УДК 612.359+611.367+615.917

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

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ ЗМІН У ЖОВЧНИХ ПРОТОКАХ ПЕЧІНКИ ПРИ ДІЇ ДЕЯКИХ ПЕСТИЦИДІВ ТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРІВ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, м. Київ

Останнім часом увагу дослідників привертають проблеми запобігання хвороб печінки, пов'язаних із впливом на організм пестицидів. Водночас ведуться дослідження дії пестицидів як при їх індивідуальному, так і при сумісному застосуванні. Встановлено, що такі широковживані регулятори росту рослин, як гербіцид 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота) та стимулятори росту рослин івін (2,6-диметилпіридин-N-оксид) і потейтин (2,6-диметилпіридин-N-оксид у комплексі з сукцинатом натрію) безпосередньо взаємодіють з ліпідними і білковими компонентами біомембран [1-3], впливають на процеси перекисного окиснення ліпідів та активність супероксиддисмутази у печінці щурів [4]. Виявлено значні зміни морфо-функціонального стану гепатоцитів та судин печінки, які відрізняються при дії гербіциду та стимуляторів росту рослин [5, 6].

Найменш вивченими при дії пестицидів виявилися внутрішньопечінкові жовчні протоки. Жовч із жовчних капілярів, утворених бічними поверхнями двох або більше гепатоцитів, через проміжні канальці Герінга надходить у жовчні протоки портальних зон, де їх стінки обмежені епітеліальними клітинами. За час проходження жовчі по внутрішньопечінковим жовчним протокам склад її змінюється: через міжклітинні з'єднання протокового епітелію в їх простір дифундує вода; холангіоцитами адсорбується глюкоза і деякі органічні кислоти; відбувається гідроліз глутатіона до амінокислот, які частково всмоктуються. При наявності в жовчі некон'югованих жовчних кислот останні пасивно всмоктуються холангіоцитами і надходять у гепатоцити через перидуктулярні капіляри (холегепатична циркуляція жовчних кислот) [7].

З метою зменшення пошкоджуючої дії пестицидів на печінку було досліджено вплив урсодезоксихолевої кислоти (УДХК) та сукцинату натрію. Урсодезоксихолева кислота є природним компонентом жовчі, вона належить до гідрофільних жовчних кислот, сприяє секреції жовчі і вже давно застосовується у медичній практиці у комплексному лікуванні хвороб печінки, пов'язаних із явищами холестазу [8]. Сукцинат натрію (інтермедіат циклу Кребса) останнім часом почали використовувати у медичній практиці при хворобах, пов'язаних із тканинною гіпоксією та для усунення наслідків медикаментозної інтоксикації. Він контролює рівень вільнорадикальних реакцій у тканинах, захищаючи від перекисного пошкодження ліпідні компоненти клітинних мембран [9]. Проте його вплив на різні структурні компоненти печінки вивчений недостатньо. Інформація про реакцію безпосередньо внутрішньопечінкових жовчних протоків на ці гепатопротективні речовини відсутня,що і обумовило необхідність таких досліджень.

Матеріали і методи

Досліди проводили на білих щурах-самцях 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 і потейтин — 50 мг/кг, сукцинат натрію — 25 мг/кг, урсодезоксихолеву кислоту — 2 мг/кг. При дослідженні сумісної дії пестицидів та пестицидів з гепатопротекторами препарати в тих же дозах вводили одночасно в 1 мл дистильованої води. Контрольна група тварин одержувала у вищезазначений 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. Вимірювали висоту епітелію внутрішньопечінкових жовчних протоків та площі ядер епітеліоцитів. Морфометричний аналіз проводили на мікроскопі Olympus BX-41 (Японія) з використанням програми Olympus DP-Soft.

Результати та обговорення

У щурів стінки внутрішньопечінкових жовчних протоків утворені переважно епітеліальними клітинами кубічної форми, що містять великі досить темні округлі ядра. Площі ядер епітеліальних клітин тварин контрольної групи становлять 12.5±0.3 мкм^2, а висота епітеліальної стінки жовчних протоків дорівнює 5.9±0.1 мкм.

Гербіцид 2,4-Д призводить до значного пошкодження печінки, в якій відбуваються істотні структурні і функціональні зміни. Найбільш типовим є розвиток гепатиту. При цьому запальні процеси розвиваються переважно в периваскулярних ділянках, а навколо внутрішньопечінкових жовчних протоків не виявлено осередків запалення. Жовчні протоки взагалі виявилися найменш чутливими до дії гербіциду 2,4-Д. Висота епітеліальної стінки протоків не змінюється (5.8±0.2 мкм), проте розміри ядер епітеліальних клітин жовчних протоків збільшуються і становлять 14.1±0.6 мкм^2 (рис.).

Івін викликає зміни функціонального стану гепатоцитів та розростання сполучної тканини навколо судин. Під його впливом відбуваються значні морфо-функціональні зміни у внутрішньопечінкових жовчних протоках. Навколо них відмічено невелику кількість лімфогістіоцитів. При дії

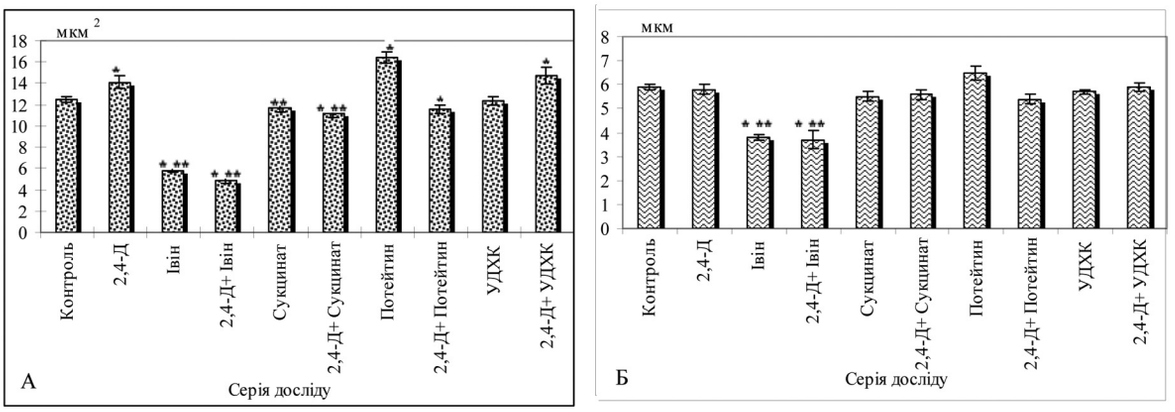

Рис. Вплив пестицидів, сукцинату натрію та урсодезоксихолевої кислоти на площі ядер епітеліальних клітин (А) та висоту епітелію (Б) жовчних протоків

* - $P \leq 0,05$ у порівнянні з контролем;
** - позначена вірогідна різниця між впливом 2,4-Д та іншими серіями досліду.

івіну потовщуються базальні мембрани епітеліоцитів. Стінки жовчних протоків сплощуються. Висота епітелію знижується до 3.8±0.1 мкм. Епітеліальні клітини, що їх утворюють, містять видовжені темні ядра, помітно менші за ядра епітеліоцитів контрольних тварин. Площі ядер ендотеліальних клітин жовчних протоків зменшуються у два рази і становлять 5.8± 0.2 мкм^2. Ці зміни є показником зниження обмінних процесів у жовчних протоках (рис.).

При одночасній дії гербіциду 2,4-Д та стимулятора росту рослин івіну у печінці переважає вплив останнього. Жовчні протоки реагують на одночасну дію 2,4-Д та івіну так само, як на один івін, тобто сплощуються епітеліальні стінки жовчних протоків (до 3.7±0.2 мкм) та значно зменшуються розміри ядер епітеліальних клітин (до 3.8±0.3 мкм^2).

Сукцинат натрію викликає функціональні зміни у печінці, які стосуються переважно гепатоцитів. При його дії жовчні протоки, як і в контролі, сформовані епітеліальними клітинами кубічної форми, що містять округлі ядра. Висота епітеліальної стінки жовчних протоків істотно не змінюється і становить 5.5±0.2 мкм. Площа ядер епітеліальних клітин має тенденцію до зменшення і дорівнює 11.7±0.4 % (рис.).

При одночасній дії гербіциду 2,4-Д і сукцинату натрію токсичні впливи гербіциду менше виражені. Сукцинат натрію перешкоджає впливу 2,4-Д і на жовчні протоки печінки. Висота епітелію жовчних протоків дорівнює 5.6±0.2 мкм, а площа ядер епітеліальних клітин жовчних протоків складає 11.2±0.4 мкм^2. Стан жовчних протоків при дії одного сукцинату натрію і сукцинату натрію в поєднанні з гербіцидом однаковий і практично не відрізняється від контролю, тобто чітко виявляється гепатопротективна дія сукцинату натрію (рис.).

Потейтин істотно впливає на морфо-функціональний стан печінки. Надзвичайно великий вплив потейтину на жовчні протоки, де не тільки помітно зростає висота епітеліальної стінки протоків, а й суттєво змінюється ядерний апарат епітеліальних клітин. Епітеліальні клітини, що формують стінки жовчних протоків, мають зрідка кубічну, а, частіше, призматичну та високопризматичну форму. Особливу увагу привертає зміна форми ядер від чітко округлої в контролі до трикутної, серпоподібної, неправильної з лопастями. Багато ядер, які зберегли більш-менш округлу форму, мають окремі або по декілька вгинань та опуклостей. Ядра епітеліальних клітин жовчних протоків дуже світлі, великі. При дії потейтину площі ядер епітеліальних клітин жовчних протоків збільшуються до 16.4±0.5 мкм^2, а висота епітелію — до 6.5±0.3 мкм. Збільшення розмірів ядер відбувається і при дії гербіциду 2,4-Д, але при цьому вони не втрачають більш-менш округлої форми. Отже потейтин, який є комплексом івіну і сукцинату натрію, викликає у жовчних протоках печінки зміни, що відрізняються від дії кожного з препаратів окремо. Тобто, якщо сукцинат натрію не викликає змін у жовчних протоках, а івін провокує значне зменшення розмірів ядер і висоти епітелію, то потейтин призводить до значного збільшення розмірів ядер і висоти епітеліальної стінки протоків. Отже у комплексі з івіном сукцинат натрію не є протективною речовиною щодо стану жовчних протоків. Більш того, потейтин викликає зміни ядерного апарату епітеліоцитів, які не описано при звичайних хворобах печінки [10].

Жовчні протоки на одночасну дію 2,4-Д та потейтину реагують інакше, ніж на кожний з пестицидів окремо. Висота епітеліальної стінки жовчних протоків зменшується до 5.4±0.2 мкм, а площа ядер епітеліальних клітин — до 11.6±0.4 мкм^2 . Привертає увагу той факт, що при дії окремо гербіцид 2,4-Д і потейтин (один більше, а другий менше) збільшують висоту епітелію та розміри ядер епітеліальних клітин жовчних протоків. Тобто при одночасній дії препаратів реакція жовчних протоків змінюється на протилежну.

Урсодезоксихолева кислота не викликає помітних структурних змін у печінці. Істотних змін жовчних протоків також не виявлено. Висота епітеліальної стінки жовчних протоків становить 5.7±0.1 мкм, а площа ядер епітеліальних клітин дорівнює 12.3±0.4 мкм^2, що не відрізняється від контролю (рис.).

На дію гербіциду 2,4-Д та урсодезоксихолевої кислоти жовчні протоки реагують як на один 2,4-Д, тобто висота епітеліальної стінки протоків не змінюється і становить

5.9±0.2 мкм, а площі ядер епітеліальних клітин збільшуються до 14.7± 0.8 мкм (рис.). Отже урсодезоксихолева кислота не перешкоджає впливу 2,4-Д на внутрішньопечінкові жовчні протоки.

Аналіз отриманих даних показав особливості реакції внутрішньопечінкових жовчних протоків на дію різних регуляторів росту рослин. Крім того, сумісна дія пестицидів може відрізнятися від дії кожного з них окремо. Так, на одночасний вплив гербіциду 2,4-Д та івіну жовчні протоки реагують як на один івін. Більш того, 2,4-Д навіть поглиблює реакцію на івін. А 2,4-Д з потейтином дають реакцію протилежну дії кожного з пестицидів окремо.

Урсодезоксихолева кислота, яка помітно перешкоджає токсичному впливу 2,4-Д на печінку і, зокрема, на її кровоносну систему [6], не захищає епітеліальні клітини стінок жовчних протоків. Отже її давно відома гепатопротективна дія стосується різних структурних компонентів печінки.

Сукцинат натрію повністю захищає жовчні протоки від дії 2,4-Д, але в поєднанні з івіном (потейтин) дає чітко виражену токсичну реакцію. Отже протективна дія сукцинату натрію не є універсальною. В поєднанні з певними хімічними сполуками токсичний вплив їх на деякі структурні компоненти печінки, зокрема на жовчовивідну систему, навіть зростає.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ostrovska G., Yablonska S., Rybalchenko T. et al. The influence of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the rat hepatocyte plasma membrane Ca^{2+}, Mg^{2+}-ATPase activity in vivo and in vitro // Ann. Univers. Mariae Curie-Sklodovska. — 2004. — Vol. XVII, №2. — P. 331-333.
2. Бичко А.В., Семенов Ю.В., Рыбальченко В.К. Преобразование гидратных структур ивина при взаимодействии с поверхностью липидной мембраны // Доповіді НАН України. — 2005. — №3. — С. 164-167.
3. Жминько П.Г. Влияние некоторых производных N-пиридина на мембраны митохондрий печени крыс при субхроническом пероральном воздействии // Совр. пробл. токсикол. — 2003. — N1. — С. 51-54.
4. Яблонська С.В., Островська Г.В., Рибальченко Т.В., Зеленюк В.О. Вплив гербіциду 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти та регуляторів росту рослин івіну і потейтину на перекисне окислення ліпідів та активність супероксиддисмутази гомогенату печінки щурів // Доповіді НАН України. — 2005. — № 10. — С. 185-187.
5. Карпезо Н.О., Островська Г.В., Гурняк О.М., Рибальченко В.К. Морфо-функціональні зміни у печінці щурів під впливом гербіциду 2,4-Д та стимулятору росту рослин івіну // Совр. пробл. токсикол. — 2004. — № 4. — С. 48-52.
6. Гурняк О.М., Карпезо Н.О., Рибальченко В.К. та ін. Вплив регуляторів росту рослин та гепатопротективних речовин на мікроциркуляторне русло печінки // Совр. пробл. токсикол. — 2007. — № 1. — С.46-49.
7. Яковенко Э П. Желчегонные препараты в клинической практике // Consilium Medicum. Гастроэнтерология. — 2003. — № 2. — С. 21-27.
8. Lazaridis K.N., Gores G.J., Lindor K.D. Ursodesoxyholic acid in "mechanisms of action and clinical use in hepatobiliary disorders" // J. of Hepatol. — 2001. — Vol. 35. — P. 134–146.
9. Алексеева Л., Петров А., Саватеева Т. Янтарная кислота — основное действующее вещество новых метаболических препаратов // Врач. — 2001. — № 12. — С. 29.
10. Подымова С.Д. Болезни печени. Руководство для врачей: 3-е изд. — М.: Медицина, 2005.— 767 с.

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

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЖЕЛЧНЫХ ПРОТОКАХ ПЕЧЕНИ ПРИ ДЕЙСТВИИ НЕКОТОРЫХ ПЕСТИЦИДОВ И ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ

Исследовано морфо-функциональное состояние внутрипеченочных желчных протоков у крыс после индивидуального и совместного действия гербицида 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д), стимуляторов роста растений 2,6-диметилпиридин-N-оксида (ивин) и комплекса ивина и сукцината натрия (потейтин) и, как гепатопротекторов, сукцината натрия и урсодезоксихолевой кислоты.

Полученные данные показали особенности структурных изменений в желчных протоках после действия указанных веществ. Было установлено, что реакция желчных протоков на совместное действие пестицидов может быть подобна реакции на один из них (2,4-Д и ивин) или может даже изменяться на противоположную (2,4-Д и потейтин).

Анализ морфо-функционального состояния желчных протоков показал отсутствие протективного действия урсодезоксихолевой кислоты относительно 2,4-Д. Сукцинат натрия защищает желчные протоки от токсического действия 2,4-Д, но совместное действие сукцината натрия и ивина (потейтин) вызывает значительные изменения эпителиальных клеток внутрипеченочных желчных протоков. Итак, сукцинат натрия не является универсальным гепатопротектором.

N.O. Karpezo, T.V. Rybalchenko, O.M. Gurniak, G.V. Ostrovska, S.N. Tsyvinska, O.V. Linchak, V.K. Rybalchenko

THE PECULIARITIES OF STRUCTURAL CHANGES IN THE INTRAHEPATIC BILE DUCTS UNDER THE INFLUENCE OF SOME PESTICIDES END HEPATOPROTECTORS

The morpho-functional changes in the rat intrahepatic bile ducts after the individual and simultaneous action of herbicide 2,4-dichlorphenoxyacetic acid (2,4-D), the plant growth stimulators 2,6-dimethylpyridin-N-oxide (ivin) and complex of ivin and Na-succinate (potatin) and as hepatoprotectors Na-succinate and ursodesoxyholic acid were investigated .

The obtained data showed the peculiarities of structural changes in bile ducts after the influence of these chemicals. There were ascertained that the bile ducts reaction on the simultaneous action of the pesticides was similar to one of them (2,4-D and ivin) or the bile ducts reaction even changed in the opposite direction (2,4-D and potatin).

Data analysis of the bile ducts morpho-functional condition showed the absence of the ursodesoxyholic acid protective action according to 2,4-D. Na-succinate protects bile ducts from 2,4-D toxic influence, but simultaneous action of Na-succinate and ivin (potatin) provoked significant changes in the intrahepatic bile duct epithelial cells. Thus Na-succinate isn't universal hepatoprotector.