

7. Антропогенные изменения экосистем Западно-Сибирской газоносной провинции / Под ред. Н.Г. Москаленко. М.: Российская АН СО Институт криосферы Земли. 2006. 357 с.

8. Вечная мерзлота и освоение нефтегазоносных районов / Под ред. Е.С. Мельникова и С.Е. Гречищева. М.: ГЕОС, 2002. 402 с.

9. Геокриология СССР. Западная Сибирь / Под ред. Э.Д. Ершова. М.: Недра, 1989. 454 с.

**Руфина Юрьевна ОЧЕРЕТИНА** —  
младший научный сотрудник

**Максим Валерьевич СТОГОВ** —  
кандидат биологических наук

Российский научный центр  
«Восстановительная травматология и  
ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова (г. Курган)  
gir@rncvto.kurgan.ru

УДК 612.359:616.718.5/6-001.5-089.227.84]-092.9

## **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ГЕПАТОЦИТОВ НА ТРАВМУ КОСТЕЙ ГОЛЕНИ (экспериментальное исследование)**

### **MORPHOLOGICAL CHARACTERISTIC FEATURES OF HEPATOCYTE REACTION TO LEG BONE INJURY (an Experimental Study)**

**АННОТАЦИЯ.** В статье представлены результаты изучения объемов клеток и ядер ( $\text{мкм}^3$ ), ЯЦИ, процент ядер различных классов трех зон печеночных долек через три и семь суток после перелома костей голени у мышей линии СВА. В структурно неизмененных паренхиматозных клетках выявлены: компенсаторно-приспособительная гипертрофия через три суток и активация белоксинтетической функции через семь суток после травмы.

**SUMMARY.** The volumes of cells and nuclei, the nucleocytoplasmic index (NCPI) and the percentage of different class nuclei from three zones of liver lobes have been studied in three and seven days after leg bone fracture in CBA line mice. Compensatory-and-adaptative hypertrophy has been revealed in structurally unchanged parenchymatous cells in three days after experimental bone fracture, as well as activation of protein-synthetic function — in seven days after trauma.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА.** Перелом костей голени, гепатоцит, морфометрия.  
**KEY WORDS.** Leg bone fracture, hepatocyte, morphometry.

Известно, что повреждение костей, как любое экстремальное воздействие, вызывает повышение энергозатрат, связанное с адаптационной перестройкой процессов метаболизма [1] и сопровождается преобладанием катаболических процессов [2]. Также известно, что ключевая роль в обеспечении потребности органов и тканей организма пластическими и энергетическими веществами принадлежит гепатоцитам, что восстановление после травмы во многом зависит не только от характера и тяжести повреждений, но и от функционального состояния печени [3]. Установлено, что восстановительные процессы включаются в действие практически одновременно с началом действия экстремального фактора. Однако начальные, слабые, «чисто функциональные» изменения не проявляются клинически [4]. Исследования паренхиматозных органов при тя-

желых механических повреждениях организма многочисленны [5], [6], [7]. Однако исследования выполнены в аспекте развития травматического шока и носят описательный характер. Публикаций, посвященных количественным морфологическим исследованиям гепатоцитов при повреждении костной ткани, в доступной литературе нами обнаружено не было.

Цель исследования — изучение морфологических аспектов реакции гепатоцитов на травму костей голени у лабораторных мышей.

**Материал и методы.** В эксперименте использованы 22 половозрелых самца мышей линии СВА. Животные были разделены на две серии: контрольная (интактные животные, I серия,  $n=10$ ) и экспериментальная (II серия,  $n=12$ ). В экспериментальной серии моделировали перелом костей голени путем механического воздействия под диэтиловым наркозом. Проведение экспериментальных исследований разрешено комитетом по этике при ФГУ «РНЦ «ВТО» имени академика Г.А. Илизарова Росмедтехнологий». Содержание животных, оперативное вмешательство и эвтаназию осуществляли в соответствии с требованиями конвенции по защите экспериментальных животных и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 № 755), требованиями инструкции № 12/313 Министерства здравоохранения РСФСР «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментальных биологических клиник» от 06.01.1973 г. Из эксперимента животных выводили в утренние часы декапитацией на третьи (IIIa группа), седьмые сутки (IIIб группа) с равным количеством животных в каждой группе. Животных взвешивали индивидуально на электронных весах AND (Япония). Определяли отношение массы печени к массе тела (%). Для гистологического исследования забирали материал левой боковой доли печени. Кусочки фиксировали в 10% нейтральном формалине. Для светооптического исследования изготавливали парафиновые срезы толщиной 5 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Для морфометрического анализа препаратов поля зрения оцифровывали на АПК «ДиаМорф» (Об. 40), в трех зонах печеночных долек. Используя программу для анализа изображений «ВидеоТест-Мастер 4,0», измеряли диаметр и площадь сечения одноядерных, структурно не измененных гепатоцитов и их ядер ( $\text{мкм}^2$ ). На основании полученных данных определяли площадь сечения цитоплазмы и вычисляли ядерно-цитоплазматический индекс гепатоцитов (ЯЦИ) согласно принципу M. Delesse [8], вычисляли объем гепатоцитов. Для суждения о средних размерах ядер гепатоцитов и их изменениях, вычисляли объемы ядер ( $\text{мкм}^3$ ) приняв форму всех ядер за шар [8]; пользуясь арифметическим методом, данные по объему разбивали на группы, определяли процентное содержание ядер гепатоцитов различных классов (К) [9]. Для анализа степени реализации восстановительных резервов печени на 1000 клеток, трех зон печеночных долек каждого животного, считали число одноядерных и двуядерных гепатоцитов. Определяли процентное содержание двуядерных гепатоцитов (%). Для определения достоверности различий использовали критерий Вилкоксона.

**Результаты и обсуждение.** Относительная масса печени в экспериментальной серии на третьи ( $5,81 \pm 0,32\%$ ) и седьмые ( $5,45 \pm 0,19\%$ ) сутки после перелома была достоверно меньше по сравнению с контрольными животными —  $6,79 \pm 0,36\%$  ( $p < 0,05$ ). При гистологической оценке препаратов печени животных экспериментальной серии через трое суток выявлено неравномерное кровенаполнение сосудистой сети (рис. 1а). Наблюдали стазы крови в синусоидах. Центральные вены были расширены и заполнены эритроцитами. Были обнару-

жены скопления деформированных эритроцитов вне сосудистой сети периферической зоны (рис. 1б). Макрофагально-лимфоидные скопления клеток были расположены перивенулярно и присутствовали в интрамедиарных зонах (рис. 1а, 1б). Обнаружены клетки Купфера с набухшими ядрами единичные и небольшими скоплениями не только между эндотелиальными клетками, но и между гепатоцитами. Паренхиматозные клетки имели многогранную, несколько округлую форму и четкие границы.

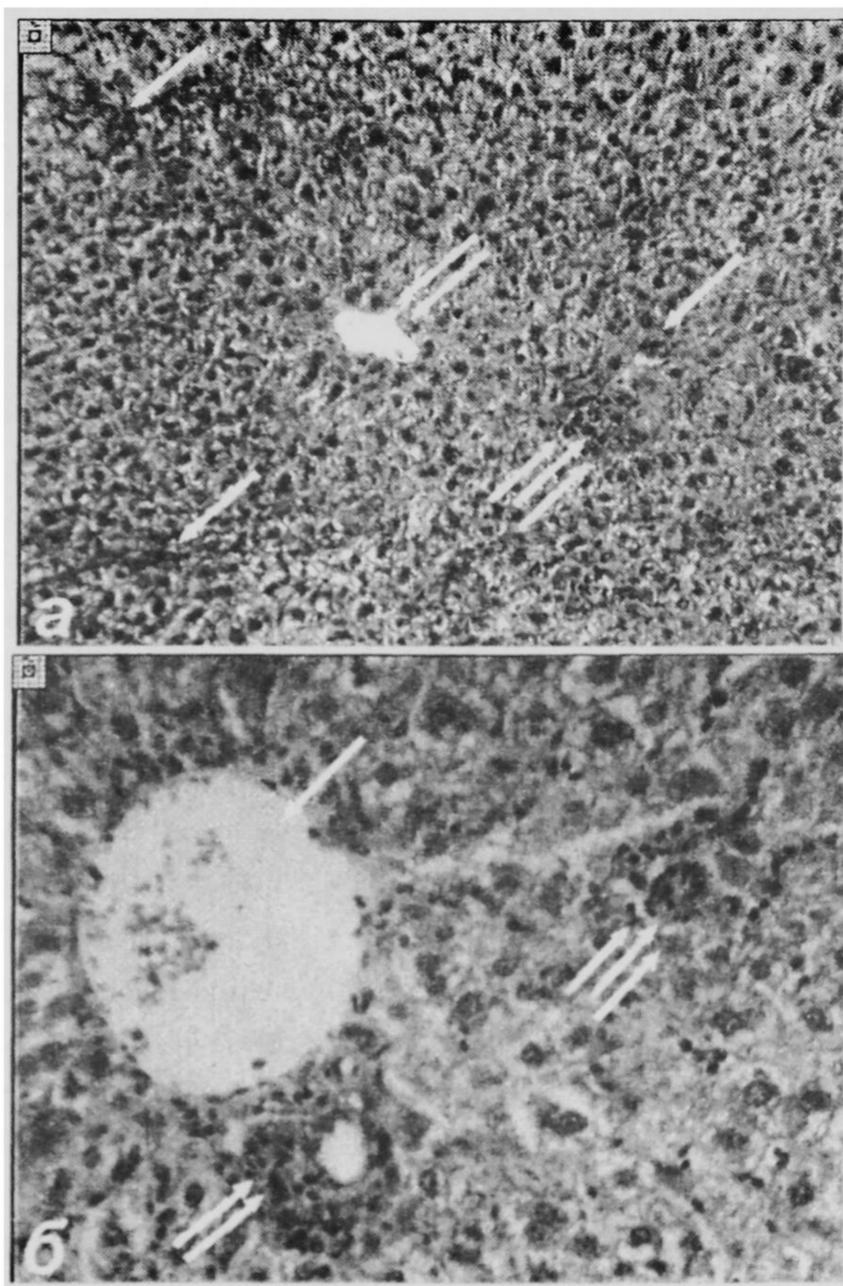


Рис. 1. Структуры ацинуса через 3 суток после перелома костей голени.  
Окраска гематоксилином и эозином

1а — портальные вены заполнены плотно упакованными эритроцитами (стрелка), центральная вена с единичными клетками (две стрелки), скопления лимфоидных клеток (три стрелки). Ок. 12,5. Об. 6,3;

1б — портальная вена (стрелка), деформированные эритроциты вне сосудистой сети (две стрелки), мелкие скопления лимфоидных клеток (три стрелки). Ок. 12,5. Об. 16

Было выявлено слабобазофильное окрашивание цитоплазмы клеток. Ядра имели четкие границы, в них определялись 1-2 ядрышка. Встречались крупные гепатоциты со светлой, ячеистой цитоплазмой или светлыми вакуолями по периферии клетки печеночных долек периферических и центральных зон. В части крупных ядер паренхиматозных клеток этих зон были выявлены уплотнения хроматина в форме глыбок, локализованных эксцентрично. У небольшой части животных в центральных зонах печеночных долек среди гепатоцитов с крупными вакуолями встречались группы клеток в состоянии некробиоза. В пери-

ферических зонах печеночных долек были выявлены делящиеся паренхиматозные клетки в анафазе.

Через семь суток после перелома костей при малом увеличении были отмечены небольшие участки гепатоцитов, многогранных по форме, с интенсивно базофильной цитоплазмой (рис. 2а). В сосудистой сети было отмечено неравномерное кровенаполнение. В части синусоидов клетки крови отсутствовали, в других отмечено умеренное количество форменных элементов крови. Было выявлено полнокровие центральных вен некоторых печеночных долек (рис. 2а). Обнаружены портальные вены, не содержащие форменных элементов крови, окруженные скоплениями лимфоидных клеток (рис. 2б).

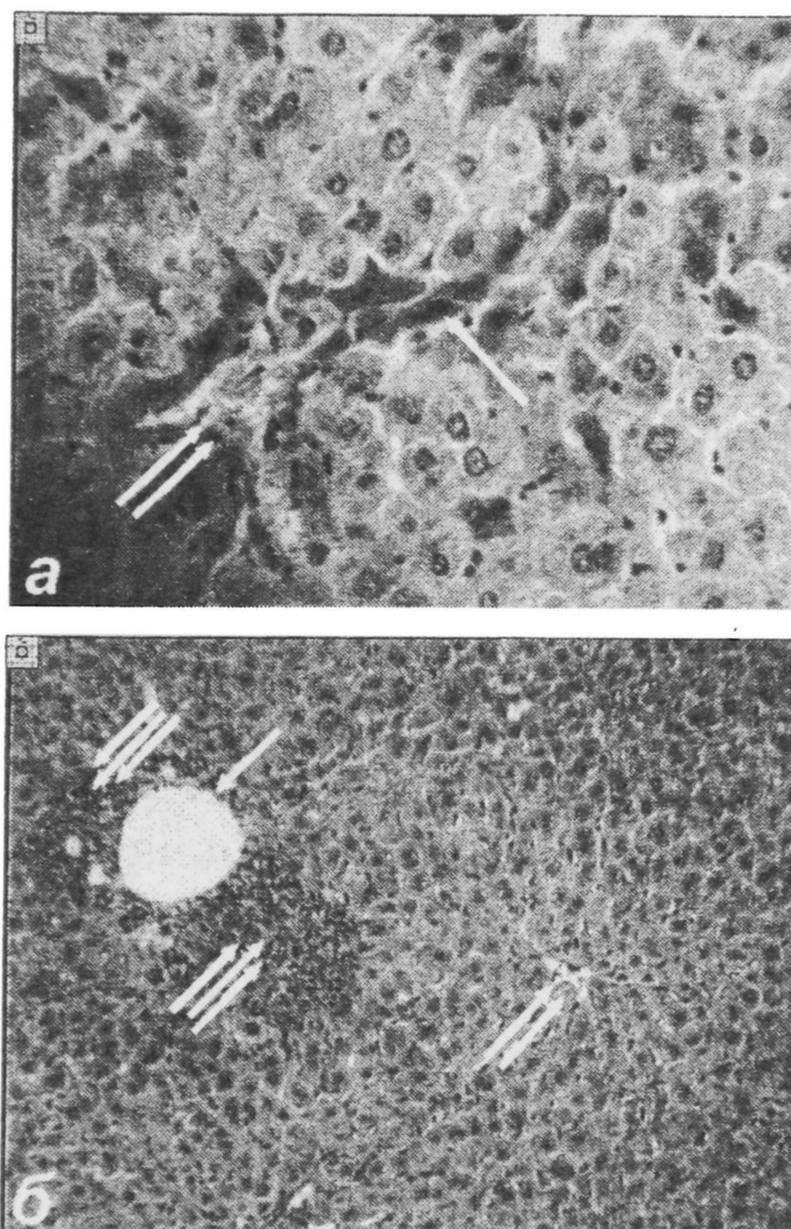


Рис. 2. Структуры ацинуса через 7 суток после перелома костей голени.  
Окраска гематоксилином и эозином

2а — паренхиматозные клетки с интенсивно базофильной цитоплазмой (стрелка),  
центральная вена с форменными элементами крови (две стрелки). Ок. 12,5. Об. 16;

2б — портальная вена (стрелка), центральная вена (две стрелки),  
скопление лимфоидных клеток (три стрелки). Ок. 12,5. Об. 6,3

Мелкие скопления лимфоидных клеток были распределены мозаично по всей поверхности среза. Клетки Купфера были многочисленны только у одного животного. Гепатоциты трех зон печеночных долек в основном имели четкие границы, несколько округлую форму, равномерное слабобазофильное окрашивание цитоплазмы клеток. В паренхиматозных клетках периферических и центральных зон части печеночных долек наблюдали ячеистый рисунок цитоплазмы или крупные вакуоли, расположенные по периферии клеток. Ядра распола-

гались в центре с 1-2 ядрышками. Мелкозернистый хроматин был сосредоточен по периферии ядра.

При анализе морфометрических данных структурно не измененных гепатоцитов, через трое суток после экспериментального перелома костей голени, выявлено достоверно значимое увеличение объема клеток и их ядер в трех зонах печеночных долек при сравнении с аналогичным показателем интактной группы. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1

| Морфометрические показатели гепатоцитов трех зон печеночных долек контрольной и экспериментальной серии лабораторных мышей |                       |                        |                            |                            |
|--|-----------------------|------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Морфометрические показатели  | Зоны печеночных долек | Интактные животные (I) | 3 сутки эксперимента (IIa) | 7 сутки эксперимента (IIб) |
| Объем клетки (мкм <sup>3</sup> )   | Периферическая        | 6016,56±102,77         | 8016,79±150,20I, IIб       | 5905,21±152,72I, IIа       |
|  | Интрамедиарная        | 7419,70±110,96         | 8946,16±168,14I, IIб       | 7113,63±156,96I, IIа       |
|  | Центральная           | 7341,80±104,42         | 8767,80±156,44I, IIб       | 6066,53±155,22I, IIа       |
| Объем ядра (мкм <sup>3</sup> )   | Периферическая        | 288,461±4,653          | 376,169±7,278I, IIб        | 290,426±6,233IIа           |
|  | Интрамедиарная        | 347,634±4,484          | 421,713±8,133I, IIб        | 383,565±7,679I, IIа        |
|  | Центральная           | 310,32±4,12            | 386,523±6,496I, IIб        | 282,704±6,206IIа           |
| ЯЦИ  | Периферическая        | 0,180±0,001            | 0,169±0,001I, IIб          | 0,183±0,001I, IIа          |
|  | Интрамедиарная        | 0,175±0,001            | 0,170±0,001I, IIб          | 0,192±0,001I, IIа          |
|  | Центральная           | 0,160±0,001            | 0,162±0,001I, IIб          | 0,175±0,001I, IIа          |

*Примечание:* верхним индексом обозначен номер группы, значения которых достоверно отличались от значений данной группы при уровне значимости ( $p < 0,05$ ).

Ядерно-цитоплазматический индекс в группе животных IIа был достоверно снижен в периферических и интрамедиарных зонах печеночных долек. В гепатоцитах центральных зон наблюдали достоверно значимое повышение ЯЦИ при сравнении с аналогичными показателями животных контрольной серии (табл. 1). При анализе распределения данных по объему ядер с интервалом 100 мкм<sup>3</sup>, в каждой из трех зон печеночных долек наблюдали четыре наиболее многочисленных группы. В периферических зонах обнаружили уменьшение процентного содержания ядер класса К1 (7,93%), К2 (30,07%) и увеличение процентного содержания классов К3 (21,21%) и К4 (20,05%), К5 (12,82%) при сравнении с контрольной группой (рис. 3). В интрамедиарной зоне выявлено уменьшение процентного содержания классов: К2 (22,61%) и К3 (22,34%), но увеличение процентного содержания ядер классов К4 (22,61%) и К5 (15,43%) при сравнении с аналогичным показателем интактной группы (рис. 3). В центральной зоне обнаружены три наиболее многочисленных группы, выявлено уменьшение процентного содержания ядер класса К1 (1,37%), К2 (29,00%) и увеличение процентного

содержания классов К3 (33,79%) и К4 (18,95%), К5 (7,99%) при сравнении с контрольной группой (рис. 3). При анализе процентного соотношения одно- и двуядерных гепатоцитов экспериментальной серии на третьи и седьмые сутки достоверных отличий не выявлено между экспериментальными группами и при сравнении их с контролем. Через семь суток после травмы обнаружено достоверное снижение среднего объема структурно не измененных гепатоцитов и их ядер во всех зонах печеночных долек при сравнении с показателями группы Па на третьи сутки эксперимента (табл. 1). При сравнении с интактными животными средний объем ядер интрамедиарной зоны был достоверно выше, а центральной — достоверно ниже; при этом объем клеток во всех зонах печеночных долек был достоверно снижен. ЯЦИ в группе Пб был достоверно высоким: в периферической, интрамедиарной, центральной зонах при сравнении с показателями Па группы и интактными животными (табл. 1). Анализ распределения данных по классам показал увеличение процентного содержания ядер классов с объемом 100 — 200 мкм<sup>3</sup> и 201 — 300 мкм<sup>3</sup> периферической (К1 — 29,47%), К2 — 38,40%), интрамедиарной (К2 — 37,95%), центральной (К1 — 29,55%, К2 — 38,98%) зонах и снижение процентного содержания ядер большего диаметра (рис. 3).

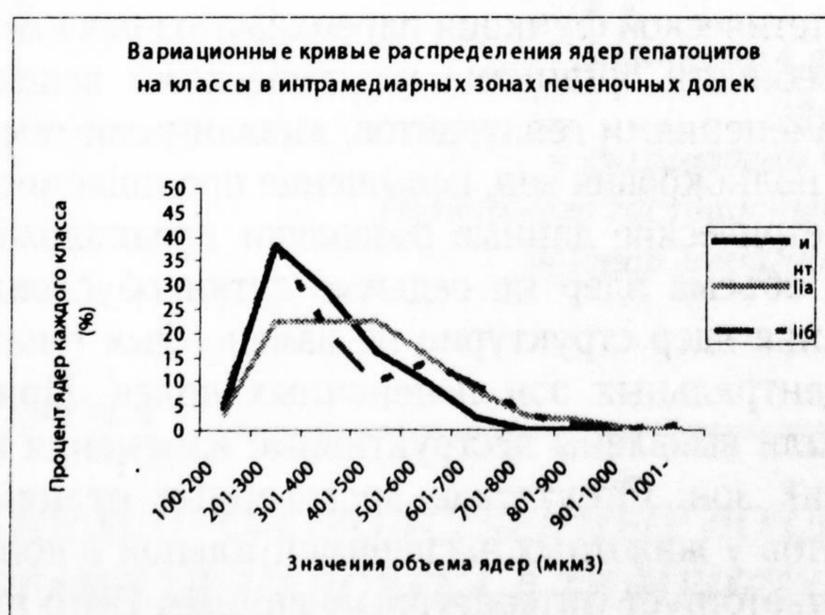




Рис. 3. Вариационные кривые распределения ядер одноядерных гепатоцитов на классы в трех зонах печеночных долек контрольной и экспериментальной серии лабораторных мышей

Проведенные морфометрические исследования показали достоверно значимое увеличение среднего объема ядер структурно не измененных гепатоцитов через трое суток в трех зонах печеночных долек и на седьмые сутки в интермедиарной зоне. Вместе с тем средний объем ядер паренхиматозных клеток группы IIб через семь суток был достоверно снижен при сравнении с показателями группы IIа. Вариационная кривая распределения объема ядер гепатоцитов по классам периферической зоны на третьи сутки была смещена вправо (рис. 3), отмечалась вершина класса К5. В интермедиарной зоне обеих групп экспериментальной серии среди четырех основных классов присутствовала вершина К5 с объемом ядер 501-600 мкм<sup>3</sup>. Через семь суток после травмы выявлено высокое процентное содержание ядер класса К1 с объемом 100-200 мкм<sup>3</sup> в периферической и центральной зонах печеночных долек (рис. 3).

Снижение ЯЦИ через трое суток и достоверно высокие показатели объема клеток и их ядер, вероятно, свидетельствуют о компенсаторно-приспособительной гипертрофии гепатоцитов, связанной с усилением анаэробного гликолиза, направленного на энергообеспечение органов и тканей организма после травмы. Увеличение объема ядер и ЯЦИ гепатоцитов на седьмые сутки, возможно, отражает повышение белоксинтетической функции паренхиматозных клеток, направленной на обеспечение потребности организма пластическими веществами, и в связи с деструктивными изменениями гепатоцитов, вызванными гемациркуляторными нарушениями в виде полнокровия вен, повышения проницаемости стенки сосудов. Полученные морфометрические данные позволяют предположить, что снижение средних показателей объема ядер на седьмые сутки обусловлено увеличением процентного содержания ядер структурно не измененных гепатоцитов класса К1 периферических и центральных зон печеночных долек. При гистологической оценке препаратов были выявлены деструктивные изменения крупных паренхиматозных клеток этих зон. Отсутствие достоверных отличий по количеству двуядерных гепатоцитов у животных экспериментальной и контрольной серии, и между группами соответствует литературным данным [2] о преобладании внутриклеточной регенерации паренхиматозных клеток у половозрелых мышей.

Таким образом, результаты позволяют предположить, что в структурно не измененных паренхиматозных клетках через трое суток после травмы костей голени у мышей развивается компенсаторно-приспособительная гипертрофия, через семь суток активизируется белоксинтетическая функция.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Казуева Т.В., Коврижных Э.Е., Кузьмина Р.И. и др. Энергетический обмен при шоке. В кн.: Травматический шок. Л., 1974. С. 48-57.
2. Саркисов Д.С. Очерки истории общей патологии. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Медицина, 1993. 512 с.
3. Гичев Ю.П. Роль печени в стрессорных реакциях организма // Успехи физиологических наук. 1990. Т. 21. № 1. С. 23-46.
4. Туманов В.П. Реабитология и внутриклеточные регенераторные процессы. Реабитология: сб.науч. тр. М., 2003. С. 31-33.
5. Селезнев А.С. [и др.]. Травматическая болезнь и ее осложнения. СПб.: Политехника, 2004. 414 с.
6. Магомедов А.Г. Изменения функции печени в динамике травматической болезни при различных методах реанимации // Анестезиология и реаниматология. 1988. № 6. С. 45-47.
7. Кудрявцева М.В. [и др.] Содержание гликогена и его фракций в гепатоцитах человека при травматической болезни // Цитология. 1988. № 12. С. 1449-1453.
8. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: Руководство. М.: Медицина, 1990. 384 с.
9. Хесин Я.Е. Размеры ядер и функциональное состояние клеток. М.: Медицина, 1967. 423 с.

**Татьяна Викторовна БОЛОТНОВА** —  
зав. кафедрой внутренних болезней,  
доктор медицинских наук, профессор

**Светлана Владимировна СОЛОВЬЕВА** —  
доцент кафедры внутренних болезней,  
кандидат медицинских наук

**Маргарита Игоревна СТУПИНА** —  
ассистент кафедры внутренних болезней

**Евгения Владимировна КИРСАНКИНА** —  
доцент кафедры внутренних болезней,  
кандидат медицинских наук

**Тюменская государственная медицинская академия**

**Владимир Сергеевич СОЛОВЬЕВ** —  
зав. кафедрой анатомии  
и физиологии человека и животных  
Тюменского государственного университета,  
доктор медицинских наук, профессор

[vnd3@yandex.ru](mailto:vnd3@yandex.ru)

УДК 613.632:611.2 .4034.4

**ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И ПРОИЗВОДСТВЕННЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ  
СВИНЦА НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА В ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ**

**ECOLOGICAL AND INDUSTRIAL EFFECTS OF LEAD ON HUMAN  
ORGANISM IN THE TYUMEN REGION**

**АННОТАЦИЯ.** Дана характеристика свинца как одного из самых опасных промышленных ядов. Показана роль свинца и его соединений в загрязнении окружающей