявило у них активное поведение: перемещение и «изыскание лучшего места в группе», «настороженно-ожидательную» позу при незначительных болевых и тактильных раздражителях с избеганием, резкие голосовые и оборонительные реакции, царапающие и кусательные движения, хорошее поедание корма и частые «моющие» движения лапками. Все животные имели густой, гладкий, блестящий, не загрязненный волосистой покров. Видимые слизистые были бледно-розового цвета. Все это свидетельствовало о хорошем физическом состоянии и полном здоровье животных.

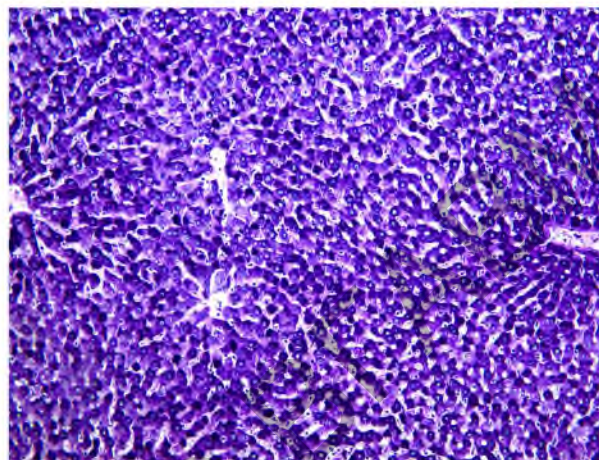
Вскрытие показало отсутствие внешних патоморфологических изменений внутренних органов. Печень белых крыс имеет следующие доли: левую боковую (самая большая), левую внутреннюю, правую внутреннюю, правую боковую, хвостатую и добавочную. Ее масса составляет 4–6% массы животного. Белые крысы, в отличие от других грызунов, лишены желчного пузыря. Кроме того, у них имеются существенные особенности в

образовании желчи, обмене билирубина, процессах регенерации печени. Крысы способны регидроксилировать литохоловую кислоту в ди- и тригидроксижелчные кислоты, чего не наблюдается у людей [3].

Гистологическое исследование срезов печени крыс показало, что структура паренхимы соответствовала норме (рисунок 1). Она характеризовалась радиально расположенными трабекулами гепатоцитов вокруг центральных вен, четко выраженными границами портальных кровеносных сосудов и желчных протоков. Часто печеночные балки анастомозировали друг с другом, и на срезах не всегда удавалось проследить их ход с периферии до центральной вены.



**Рисунок 1 – Классические печеночные дольки у intactных белых крыс. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200**



**Рисунок 2 – Срез печени intactных животных. Гликоген окрашен в фиолетово-вишневый цвет. Окраска по методу Шабадаша. Ув. 200**

Печень крыс покрыта тонкой соединительно-тканной глиссоновой капсулой, отдающей вглубь органа очень тонкие прослойки, которые разделяют ее на дольки. Эти прослойки выражены очень слабо и не выявляются. Границы печеночных долек определяются только по расположению междольковых сосудов и желчных протоков, которые формируют триады. Непосредственно под капсулой лежит один ряд гепатоцитов, образующих наружную терминальную пластинку [12].

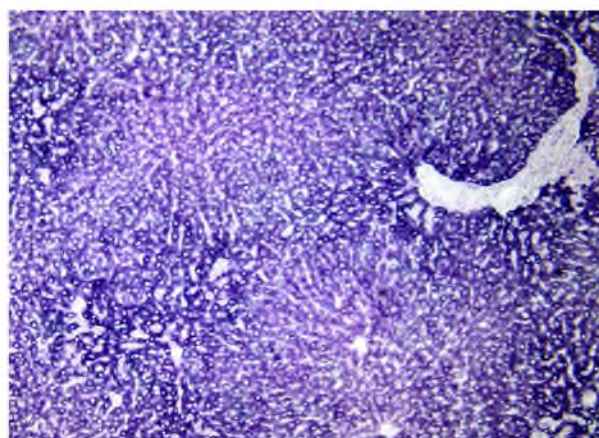
К высокоинформативным методам изучения печени относятся гистохимические, в том числе гистоэнзимологические методы исследования. Одним из лабильных показателей функционального состояния печени является содержание в гепатоцитах гликогена. При оценке результатов исследования следует учитывать, что его содержание зависит от методов умерщвления животных, особенностей их пищеварительного рациона и фазы пищеварения [1].

Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о том, что у intactных животных гликоген в гепатоцитах выявлялся в виде зерен фиолетово-вишневого цвета, которые заполняли всю цитоплазму (рисунок 2). В части гепатоцитов он был распределен в виде сети.

Критериями неблагоприятного действия химических веществ на печень является появление липидных включений в цитоплазме гепатоцитов [1,2]. Результаты исследования показали, что у здоровых животных на криостатных срезах липидные включения практически не выявлялись (рисунок 3).



**Рисунок 3 – Отсутствие липидов в клетках печени intactных животных. Окраска смесью суданов III и IV. Ув. 200**



**Рисунок 4 – Активность СДГ в клетках печени intactных животных. Окраска по Нахласу. Ув. 100**



Весьма информативным критерием нарушения гомеостаза в организме является изменение активности ряда ферментов и в первую очередь окислительно-восстановительных [1]. При изучении гистохимической активности фермента внутренней мембраны митохондрий СДГ (один из важных ферментов энергетического обмена), у крыс на препаратах отчетливо выявлялась максимальная активность фермента в гепатоцитах периферических отделов печеночных долек и вокруг сосудов. В то же время в центральных отделах дольки активность СДГ была значительно ниже, что подтверждает представления о структурно-функциональной гетерогенности гепатоцитов в печеночных дольках (рисунок 4).

Активность фермента цитохромоксидазы в печени интактных крыс была в основном равномерно распределена по цитоплазме гепатоцитов. Фермент выявлялся в виде мелких зерен коричневого цвета. Иногда на срезах встречались единичные клетки с более интенсивной окраской зерен. Редко обнаруживались также гепатоциты с участками цитоплазмы, в которых активность фермента была значительно ниже, чем в остальных участках (рисунок 5).

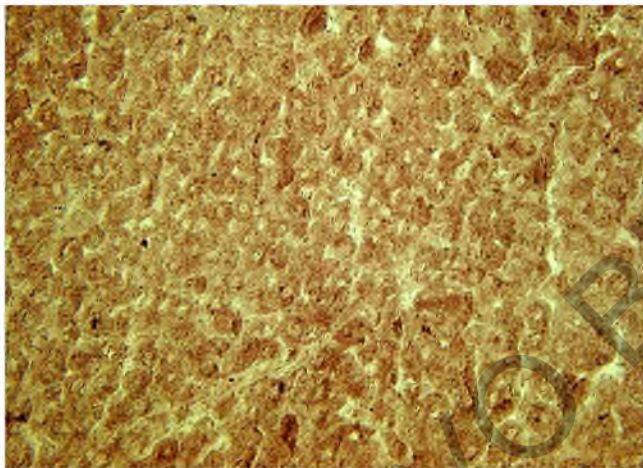


Рисунок 5 – Активность ЦХО в клетках печени интактных животных. Окраска по Берстону. Ув. 400

Биохимические данные сыворотки крови интактных белых крыс приведены в статье [6].

**Заключение.** Таким образом, настоящее исследование позволило выявить следующие признаки, характеризующие печень интактных крыс. Во-первых, в гепатоцитах практически полностью отсутствуют липиды. Это связано с тем, что образующиеся в печени в условиях нормы триацилглицеролы не накапливаются в ней, а сразу же транспортируются из нее в составе липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). При затруднении удаления жира из печени вследствие снижения синтеза или секреции ЛПОНП возникает для развития жирового гепатоза [9].

Во-вторых, практически во всех гепатоцитах обнаружено максимальное содержание гликогена.

В-третьих, установлена гетерогенность распределения фермента внутренней мембраны митохондрий сукцинатдегидрогеназы. Вместе с тем, при гистохимическом изучении активности цитохромоксидазы гетерогенность распределения не выявлена.

**Литература.** 1. Бонашевская, Т.И. Морфофункциональные исследования в гигиене / Т.И. Бонашевская. – М.: Медицина, 1984. – 160 с. 2. Высоцкий, И.Ю. Суточные ритмы гепатотоксичности четыреххлористого углерода в условиях искусственной смены светового синхронизатора / И.Ю. Высоцкий [и др.] // Журнал клинических экспериментальных медицинских исследований. – 2013. – Т. 1, №2. – С.131-135. 3. Западнюк, И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк. – Киев: Вища школа, 1983. – 382 с. 4. Лебедева, Е.И. Модификация метода окрашивания соединительной ткани в печени при ее фиброзах / Е.И. Лебедева // «Инновации в медицине и фармации – 2014»: материалы дистанционной науч.-практ. конф., БГМУ, Минск, 2014. / Белорус. гос. мед. ун-т; редкол.: А.В. Сикорский [и др.]. – Минск, 2014. – С.389-394. 5. Лебедева Е.И. Модификация гистохимического метода окрашивания липидов в паренхиме печени / Е.И. Лебедева // Минский консилиум – 2014: сборник материалов республиканской конференции молодых ученых с международным участием, Минск, 10-11 июня 2014, ред коллегия Ю.Е. Демидчика [и др.] – Минск: БелМАПО. – 2014. – С.143-145. 6. Лебедева Е.И. Половые биохимические различия сыворотки крови у белых крыс при экспериментальном циррозе / Е.И. Лебедева // Новости медико-биологических наук. – 2014. – Т. 10, №4. – С. 165–170. 7. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли. – М.: Мир, 1969. – 645 с. 8. Малинин, М.Н. Половые различия по биохимическим показателям крови у разных видов лабораторных животных / М.Н. Малинин // Известия Саратовского университета. – 2008. – Т.8, Сер. Химия, Биология, Экология, вып. 1. – С. 51-54. 9. Мари, Р. Биохимия человека / Р. Мари, Д. Греннер, П. Мейес и др. – М.: Мир, 1993. – Т. 1. – С. 260-267. 10. Пальцев, М.А. Патологическая анатомия / М.А. Пальцев, Н.М. Аничков. – М.: Медицина, 2001. – 736 с. 11. Роскин, Г.И. Микроскопическая техника / Г.И. Роскин. – М.: Советская наука, 1951. – 447 с. 12. Серов, В.В. Морфологическая диагностика заболеваний печени / В.В. Серов. – М.: Медицина, 1989. – 336 с. 13. Усынин И.Ф. Адаптивная роль функциональной гетерогенности гепатоцитов / И.Ф. Усынин // Бюллетень СО РАМН. – 2007. – №2 (127). – С.131-135. 14. Ferri D. Ultrastructural zonal heterogeneity of hepatocytes and mitochondria within the hepatic acinus during liver regeneration after partial hepatectomy / D. Ferri [et al] // J. Biol. Cell. – 2005. – Vol. 97. – P. 277-288. 15. Haiffinger, S. Zonal gene expression in murine liver lesion from tumors / S. Haiffinger [et al] // Hepatology. – 2006. – Vol. 43. – P. 407-414. 16. Lindauer, M. Zonal heterogeneity of peroxisomal enzymes in rat liver differential induction by three divergent hypolipidemic drugs / M. Lindauer [et al] // Hepatology. – 1994. – Vol. 20. – P. 475-486. 17. Meihuizen, S.P. Stereological analysis of liver parenchymal cells from young and old rats / S.P. Meihuizen [et al] // Mech. Ageing. Dev. – 1980. – Vol. 13. – P. 111-118.

Статья передана в печать 05.04.2015 г.