

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ТРАВМЕ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ

Р.Ю. Очеретина, М.В. Стогов

ФГУ «РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова»
Минздравсоцразвития России, Курган

Изучены морфометрические показатели одноядерных гепатоцитов (объемы клеток и ядер, ядерно-цитоплазматический индекс, процентное содержание паренхиматозных клеток различных классов) периферической и центральной зон печеночных долек через 3 сут после перелома костей голени у мышей линии СВА/Лас. Выявлено увеличение размера ядер гепатоцитов в диапазоне классов К3, К4, К5. Это свидетельствует о вовлечении паренхиматозных клеток печени в процесс адаптивных перестроек организма при травме опорно-двигательной системы.

Ключевые слова: перелом костей голени, гепатоцит, морфометрия.

Morphometric Indices of Hepatocytes in Shin Bones Injury

R. Yu. Ocheretina, M. V. Stogov

Morphometric indices of mononuclear hepatocytes (volumes of cells and nuclei, nucleo-cytoplasmic index, percentage of parenchymal cells of different classes) in peripheral and central zones of hepatic lobules were determined 3 days after experimental fracture of shin bones in CBA mice. Increase of hepatocyte nuclei size within the range of K3, K4 and K5 classes was revealed. This is indicative of the involvement of hepatic parenchymal cells into the process of adaptive reorganization of the organism in loco-motor system injury.

Key words: fracture of shin bones, hepatocyte, morphometry.

Известно, что для острой реакции на травму характерен травматический токсикоз [6], при этом печень выступает в роли универсального метаболического барьера. Также известно, что основные патобиохимические сдвиги происходят прежде всего в клетках тканей [4], в том числе и паренхиматозных органов, тогда как биохимические сдвиги в крови, лимфе и интерстициальной среде являются результатом таких нарушений. Именно они приводят к типовым нарушениям обмена. Гепатоцитам принадлежит ключевая роль в обеспечении потребности органов и тканей организма пластическими и энергетическими веществами, что влияет на заживление переломов. Морфологические исследования паренхиматозных органов, в том числе при тяжелых механических повреждениях организма, многочисленны [3, 5, 6]. Однако лишь единичные работы изучают структурные изменения в печени при переломе костей [8]. Публикаций, посвященных изменениям морфометрических показателей печени при повреждении костной ткани, в доступной литературе не обнаружено. Для объективной оценки динамики изменения объема и формы принято рассматривать сочетание измерений объема клетки (цитометрия) и объема ядра (кариометрия) [1, 7].

Цель исследования — морфологический и морфометрический анализ гепатоцитов через 3-е суток после экспериментального перелома костей голени у лабораторных мышей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В эксперименте использованы 12 половозрелых мышей-самцов линии СВА/Лас. Животные были разделены на 2-е группы: контрольная (интактные животные, $n=6$) и экспериментальная ($n=6$). В экспериментальной серии моделировали перелом костей голени путем механического воздействия под диэтиловым наркозом. Из эксперимента животных выводили в утренние часы декапитацией на 3-и сутки. Все манипуляции проводили согласно приказу № 755 от 12.08.77 г. МЗ СССР. Определяли отношение массы печени к массе тела (%). Для гистологического исследования забирали материал левой боковой доли печени. Кусочки фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине. Изготавливали парафиновые срезы, окрашивали гематоксилином и эозином. Поля зрения препаратов оцифровывали на АПК «Диа-Морф», учитывая зональную структуру печеночных долек в периферической и центральной зонах. Используя программу для анализа изображений «ВидеоТест-Мастер 4,0», измеряли диаметр и площадь сечения одноядерных гепатоцитов их ядер (мкм^2). На основании полученных данных, определяли площадь цитоплазмы, ядерно-цитоплазматический индекс гепатоцитов согласно принципу Delesse, вычисляли объемы клеток и их ядер (мкм^3). Для суждения о средних размерах ядер гепатоцитов и их изменениях вычисляли объемы ядер (мкм^3), приняв форму всех ядер

за шар [1]. Пользуясь арифметическим методом данные по объему разбивали на группы, определяя процентное содержание ядер гепатоцитов различных классов (К), выделенных по объему ядра: К1 — клетки с малым объемом ядра; К2 — клетки с крупными ядрами; К3 — клетки с гипертрофированными ядрами [7]. Для определения достоверности различий использовали критерии Стьюдента и Вилкоксона [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Относительная масса печени в экспериментальной группе через 3-е сут. после перелома была достоверно меньше и составила $5,8 \pm 0,3\%$ ($p < 0,05$), при сравнении с контрольной — $7,1 \pm 0,3\%$.

При гистологической оценке препаратов печени экспериментальных животных в структуре органа грубых изменений не выявлено. Гепатоциты с четкими границами имели многогранную, несколько округлую форму. В ядре определялись 1–2 ядрышка, в части крупных ядер были выявлены уплотнения хроматина в виде глыбок, локализованных эксцентрично. Обнаружены гепатоциты со светлыми вакуолями, занимающими периферическую часть клетки. У небольшой части животных в центральной зоне среди гепатоцитов с крупными вакуолями встречались группы клеток в состоянии некролиза (рис. 1). При микроскопическом исследовании обнаружено неравномерное кровенаполнение сосудистой сети. В части синусоидов клетки крови отсутствовали, другие были заполнены плотноупакованными эритроцитами, также присутствовали синусоиды с умеренным содержанием фор-

менных элементов. Выявлены клетки Купфера с набухшими ядрами, единичные и небольшими скоплениями не только между эндотелиальными клетками, но и между гепатоцитами. Обнаружены макрофагальные с единичными лимфоидными клетками инфильтраты, расположенные преимущественно перивенулярно (рис. 2) и в интермедиарной зоне.

При морфометрическом исследовании одноядерных гепатоцитов различных классов, выделенных по объему ядра, установлено, что в контрольной группе периферической и центральной зон печеночных долек преобладали клетки классов К1 и К2. Через 3-е сут. после перелома костей голени в обеих зонах преобладали клетки классов К2 и К3. Клетки класса К3 — центральной зоны составляли 29,5%. Содержание клеток класса К1 периферической зоны было снижено до 8,4%, центральной зоны до 13,0% при сравнении с интактной группой (периферическая зона — 19,0%, центральная зона — 1,2%). Содержание клеток класса К5 периферической зоны было увеличено до 12,0% при сравнении с аналогичным показателем интактных животных — 7,3% (рис. 3).

В контрольной группе средний показатель объема клеток периферической и центральной зон печеночных долек без достоверных отличий. Средний объем ядер ($307,1 \pm 6,5 \text{ мкм}^3$) ($p < 0,05$) и ядерноцитоплазматический индекс ($0,157 \pm 0,002$) ($p < 0,05$) периферической зоны были достоверно выше при сравнении с показателем центральной зоны.

В группе экспериментальных животных обнаружено, что объем клеток $7937,7 \pm 131,8 \text{ мкм}^3$ ($p < 0,05$) центральной зоны был достоверно выше

Рис. 1. Гепатоциты мышей через 3-е суток после перелома костей голени (окраска гематоксилином и эозином, ув. 500).

а — крупные вакуоли в периферической части клетки (стрелка), уплотнение хроматина в виде глыбок, локализованных в ядре эксцентрично (две стрелки);

б — безъядерные гепатоциты (стрелка).

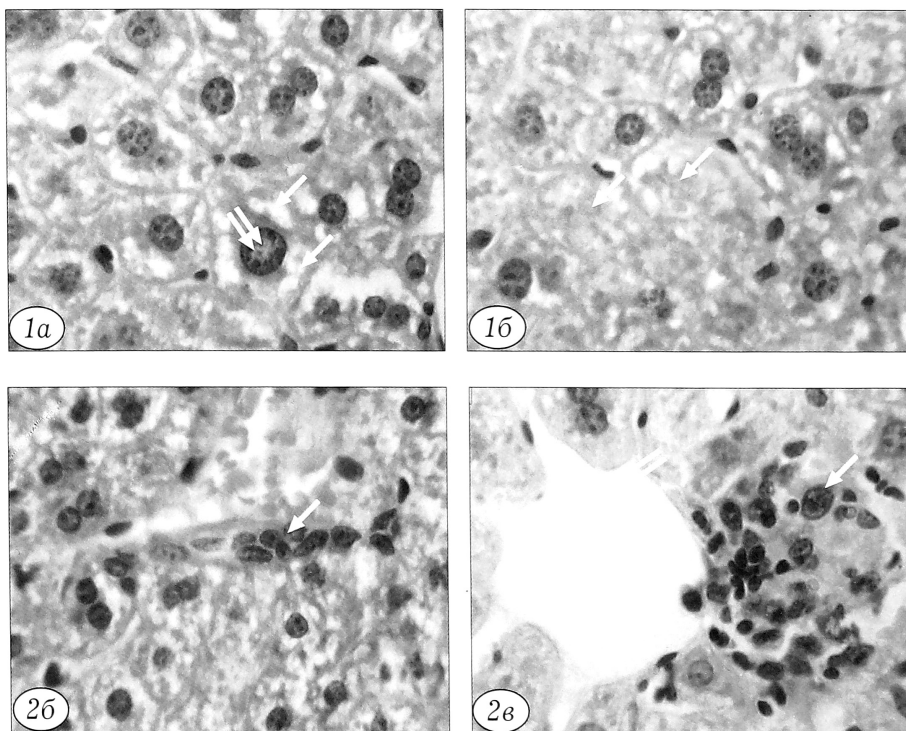


Рис. 2. Структуры ацинуса через 3-е суток после перелома костей голени (окраска гематоксилином и эозином, ув. 500).

а — синусоиды, заполненные плотноупакованными эритроцитами (стрелка); б — скопление клеток Купфера (стрелка); в — инфильтрат (макрофагальный с единичными лимфоидными клетками), расположенный перивенулярно (стрелка), центральная вена (две стрелки).

Морфометрические показатели гепатоцитов через 3-е сут. после экспериментального перелома костей голени у лабораторных мышей

Группа животных	Объем клетки	Объем ядра	Ядерно-цитоплазматический индекс
	(мкм ³)		
Контроль (I)	6720,0±155,1	307,1±6,5*	0,157±0,002*
Контроль (III)	666,2±132,7	282,1±4,8**	0,148±0,002**
Эксперимент (III)	7397,8±129,6*	354,9±6,0	0,160±0,002*
Эксперимент (III)	7937,7±131,8*	362,1±6,1#	0,153±0,002**

Обозначения. I — показатели одноядерных гепатоцитов периферической зоны печеночных долек; III — показатели одноядерных гепатоцитов центральной зоны печеночных долек; * — достоверные отличия в одной группе; # — достоверные отличия между группами.

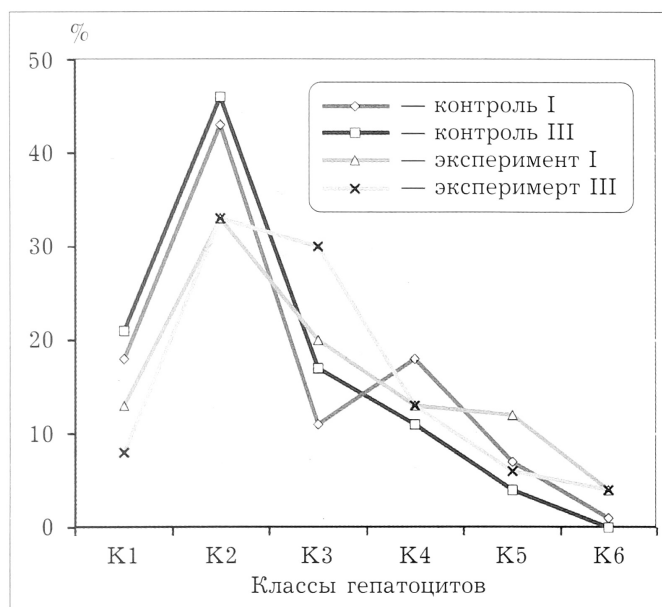


Рис. 3. Процентное содержание классов гепатоцитов периферической и центральной зон печеночных долек, выделенных по объему ядер.

По оси абсцисс — класс гепатоцитов; по оси ординат — процентное содержание гепатоцитов; I — периферической зоны печеночных долек; III — центральной зоны печеночных долек.

при сравнении с гепатоцитами периферической зоны. Ядерно-цитоплазматический индекс $0,160 \pm 0,002$ ($p < 0,05$) периферической зоны достоверно превышал аналогичный показатель центральной зоны этой группы.

При сравнении показателей экспериментальной и контрольной групп достоверные отличия были выявлены в увеличении объема ядер — $362,14 \pm 6,062$ мкм³ ($p < 0,05$) и ядерно-цитоплазматического индекса — $0,153 \pm 0,002$ ($p < 0,05$) центральной зоны через 3-е сут. после перелома костей голени. Результаты исследований представлены в таблице.

Полученные нами данные свидетельствуют об изменении морфометрических показателей гепатоцитов через 3-е сут. после перелома костей голени. У интактных животных гетероморфность гепатоцитов периферической и центральной зон обусловле-

на разной степенью дифференцированности и функциональной активности. Кривые распределения клеток с ядрами разного объема свидетельствуют о неоднородности клеточной популяции гепатоцитов. В экспериментальной группе увеличение объема ядер и изменение ядерно-цитоплазматического индекса паренхиматозных клеток отражает процесс гипертрофии. Достоверное увеличение объема ядер гепатоцитов центральной зоны, возможно, отражает внутриорганные гемодинамические сдвиги, обеспечивая внутриклеточную регенерацию. По данным литературы, независимо от этиологического фактора в печени развивается венозный стаз, отек стромы гепатоцитов [4, 6]. Тяжесть метаболических нарушений в гепатоцитах подтверждается наличием изменений со стороны ядер.

Через 3-е сут. после экспериментального перелома костей голени наблюдается нарушение кровообращения, структурные изменения гепатоцитов и клеток стромы, увеличение размера ядер гепатоцитов в диапазоне классов K3, K4, K5, изменение ядерно-цитоплазматического индекса. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении печени в процесс адаптивных перестроек организма при травме опорно-двигательной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Руководство. — М., 1990.
2. Гайдышев И.П. Анализ и обработка данных: специальный справочник. — СПб, 2001.
3. Кудрявцева М.В. и др. Содержание гликогена и его фракций в гепатоцитах человека при травматической болезни // Цитология. — 1988. — N 12. — С. 1449–1453.
4. Магомедов А. Г. Изменения функции печени в динамике травматической болезни при различных методах реанимации // Анестезиология и реаниматология. — 1988. — N 6. — С. 45–47.
5. Мазуркевич Г.С., Багненко С.Ф. Шок: Теория, клиника, организация противошоковой помощи. — СПб, 2004.
6. Селезнева А.С. и др. Травматическая болезнь и ее осложнения. — СПб, 2004.
7. Хесин Я.Е. Размеры ядер и функциональное состояние клеток. — М., 1967.
8. Huynh T., Baker C.C., Bracey L.W., Lemasters J.J. Adaptive Kupffer cell alterations after femur fracture trauma in rats // J. Physiol. — 1997. — Vol. 272, N 6. — P. 1457–1462.

Сведения об авторах: Очеретина Р.Ю. — млад. науч. сотр. «РНЦ «ВТО им. акад. Г.А. Илизарова»»; Стогов М.В. — доктор биол. наук, ведущий науч. сотр. клинко-экспериментального лабораторного отдела.

Для контактов: Очеретина Руфина Юрьевна. 640014, Курган, ул. М. Ульяновой, дом 6, «РНЦ «ВТО им. акад. Г.А. Илизарова». Тел.: (3522) 45-05-38, 45-47-47. E-mail: office@ilizarov.ru