

УДК 612.351.5.014.46+615.916

*О.М. Гурняк, к.б.н., Н.О. Карпезо, к.б.н.,
Т.В. Рибальченко, к.б.н., Г.В. Островська, д.б.н.,
О.В. Линчак, С.М. Цивінська, В.К. Рибальченко, д.б.н.*

СВПЛИВ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ РОСЛИН ТА ГЕПАТОПРОТЕКТИВНИХ РЕЧОВИН НА МІКРОЦИРКУЛЯТОРНЕ РУСЛО ПЕЧІНКИ

*НДІ фізіології імені акад. Петра Богача
Національного університету ім. Тараса Шевченка, м.Київ*

Причиною токсичних уражень печінки все частіше стають пестициди. Разом з тим, застосування їх у сільському господарстві є необхідною умовою отримання високих врожаїв. Вивчення впливу пестицидів на морфо-функціональний стан печінки на прикладі регуляторів росту рослин 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота), івіну (2,6-диметилпіридин-N-оксид) і потейтину (2,6-диметилпіридин-N-оксид у комплексі з сукцинатом натрію) є важливим для розуміння механізмів дії ксенобіотиків на печінку [7, 10, 12] і пошуку гепатопротективних засобів. Велике значення має дослідження судинного русла печінки, особливо його мікроциркуляторного відділу, оскільки порушення мікроциркуляції є одним з суттєвих патогенетичних факторів у розвитку хвороб печінки [2, 3, 8, 9, 14].

Кров у печінку надходить з портальної вени та печінкової артерії. Кінцеві ланки цих судин, з'єднуючись, утворюють синусоїдні гемокапіляри, які впадають у центральну вену. Таким чином, синусоїдні гемокапіляри печінки отримують кров з двох джерел, які морфологічно незалежні одне від одного. Вони можуть отримувати змішану кров або переважно артеріальну чи венозну [18]. В місці впадання кінцевої гілки ворітної вени в синусоїд і синусоїда в центральну вену розмішені, відповідно, зовнішній і внутрішній гладком'язеві сфінктери, які регулюють протікання крові. Синусоїдні

гемокапіляри здатні змінювати свій просвіт в залежності від функціональних потреб органу [16].

Судинам печінки властива відносно висока проникність гістогематичних бар'єрів [9]. Максимальному обміну речовин між кровоносним руслом і паренхімою печінки сприяє будова стінок печінкових синусоїдних гемокапілярів. До їх складу входять ендотеліоцити, клітини Купфера, клітини Іто, зернисті клітини (Pit-клітини). Переважно більшість складають ендотеліальні клітини. Вони мають витягнуту форму і містять овальні гіперхромні ядра, які виступають у просвіт синусоїдного гемокапіляра. Довгі відростки ендотеліальних клітин мають багато фенестрів, через які і здійснюються транспортно-обмінні процеси. Ендотеліальні клітини мають також помірно виражену фагоцитарну активність, хоча і значно меншу, ніж клітини Купфера. Активні ендотеліальні клітини характеризуються різким випинанням ядер у просвіт синусоїдних гемокапілярів, збільшенням мікропіноцитозу. Ендотеліальні клітини, взаємодіючи з гепатоцитами, забезпечують реакції клітинного і гуморального імунітету, а також беруть участь у забезпеченні системної імунореактивності до антигенів, що надходять через портальну вену. Вивчення синусоїдальних клітин важливе при аналізі функціонального стану печінки в умовах патології [1,13].

Відомо, що ксенобіотики, зокрема пестициди, істотно пошкоджу-

ють кровоносну систему печінки: викликають нерівномірне розширення та звуження судин, крововиливи, тромбози, зміну агрегатного стану крові [6,15,17,19]. Оскільки, 2,4-Д та івін суттєво впливають на біомолекулярні ліпідні мембрани [4,5], зрозуміло, що, діючи на мембрани еритроцитів, він змінює структуру останніх, і це може бути причиною порушення їх здатності переносити кисень [20,21].

До останнього часу залишається не вивченим вплив регуляторів росту рослин на гемоциркуляцію печінки, особливо на синусоїдні гемокапіляри. Метою наших досліджень було з'ясування характеру морфо-функціональних змін у судинах печінки при субхронічній інтоксикації пестицидами та при дії гепатопротекторів.

Матеріали і методи.

Досліди проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар масою тіла 150-200 г. Щурів утримували в умовах віварію на стандартному харчовому раціоні при нормальному світловому дні. Препарати вводили протягом 1 міс. інтрагастрально в 1 мл дистильованої води вранці перед годуванням. Гербіцид 2,4-Д вводили у дозі 10 мг/кг маси тіла, стимулятори росту рослин івін — 50 мг/кг, потейтин — 50 мг/кг, сукцинат натрію — 25 мг/кг, урсодезоксихолеву кислоту (УДХК) — 2 мг/кг. При дослідженні сумісної дії пестицидів та у комплексі з гепатопротекторами препарати вводили в тих же дозах одночасно в 1 мл дистильованої води. Контрольна група тварин одержувала у вище зазначений спосіб дистильовану воду (1 мл).

Для гістологічного аналізу печінку фіксували у суміші Буена, після стандартної гістологічної обробки заливали у парафін. Зрізи забарвлювали гематоксиліном Бемера з дофарбуванням еозином та оранжем G. На гістологічних препаратах печінки аналізували стан кровоносних судин (центральна вена, портальна вена, печінкова артерія) та вимірювали просвіт синусоїдних гемокапілярів і висоту ядер ендотеліальних клітин їх вистилки на мікроскопі Olympus BX-41 (Японія) з використанням програми Olympus DP-Soft. Статистична обробка результатів проведена за критерієм Ст'юдента з використанням програм

статистичного пакету аналізу Mikrosoft Excel.

Результати досліджень та їх обговорення

Гербіцид 2,4-Д призводить до значного пошкодження судин печінки і розвитку запальних процесів. Осередки запалення локалізовані переважно у периваскулярних ділянках, як у центролобулярній зоні печінкової часточки навколо центральної вени, так і в перипортальній зоні біля портальних вен і печінкових артерій, де має місце інфільтрація лейкоцитами (рис. 1). В окремих випадках у печінці зустрічаються крововиливи, переважно в підкапсулярній зоні. Виявлено також тромбоз деяких невеликих судин. Помітно відреагувало на гербіцид 2,4-Д і мікроциркуляторне русло печінки. Майже в 3 рази змен-

шується просвіт синусоїдних гемокапілярів (від 5.6 ± 0.3 мкм у контрольній групі до 1.9 ± 0.4 мкм), майже в півтора рази — висота ядер ендотеліальних клітин їх вистилки (від 2.5 ± 0.1 мкм до 1.9 ± 0.1 мкм) (рис. 2).

Стимулятор росту рослин івін не призводить до значних структурних пошкоджень печінки. Проте під його впливом в печінці відбувається розростання сполучної тканини у зоні портальних полів та навколо центральних вен (рис. 3). Іноді спостерігається навколосудинний набряк. Івін впливає на просвіт синусоїдів, але менше, ніж гербіцид 2,4-Д. Діаметр синусоїдних гемокапілярів становить 3.2 ± 0.6 мкм. В той же час розмір ядер ендотеліальних клітин зменшується більше, ніж при дії гербіциду, і їх висота знижується до 1.3 ± 0.1 мкм (рис. 2). Потовщення стінок судин та зменшен-

ня розмірів ядер вказує на зниження обмінних процесів між кров'ю і гепатоцитами.

Після одночасного впливу 2,4-Д та івіну виявлено, що останній частково зменшує пошкодження, викликані 2,4-Д. Сумісна дія 2,4-Д та івіну призводить до результатів більше схожих на дію одного івіну. Діаметр синусоїдних гемокапілярів зменшується до 2.3 ± 0.4 мкм, а висота ядер ендотеліальних клітин знижується до 1.5 ± 0.1 мкм (рис. 2).

Стимулятор росту рослин потейтин істотно впливає на кровоносну систему печінки. У судинах спостерігаються застійні явища, портальні і центральні вени та печінкові артерії переповнені форменими елементами крові. Синусоїдні гемокапіляри, локалізовані у підкапсулярній зоні, містять переважно еритроцити, а синусоїди ближче до воріт печінки заповнені лейкоцитами (рис. 4). В той же час висота ядер ендотеліальних клітин залишається без змін (2.5 ± 0.1 мкм), а діаметр синусоїдних гемокапілярів зменшується лише до 3.9 ± 0.3 мкм (рис. 2).

Після одночасної дії гербіциду 2,4-Д та потейтину їх вплив виявився меншим, ніж при дії кожного з пестицидів окремо. Діаметр синусоїдних гемокапілярів складає 3.2 ± 0.3 мкм, а висота ядер ендотеліальних клітин — 2.2 ± 0.1 мкм (рис. 2).

Таким чином показано, що регулятори росту рослин істотно впливають на судини печінки, що є суттєвим фактором патологічних змін у ній.

Сукцинат натрію, який досліджували як можливий гепатопротектор, сам по собі істотно впливає на морфо-функціональний стан печінки [11]. Проте під впливом сукцинату натрію помітних змін у мікроциркуляторному руслі печінки не відбувається: висота ядер ендотеліальних клітин не змінюється відносно контролю (2.3 ± 0.1 мкм), а діаметр синусоїдних гемокапілярів дещо зменшується (5.0 ± 0.4 мкм) (рис. 2).

При одночасній дії гербіциду 2,4-Д і сукцинату натрію токсичний вплив гербіциду менше виражений: зменшуються площі розповсюдження та кількості осередків запалення, майже немає тромбозу судин, менше крововиливів. Сукцинат натрію перешкоджає різкому звуженню синусоїдних гемокапілярів (діаметр їх

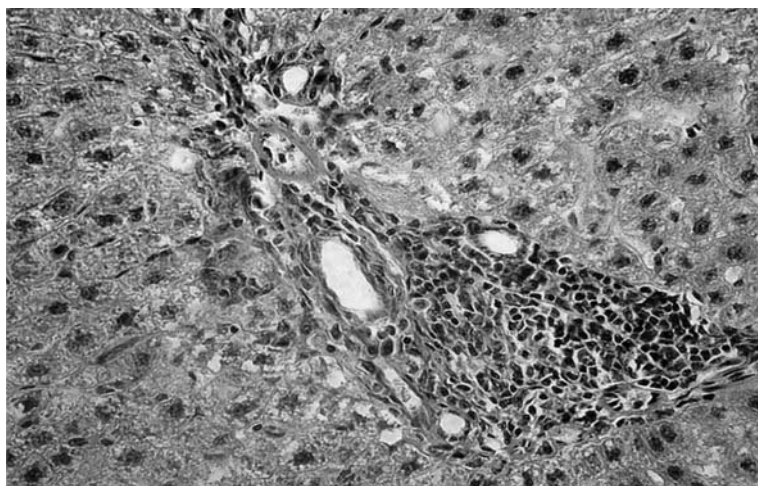


Рис. 1. Мікрофотографія зрізу печінки після впливу гербіцидом 2,4-Д. Перипортальна зона. Скупчення лейкоцитів. Гематоксилін-еозин-оранж. Зб. 600.

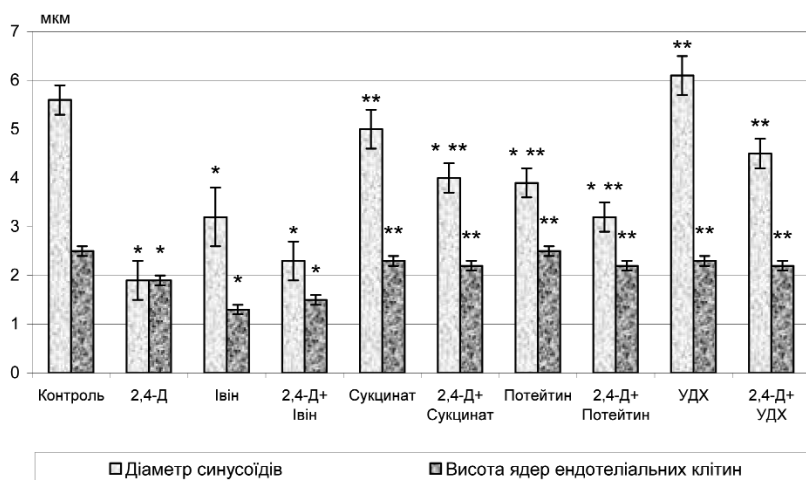


Рис. 2. Вплив регуляторів росту рослин та гепатопротекторів на синусоїдні гемокапіляри. * — $P < 0.05$ між дослідом і контролем, ** — $P < 0.05$ між впливом 2,4-Д та іншими серіями дослідів.

становить 4.0 ± 0.3 мкм) і зменшенню ядер ендотеліальних клітин їх вистилки, висота яких дорівнює 2.2 ± 0.1 мкм (рис. 2). Отже сукцинат натрію значно зменшує пошкоджуючий вплив 2,4-Д на кровоносну систему печінки.

Урсодезоксихолева кислота, як класичний гепатопротектор, не справляє помітного токсичного впливу на печінку. Мікроциркуляторне русло печінки не реагує на дію урсодезоксизолевої кислоти. Діаметр синусоїдів дорівнює 6.1 ± 0.4 мкм, висота ядер ендотеліальних клітин їх вистилки становить 2.3 ± 0.1 мкм, що практично не відрізняється від контролю (рис. 2).

В той же час урсодезоксихолева кислота знижує токсичний вплив гербіциду 2,4-Д. У печінці значно зменшується кількість і розміри осередків запалення, практично немає крововиливів. При одночасній дії урсодезоксизолевої кислоти і гербіциду 2,4-Д показники діаметру синусоїдних гемокапілярів (4.5 ± 0.3 мкм) і висота ядер ендотеліальних клітин (2.2 ± 0.1 мкм) більше наближені до контрольних значень, ніж при дії самого гербіциду (рис. 2).

Аналіз морфо-функціональних змін у судинах печінки показав, що існують докорінні відмінності у дії на печінку гербіциду 2,4-Д та стимулятора росту рослин івіну. Так, якщо 2,4-Д викликає крововиливи, то івін, навпаки, стимулює потовщення стінок судин. Обидва пестициди впливають на синусоїдні гемокапіляри. Проте, якщо 2,4-Д призводить до максимального звуження їх просвіту, то івін більше впливає на ендотеліальні клітини стінок судин.

Потейтин, який є комплексом івіну і сукцинату натрію, викликає значні застійні явища у судинах печінки, проте з усіх регуляторів росту рослин найменше впливає на мікроциркуляторне русло. Просвіт синусоїдних гемокапілярів зменшується менше, ніж при дії 2,4-Д та івіну, а ендотеліальні клітини їх вистилки взагалі не змінюються.

Таким чином, досліджувані гепатопротективні речовини сукцинат натрію та урсодезоксихолева кислота самі по собі практично не впливають на кровоносну систему печінки і помітно зменшують токсичний вплив на неї пестицидів.

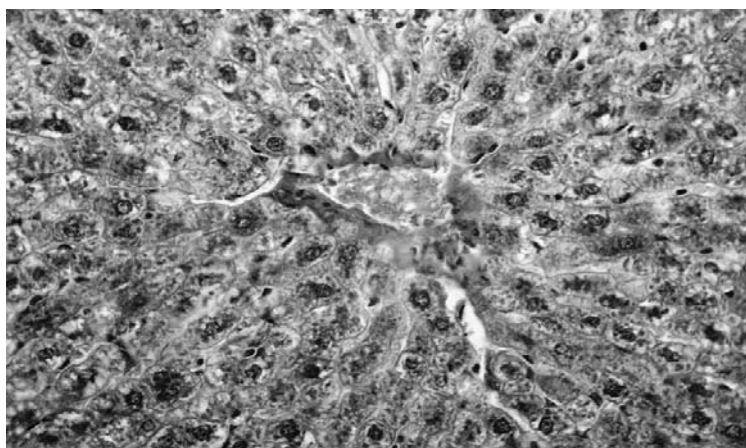


Рис. 3. Мікрофотографія зрізу печінки після впливу івіном. Центролобулярна зона. Розростання сполучної тканини навколо центральної вени. Гематоксилін-еозин-оранж. Зб. 600.

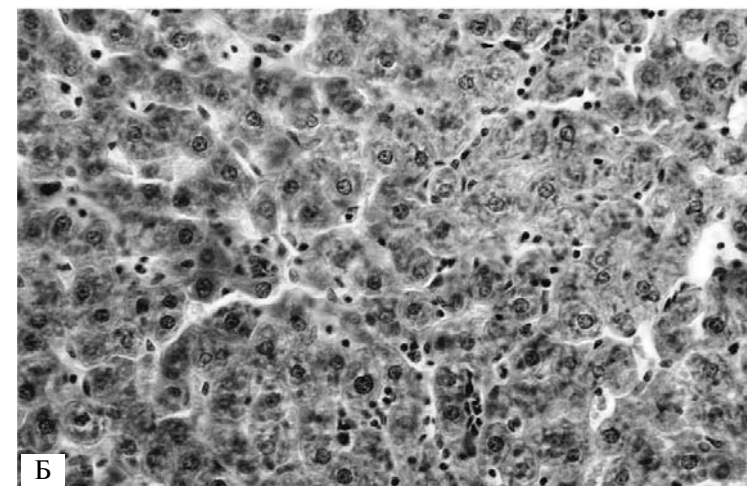
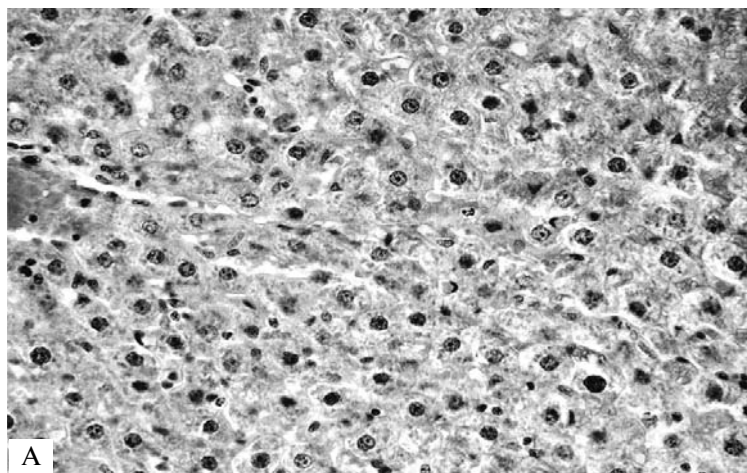


Рис. 4. Мікрофотографія зрізу печінки після впливу потейтином. А. Синусоїди переповнені еритроцитами. Гематоксилін-еозин-оранж. Зб 600. Б. Синусоїди заповнені лейкоцитами. Гематоксилін-еозин-оранж. Зб 600.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Арвеладзе Ю.Р.* Строение сосудов микроциркуляторного русла разных органов у белых крыс в неонатальном периоде онтогенеза. // *Морфология.* — 2002. — №1. — С. 71-74.
2. *Бахадыров Ф.Н., Алимходжаев Ф.Н., Швердин В.А.* Комплексное строение микроциркуляторного русла печени в постнатальном онтогенезе после резекции печени и при экспериментальном токсическом поражении. // *Морфология.* — 1998. — № 3. — С. 23.
3. *Бахадыров Ф.Н., Швердин В.А., Рузьева Б.А. и др.* Морфометрическая характеристика микрососудов печени при холестазах. // *Морфология.* — 2002. — № 2-3. — С. 20.
4. *Бичко А.В., Рыбальченко В.К.* Комбінований вплив N-оксид-2,6-диметилпіридину та 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти на електричні характеристики бімолекулярних ліпідних мембран. // *Доп. ДАН України.* — 2005. — №4. — С. 167-169.
5. *Бичко А.В., Семенов Ю.В., Рыбальченко В.К.* Преобразование гидратных структур ивина при взаимодействии с поверхностью липидной мембраны. // *Доп. ДАН Украины.* — 2005. — №3. — С. 164-167.
6. *Ваклюк И.Д., Шамрай П.Д.* Морфологические изменения кровеносных сосудов некоторых внутренних органов в условиях комбинированного воздействия пестицидов в эксперименте. // *Морфология.* — 1982. — Вып. 8. — С. 14-16.
7. *Гурняк О.М.* Вплив пестициду 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти на активність АЛТ та АСТ крові та гомогенату печінки шурів // *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології (Київ-Луганськ-Харків).* — 2005. — Вип.1. — С. 17-26.
8. *Зуфаров К.А., Садриддинов А.* Структурные особенности печени при нарушении её экскреторной функции. // *Морфология.* — 1993. — № 9-10. — С. 81.
9. *Калюжний И.Т., Соломенцева Н.Н., Калюжный С.И.* Болезни печени и микроциркуляция. — Бишкек: Илим, 1993. — 200 с.
10. *Карпезо Н.О., Гурняк О.М., Мацюх О.С. и др.* Регулятори росту рослин івін та потейтин: гістологічні ефекти // *Фітотерапія.* Часопис. — 2005. — № 1. — С.28-32.
11. *Карпезо Н.А., Говоруха Т.Н., Гурняк О.Н. и др.* Морфо-функціональне состояние печени крыс при воздействии сукцината натрия / 6-й Славяно-Балтийский форум "Санкт-Петербург-Гастро-2004" 13-16 сентября 2004 года.- Санкт-Петербург, 2004. — С. 58.
12. *Карпезо Н.О., Островська Г.В., Гурняк О.М. и др.* Морфо-функціональні зміни у печінці шурів під впливом гербіциду 2,4-Д та стимулятору росту рослин івіну // *Современные проблемы токсикологии.* — 2004. — №4. — С. 48-52.
13. *Мироджов Г.К., Павлов В.Л.* Синусоидальные клетки печени: природа, функциональная характеристика и кооперативная взаимосвязь. // *Архив патологии.* — 1991. — Т. 53, вып. 4. — С. 72-76.
14. *Нигматуллина А.В., Бикмухаметова Х.С., Дашкина З.И.* Изменение микроциркуляторного русла печени при острой интоксикации в эксперименте. /Сб. научных трудов. Микроциркуляторное русло соединительнотканых образований. — Уфа, 1988. — С. 60-63.
15. *Пентюк А. А., Мороз Л.В., Паламарчук О.В.* Поражения печени ксенобиотиками. // *Современные проблемы токсикологии.* — 2001. — № 2. — С. 8-16.
16. *Подымова С.Д.* Болезни печени. Руководство для врачей: 3-е изд. — М.: Медицина, 1998. — 704 с.
17. *Радченко В.Г., Шабров А.В., Зиновьева Е.Н.* Основы клинической гепатологии. — Санкт-Петербург.: Диалект, 2005. — 864 с.
18. *Чернух А.М.* Микроциркуляция. — М.: Медицина, 1984. — С. 144-147.
19. *Шалимов С.А., Галахин К.А., Борщевская М.И. и др.* Особенности, характер и выраженность токсического действия высоких доз натрия сукцината на организм экспериментальных животных. // *Современные проблемы токсикологии.* — 2001. — № 4. — С. 11-16.
20. *Cox C.* 2,4-D: Toxicology, Part 1. // *J.of Pesticide reform.* — 1999. — Vol. 19, № 1. — P. 14-19.
21. *Duchnowicz P., Koter M.* Damage to the erythrocyte membrane caused by chlorophenoxyacetic herbicides. // *Cellular and molecular biology letters.* — 2003. — Vol. 8. — P. 25-30.

О.Н. Гурняк, Н.А. Карпезо, Т.В. Рыбальченко, Г.В. Островская, О.В. Линчак, С.Н. Цивинская, В.К. Рыбальченко

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ И ГЕПАТОПРОТЕКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОЕ РУСЛО ПЕЧЕНИ

Исследованы морфо-функциональные изменения сосудов печени крыс после воздействия гербицидом 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота) и стимуляторами роста растений ивином (2,6-диметилпиридин-N-оксид) и потейтином (2,6-диметилпиридин-N-оксид в комплексе с сукцинатом натрия) в течение 1 месяца. Проанализировано гепатопротективное действие урсодехсохолоевой кислоты (УДХК) и сукцината натрия.

Показано, что гербицид 2,4-Д вызывает гепатит. Очаги воспаления локализованы преимущественно вокруг сосудов: портальных и центральных вен и печеночных артерий. Наблюдается также тромбоз отдельных сосудов, мелкие кровоизлияния и сужение синусоидных гемокапилляров. Диаметр синусоидов уменьшается в три раза, а высота ядер эндотелиальных клеток почти вдвое.

Ивин приводит к разрастанию соединительной ткани вокруг сосудов в центролобулярной и перипортальной зонах, иногда околосоудистый отек, влияет и на просвет синусоидных гемокапилляров, но меньше, чем гербицид 2,4-Д. В тоже время размер ядер эндотелиальных клеток уменьшается в большей степени.

При одновременном действии 2,4-Д и ивина последний частично предотвращает повреждения, вызванные 2,4-Д.

Потейтин вызывает значительные изменения циркуляторной системы печени. Портальные и центральные вены и печеночные артерии заполнены форменными элементами крови. Синусоиды, локализованные под капсулой, содержат преимущественно эритроциты, а синусоиды ближе к центральной зоне печени заполнены лимфоцитами. Совместное действие 2,4-Д и потейтина на печень менее выражено, чем после действия каждого из них отдельно.

Урсодехсохолоевая кислота и сукцинат натрия оказывают протективный эффект.

O.M. Gurniak, N.O. Karpezo, T.V. Rybalchenko, G.V. Ostrowska, O.V. Linchack, S.M. Tsyvinska, V.K. Rybalchenko

THE PLANT GROWTH REGULATORS INFLUENCE ON THE LIVER MICROCIRCULATION. COMPARISON OF INDIVIDUAL AND SIMULTANEOUS ACTION

There were investigated the morpho-functional changes in the rat liver blood vessels after the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and the plant growth stimulators 2,6-dimethylpyridin-N-oxide (ivin) and complex of 2,6-dimethylpyridin-N-oxide and Na-succinate (potatin) action during the month. Also there was analysed hepatoprotective action of ursodeoxycholic acid and Na-succinate.

The obtained data showed that herbicide 2,4-D provoked hepatitis. The inflammation focuses were located predominantly around vessels: portal and central veins and hepatic arteries. There took place vessels thrombosis, hemorrhages and sinusoids constriction. The sinusoids diameters lessened threefold, the heights of endothelium cell nuclei decreased almost in half.

Ivin caused conjunctive tissue overgrowth around vessels in centrolobular and periportal regions, sometimes perivascular edema. Ivin influenced on the width of sinusoids, but less than herbicide 2,4-D. Just the same time the size of endothelium cell nuclei decreased to a greater extend.

After simultaneous action of 2,4-D and ivin the last partly prevented injuries, provoked by 2,4-D. Simultaneous action of 2,4-D and ivin leaded to results more like ivin alone.

Potatin provoked significant changes in the liver circulatory system. Portal and central veins and hepatic arteries were full of blood. The sinusoids located under capsule contain predominantly erythrocytes, and sinusoids closer to central area of the liver were filled with lymphocytes. The sinusoids diameters lessened slightly, the heights of endothelium cell nuclei remained without changes.

After simultaneous action of herbicide 2,4-D and potatin the influence of pesticides was less than after their individual action. Data analysis of the morpho-functional changes in liver vessels after ursodeoxycholic acid and Na-succinate administration showed their protective action.