

УДК 591.436.2:599.3234(021)

ОСОБЕННОСТИ ПОСТНАТАЛЬНОГО МОРФОГЕНЕЗА ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ПИТАНИЯ ПИЩЕЙ С ИЗМЕНЕННЫМИ ФИЗИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ

Т.И. Кузнецова, Р.М. Хайруллин

Ульяновский государственный университет

Исследовано влияние питания измельченной пищи на динамику морфофункциональных показателей клеток печени белых крыс в ранний пубертатный (60-е сутки), поздний пубертатный (120-е сутки), репродуктивный (180-е сутки) периоды и период возмужания (240-е сутки постнатального онтогенеза). Было установлено, что потребление исключительно измельченной пищи оказывает воздействие на постнатальный морфогенез паренхимы печени. С 21-х по 120-е сутки наблюдается возрастание объема гепатоцитов, а с 120-х по 240-е сутки отмечается уменьшение объема гепатоцитов опытных животных. На основании результатов двухфакторного анализа (MANOVA) авторами доказано, что указанные изменения взаимосвязаны как с возрастом, так и с физическими свойствами пищи.

Ключевые слова: печень, гепатоцит, диспергированная пища.

Введение. Филогенез пищеварительной системы животных тесно связан с их образом жизни, средой обитания и пищевой специализацией, однако тип потребляемой пищи продолжает влиять на развитие всех органов пищеварительного тракта, в частности, и на печень [10–12, 14]. Так, употребление различного типа растительного корма грызунами и парнокопытными млекопитающими обуславливает ультраструктурные различия гепатоцитов этих животных [3]. Изменение содержания белков, жиров в диете лабораторных крыс является причиной колебаний размеров клеток паренхимы печени [13, 15, 16]. Однако характер воздействия механических свойств потребляемой пищи на морфо-функциональные особенности печени остается практически не изученным, в то время как доказано влияние питания механически измельченной пищей на морфогенез ряда органов пищеварительной системы [6–8]. Учитывая тесную интеграцию всех органов пищеварительного тракта, весьма вероятным представляется опосредованное воздействие питания измельченной пищей на строение и функционирование печени, выяснение которого и явилось целью настоящего исследования.

Материалы и методы. Исследование проводили на 100 самцах белых беспородных крыс, которые на 21-е сутки постнатального онтогенеза были случайным образом разделены на контрольную и опытную группы. Животных контрольной группы содержали на стандартном виварном рационе, основу которого составляли цельные зерна злаков и подсолнечника, крупно нарезанные овощи, вареное мясо, витамины. Животные опытной группы получали пищу того же состава с аналогичной пищевой и энергетической ценностью, но после тщательного механического измельчения. Средний размер образующихся при этом частиц составлял 1–2 мм. Рацион питания составлялся с учетом пищевой ценности и сбалансированности всех его компонентов, в соответствии с нормами, утвержденными приказом МЗ РФ № 163 от 10 марта 1996 г. Животным обеспечивался свободный доступ к воде и пище в любое время суток. Другие условия содержания крыс были идентичными. Содержание животных в виварии проводилось в соответствии с «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник» от 6 апреля 1973 г. и Приказом МЗ РФ № 267 от

19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» (п. 7).

Непосредственным объектом проведенного исследования послужила печень, участки ткани левой боковой доли которой у контрольных и опытных животных исследовали на 21-е (поздний молочный период), 60-е (ранний пубертатный период), 120-е (поздний пубертатный период), 180-е (репродуктивный период), 240-е сутки (период возмужания) [4]. Все манипуляции с животными проводились согласно приказу № 755 от 12 августа 1977 г. по МЗ СССР «О гуманном обращении с экспериментальными животными», а также положениями Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации от 1964 г., дополненной в 1975, 1983, 1989 и 2000 гг.

Морфометрию структур печени проводили на стандартно окрашенных гистологических срезах толщиной 5 мкм [2] с использованием компьютерной программы денситофотометрии Mecos-C1. Измеряли площадь сечения (мкм²) ядер и цитоплазмы гепатоцитов, определялись их эквивалентный диаметр (мкм), ядерно-цитоплазматическое отношение (%), а также общая площадь сечения гепатоцита (мкм²). Для подсчета количества гепатоцитов на стандартной площади среза применялась квадратно-сетчатая оку-

лярная вставка, подсчет производился при 280-кратном увеличении, на площади 10 000 мкм² [1]. Полученные морфометрические данные подвергали статистическому анализу, применяя однофакторный и двухфакторный дисперсионный анализ с применением лицензионных компьютерных программ обработки статистических данных, Statistica 6 (USA, Statsoft. Inc.).

Результаты и обсуждение. Печень контрольных и опытных животных исследуемых нами групп имела четко различимое дольчатое строение, балки не деформированы, синусоиды и центральные вены не расширены, портальные тракты с незначительным количеством соединительной ткани, триады типичного строения. Гепатоциты имеют четкие границы, содержат одно–два ядра, цитоплазма гепатоцитов бледно-розовая, гомогенная.

Изменения размеров ядер гепатоцитов белых крыс контрольной и опытной группы в постнатальном онтогенезе характеризуются трехэтапностью. Первый этап соответствует периоду с 21-х по 120-е сутки постнатального онтогенеза, в котором площадь сечения ядра и эквивалентный диаметр гепатоцитов контрольных и опытных животных возрастают (рис. 1.).

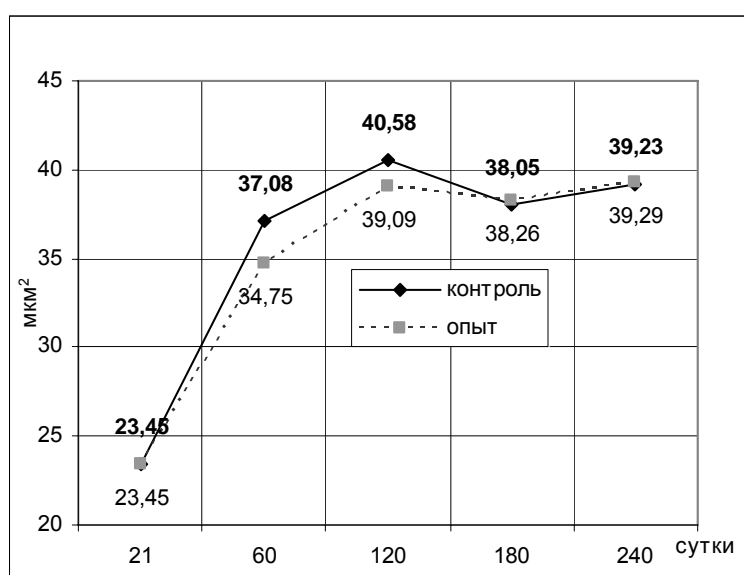


Рис. 1. Показатели площади сечения (мкм²) ядер гепатоцитов 21-, 60-, 120-, 180-, 240-суточных животных контрольной (контроль), опытной (опыт) групп

Второй этап развития ядер гепатоцитов, отмечаемый со 120-х по 180-е сутки постнатального развития, характеризуется некоторым уменьшением их размеров в обеих экспериментальных группах. Третий этап, соответствующий возрастному периоду со 180-х по 240-е сутки постнатального развития, отличается некоторым возрастанием ($p < 0,05$) размеров ядер гепатоцитов как контрольных, так и опытных животных, площади сечения которых на 240-е сутки составляют $39,23 \pm 0,13 \text{ мкм}^2$ и $39,29 \pm 0,14 \text{ мкм}^2$, а эквивалентный диаметр ядер гепатоцитов увеличивается до $6,96 \pm 0,01 \text{ мкм}$ и $6,98 \pm 0,01 \text{ мкм}$ со-

ответственно. Помимо трехэтапности возрастных изменений, ядра гепатоцитов опытных животных в период с 21-х по 120-е сутки отличаются меньшими, по сравнению с аналогичными значениями контрольных животных, значениями площади сечения и диаметра ($p < 0,05$), тогда как со 180-х по 240-е сутки это различие утрачивается и размеры ядер гепатоцитов опытных животных достигают размеров ядер гепатоцитов животных контрольной группы. В отличие от возрастных особенностей изменений ядра, в изменении цитоплазмы гепатоцитов контрольных и опытных животных наблюдается двухэтапность (рис. 2).

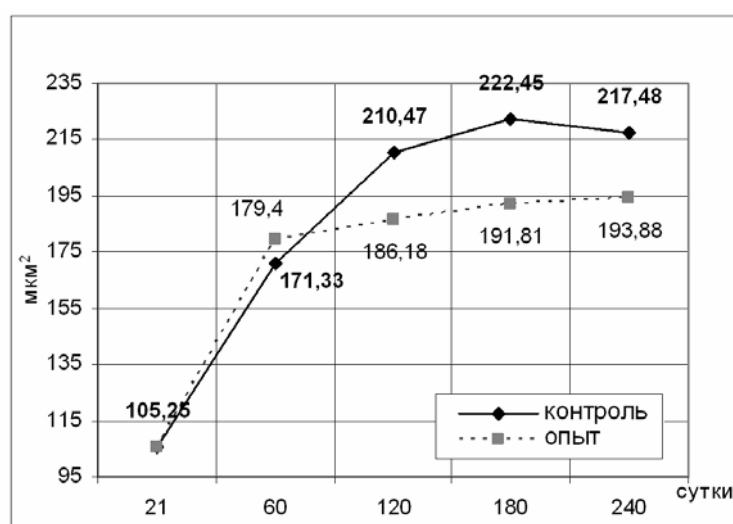


Рис. 2. Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов (мкм^2) 21-, 60-, 120-, 180-, 240-суточных животных контрольной (контроль), опытной (опыт) групп

С изменениями размеров ядра и цитоплазмы гепатоцитов тесно связано их ядерно-цитоплазматическое отношение, указывающее на интенсивность роста, развития клетки и протекания процессов жизнедеятельности [9]. Наиболее высокое значение ядерно-цитоплазматического отношения наблюдается у 21-суточных животных ($22,94 \pm 0,11 \%$), что обусловлено крупными размерами ядра и относительно небольшими размерами цитоплазмы. У контрольных животных к 60-суточному возрасту значение ядерно-цитоплазматического отношения снижается ($21,99 \pm 0,13 \%$, $p < 0,05$). Подобная тенденция сохраняется и в последующем периоде. Минимальные значения ядерно-цитоплазматического отношения отмечаются у 180-су-

точных животных контрольной группы ($17,38 \pm 0,08 \%$), что связано с некоторым уменьшением площади сечения ядра и продолжающимся увеличением площади сечения цитоплазмы гепатоцитов, что свидетельствует о завершении роста и развития клетки, установлением интенсивного, свойственного взрослому организму, уровня обмена веществ. В последующий период (180–240-е сутки) значения ядерно-цитоплазматического отношения гепатоцитов возрастают ($18,30 \pm 0,08 \%$, $p < 0,05$), т.к. увеличивается размер ядра гепатоцитов при стабильном размере цитоплазмы.

Иные особенности изменения ядерно-цитоплазматического отношения гепатоцитов наблюдали у опытных животных. С 21-х по

60-е сутки постнатального онтогенеза площадь сечения цитоплазмы гепатоцитов этой группы животных возрастает более интенсивно, по сравнению с контрольными, поэтому значения ядерно-цитоплазматического отношения гепатоцитов опытных 60-суточных животных оказываются ниже ($19,62 \pm 0,12\%$, $p < 0,05$) соответствующего значения контрольных животных того же возраста. Однако последующее увеличение площади сечения ядра (120–240-е сутки) и менее интенсивное увеличение площади сечения цитоплазмы гепатоцитов обуславливает нерав-

номерное возрастание ядерно-цитоплазматического отношения гепатоцитов в этот период, где наиболее высокое его значение отмечается у 120-суточных гепатоцитов ($21,52 \pm 0,12\%$). В последующий возрастной период (120–180-е сутки) наблюдалось некоторое снижение объема ядра при более низком, по сравнению с контрольным, уровне роста цитоплазмы гепатоцитов, что привело к уменьшению значения ядерно-цитоплазматического отношения гепатоцитов 180-суточных животных ($p < 0,05$) (рис. 3), составляющем $20,10 \pm 0,08\%$.

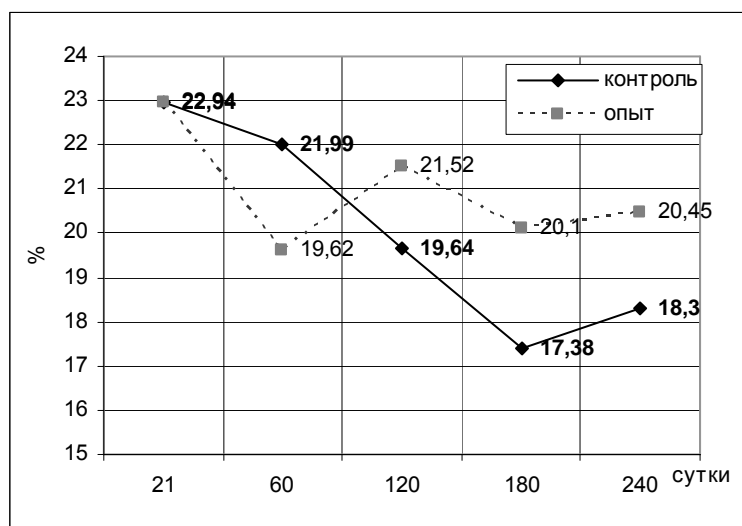


Рис. 3. Показатели ядерно-цитоплазматического отношения гепатоцитов (%) 21-, 60-, 120-, 180-, 240-суточных животных контрольной (контроль) и опытной (опыт) групп

Согласно результатам двухфакторного анализа на изменение значений таких показателей, как площадь сечения и эквивалентный диаметр ядра гепатоцитов, в период с 21-х по 240-е сутки большее по силе влияние оказывает возрастное развитие ($p < 0,05$). Значение этого фактора для площади сечения ядра гепатоцитов составляет $\eta^2 = 0,452$, тогда как фактор тип пищи ($\eta^2 = 0,003$), а также их совместное действие ($\eta^2 = 0,006$) влияют менее интенсивно. Подобные значения этих факторов были обнаружены для диаметра ядер гепатоцитов, где более весомым фактором оказался возраст ($\eta^2 = 0,486$, $p < 0,05$), нежели тип питания ($\eta^2 = 0,003$) и их совместное влияние ($\eta^2 = 0,006$). Фактор возраста также играет ведущую роль в изменении значений площади сечения ($\eta^2 = 0,486$) и диаметра ($\eta^2 = 0,529$) ци-

топлазмы гепатоцитов, превышая силу влияния фактора типа питания на площадь сечения ($\eta^2 = 0,032$) и эквивалентный диаметр ($\eta^2 = 0,027$) цитоплазмы гепатоцитов.

Анализируя общие тенденции постнатального развития гепатоцитов опытных животных, необходимо отметить, что в первую очередь на изменение механических свойств потребляемой пищи реагирует ядро гепатоцитов в виде уменьшения своих объемов, о чем судили по изменениям значений его площади сечения и диаметра. Эти гипотрофические явления наблюдаются с позднего молочного до позднего пубертатного возраста (21–120-е сутки постнатального онтогенеза), т.е. в период наиболее важный для роста, развития и формирования взрослого организма. Данные гипотрофические изменения,

характерные для отрицательно-двухфазных экзокринных клеток [9], обусловлены тратой внутриклеточного материала при воздействии фактора на клетку. Однако под воздействием повторных стимулов, т.е. при длительном кормлении диспергированной пищей, клеточная активность, а следовательно, и объем ядра возрастают, не превышая, тем не менее, определенного уровня [9]. Подобная тенденция наблюдается в последующих возрастных периодах (120–180–240-е сутки), где размеры ядер гепатоцитов опытных животных достигают и не превышают размеров ядер гепатоцитов животных контрольной группы. От объема ядра, а следовательно, от активности ядра, т.е. скорости белкового синтеза, депонирования, выработки, выведения разнообразных метаболитов, зависит объем цитоплазмы. Так, при питании диспергированной пищей объемные изменения ядра в начальный период эксперимента (21–60-е сутки) сопровождаются некоторым увеличением объема цитоплазмы и снижением значения ядерно-цитоплазматического отношения в этот возрастной период. Это, вероятно, связано с функциональным ростом цитоплазмы, на фоне развития и возрастания числа ее органоидов и субклеточных структур, что дает возможность клетке усилить свою метаболическую активность в ответ на воздействие повреждающего фактора [5]. Последующий период (60–120-е сутки) характеризуется как фаза гиперактивности, ядерно-цитоплазматическое отношение при этом возрастает в виду увеличения функциональной активности и объема ядра в ответ на расходование пластических веществ клеткой в предыдущий возрастной период. Объемные изменения ядра, наступающие в результате функциональных сдвигов, предшествуют изменениям объема цитоплазмы [9]. Гипотрофические изменения цитоплазмы появляются несколько позже, чем гипотрофия ядра, в период с 120-х по 240-е сутки, и выражаются в стойком снижении площади сечения и эквивалентного диаметра цитоплазмы гепатоцитов опытных животных. Эти изменения обусловлены постоянным воздействием фактора (длительное питание диспергированной пищей), что не позволяет клетке достичь базового уровня функционирования и соответствующего объема.

Заключение. Обобщая все вышеизложенное, можно заключить, что длительное потребление исключительно диспергированной пищи оказывает воздействие на постнатальный морфогенез печени белых крыс. Изменения постнатального развития гепатоцитов можно условно разделить на два этапа. Первый этап выражается в увеличении объема гепатоцитов животных, питающихся измельченной пищей, в период с 21-х по 120-е сутки, второй этап, со 120-х по 180-е сутки постнатального онтогенеза, характеризуется стойкими гипотрофическими изменениями гепатоцитов.

1. *Автандилов, Г.Г.* Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.

2. *Елисеев, В.Г.* Основы гистологии и гистологической техники / В.Г. Елисеев, М.Я. Субботина, К.И. Афанасьев. – М.: Медицина, 1967. – 268 с.

3. *Калашникова, М.М.* Ультраструктура клеток печени некоторых растительноядных животных / М.М. Калашникова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1994. – № 3. – С. 309–312.

4. *Махинько, В.И.* Константы роста и функциональные периоды развития в постнатальной жизни белых крыс / В.И. Махинько, В.Н. Никитин // Молекулярные и физиологические механизмы возрастного развития. – 1975. – № 1. – С. 308–326.

5. *Рябинина, З.А.* Полиплоидия и гипертрофия клеток в процессах роста и восстановления / З.А. Рябинина, В.А. Бенюш. – М.: Медицина, 1973. – 256 с.

6. *Сыч, В.Ф.* Постнатальный морфогенез слизистой оболочки фундального отдела желудка белых крыс при длительном питании диспергированной пищей / В.Ф. Сыч, А.Ф. Санжапова, Е.В. Слесарева // Ученые записки УлГУ. – 2006. – Вып. 1 (10). – С. 80–86.

7. *Сыч, В.Ф.* Морфометрические показатели околушной слюнной железы белых крыс в условиях длительного потребления диспергированной пищи / В.Ф. Сыч, М.А. Семенова, Т.И. Кузнецова // Морфологические ведомости. – 2006. – № 1, 2. – С. 62–65.

8. *Гистоморфология мышечной оболочки тощей кишки белых крыс после длительного потребления диспергированного корма / В.Ф. Сыч [и др.] // Ученые записки УлГУ. – 2006. – Вып. 1 (10). – С. 86–89.*

9. *Ташке, К.* Введение в количественную цитогистологическую морфологию / К. Ташке. –

Будапешт: Изд-во Академии соц. респ. Румынии. – 1980. – 191 с.

10. Уголев, А.М. Пищеварение и его приспособительная эволюция / А.М. Уголев. – М.: Высш. шк., 1961. – 301 с.

11. Уголев, А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Элементы современного функционализма / А.М. Уголев. – Л.: Наука, 1985. – 544 с.

12. Уголев, А.М. Теория адекватного питания и трофология / А.М. Уголев. – Л.: Наука, 1991. – 272 с.

13. Финагин, Л.К. Холестерин в крови и желчеотделительная функция печени крыс разного возраста в норме и при содержании их на атерогенном рационе / Л.К. Финагин, И.М. Ко-

жура, М.У. Заика // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1978. – № 2. – С. 155–157.

14. Черниговский, В.Н. Физиология пищеварения / В.Н. Черниговский. – Л.: Наука, 1974. – 761 с.

15. Ely, J.O. Desoxyribonucleic acid of rat liver nuclei influenced by diet / J.O. Ely, M.N. Ross // Science. – 1951. – № 11. – P. 70–73.

16. Omaragi, K. Effect of long-term high-fat diet and Switching from a high-fat to low-fat standart diet on hepatic accumulation in Sprague-Dawley rats / K. Omaragi, R. Tsuneyama, C. Inohara // Digestive Disease Science. – 2008. – № 2. – P. 46–44.

FEATURES OF THE POSTNATAL MORPHOGENESIS OF WHITE RAT'S LIVER IN CONDITIONS OF LONG-TERM FEEDING BY THE CHANGED PHYSICAL PROPERTIES FOOD

T.I. Kuznetsova, R.M. Khayrullin

Ulyanovsk State University

The authors studied the influence of dispersant (carefully mechanically crushed) feeding on structure of rat's liver parenchimal cells at early pubertal (60-days), late pubertal (120-days), reproductive (180-days) and adult (240-days) periods of postnatal ontogenesis. It was found out, that feeding by only mechanically crushed food influenced postnatal morphogenesis liver's parenchimal cells. The increase of hepatocytes volume is observed from 21-days to 120-days old, but the volume of hepatocyte decreased at period from 120-days to 240-days old. According to results of the two-factorial analysis (MANOVA) authors is proved, that the specified changes interrelated with the age and physical properties of food.

Key words: liver, hepatocytes, dispersant food.