

РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ГЕПАТОТОКСИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ДОКСОРУБИЦИНА

Ольга Павловна МОЛОДЫХ, Елена Леонидовна ЛУШНИКОВА, Анастасия Александровна БАКУЛИНА

ГУ НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН
630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2

Изучены особенности ремоделирования печени крыс Вистар после однократного введения сублетальной дозы доксорубина в динамике. Установлено, что основную роль в пространственной реорганизации печени играют сосудисто-паренхиматозные отношения, которые определяют динамику стромально-паренхиматозных отношений. В периферической зоне печеночной долики заметное снижение отношения стромы к паренхиме преимущественно за счет уменьшения объемной плотности синусоидных капилляров проявляется в ранние и поздние сроки после введения препарата. В перипортальной зоне увеличение объемной и поверхностной плотностей синусоидных капилляров, обуславливающее увеличение объемного отношения стромы к паренхиме, происходит через неделю после введения препарата. К особенностям паренхиматозно-стромальных взаимоотношений в печеночной долике при доксорубиновом повреждении печени относится усиливающаяся со временем инфильтрация пространства Дрисе плазмодитами и лимфодными клетками.

Ключевые слова: гепатотоксические эффекты доксорубина, тканевая реорганизация печени, синусоидные капилляры, клетки пространства Дрисе, ультраструктура, стереология.

Выяснение закономерностей и особенностей ремоделирования печени при гепатотоксических воздействиях различных лекарственных препаратов имеет большое значение для разработки эффективных способов коррекции развивающихся побочных эффектов медикаментозной терапии. Среди препаратов, которые могут обладать гепатотоксическими свойствами, особый интерес представляют противоопухолевые антибиотики с доза-зависимым цитотоксическим эффектом.

Антибиотик антрациклинового ряда доксорубин (ДОК), один из наиболее эффективных противоопухолевых препаратов, вызывающий развитие рефрактерной к терапии хронической сердечной недостаточности и дилатационное ремоделирование сердца [1], проявил себя и как гепатотоксический препарат, однако без цитостатического эффекта на клетки здоровой печени [2, 3].

Характер доксорубиновых повреждений гепатоцитов (ГЦ) и других клеток печени в значительной степени определяет масштаб их гибели, особенности регенерации и выраженность компенсаторно-приспособительных реакций, что, в свою очередь, имеет большое значение для реализации того или иного варианта ремоделирования органа. Следует отметить, что основное внимание при оценке гепатотоксических эффектов цитостатиков уделяется изменениям функциональной активности печени и образующих ее клеток, а также

некоторым клеточным механизмам компенсации нарушенных функций [4–8]. В этом аспекте оценка закономерностей тканевой реорганизации печени имеет большое значение для выяснения регенераторных и адаптивных стратегий, направленности морфогенетических процессов с целью предотвращения и управления лекарственно-индуцированным ремоделированием печени [9–12].

Цель работы – изучить особенности ремоделирования печени при доксорубиновом повреждении на основании количественного морфологического анализа основных ее компартментов с оценкой клеточных популяций пространства Дрисе и синусоидальной выстилки.

Материал и методы исследования

В эксперименте использованы 25 крыс-самцов линии Вистар в возрасте 4 мес. Доксорубин гидрохлорид в дозе 10 мг/кг вводили однократно внутривентрально, животных содержали постоянно при комнатной температуре в индивидуальных клетках без ограничения доступа к воде и пище, забивали декапитацией на 1-е (n = 3), 3-и (n = 3), 5-е (n = 4), 7-е (n = 4), 14-е (n = 4), 21-е (n = 4) и 30-е (n = 3) сутки после введения препарата. Контрольную группу составили 10 одновозрастных животных. Эксперимент проведен в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных (Страсбург, 1986) и одобренными биоэтическим комитетом

Молодых О.П. – д.б.н., вед.н.с. лаб. цитологии и клеточной биологии, e-mail: pathol@soramn.ru

Лушникова Е.Л. – д.б.н., проф., зав. лаб. цитологии и клеточной биологии, e-mail: pathol@soramn.ru

Бакулина А.А. – младш.н.с. лаб. цитологии и клеточной биологии, e-mail: pathol@soramn.ru

ГУ НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН.

Печень отделяли от окружающих тканей, быстро взвешивали. Фиксированные в 4% параформальдегиде образцы печени постфиксировали в 1% растворе четырехокси осмия и после обезживания заключали в смесь эпона и арадита. Полутонкие (1 мкм) срезы окрашивали капельным способом 1% раствором азура II и использовали для морфологического исследования и стереологического анализа. Ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB III, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, изучали в электронном микроскопе JEM 1010 при ускоряющем напряжении 60 кВ.

При оценке особенностей ремоделирования печени основное внимание уделяли анализу объемных, поверхностных и поверхностно-объемных характеристик основных клеточных популяций печени и внеклеточной компоненты ее соединительной ткани, для чего использовали принципы стереологического анализа. В качестве основных стереологических параметров оценивали объемную плотность (относительный объем) ГЦ, их ядер, синусоидных капилляров, клеток соединительной ткани без их дифференциации и внеклеточного матрикса и поверхностную плотность (относительную площадь поверхности) ГЦ, их ядер, синусоидных капилляров, клеток соединительной ткани. На основании первичных стереологических параметров рассчитывали вторичные, описывающие количественные взаимоотношения между различными компонентами стромы и паренхимы: поверхностно-объемное отношение структур, объемное отношение стромы к паренхиме и ядерно-цитоплазматическое отношение. Все стереологические параметры вычисляли и анализировали отдельно для перипортальной и перипортальной зон.

Оценка первичных стереологических параметров проведена в универсальном микроскопе «Эпивал» (Carl Zeiss, Германия) при увеличении в 1320 раз (линейное увеличение объектива 106 раз) с использованием многоцелевой тестовой системы из коротких отрезков ($n = 36$, $P_t = 72$, $L_t = 192,3$ мкм). Анализировали непрерывающиеся поля зрения, число наложений тестовой системы (объем выборки) составило от 60 до 80 для каждого животного.

Статистическая обработка результатов включала нахождение средних значений изучаемых параметров (M), вычисление дисперсии и ошибок средних (m). Вопрос о значимости различий решался с помощью критерия Стьюдента.

Результаты исследования

Общетоксическое действие ДОК проявлялось в снижении массы тела и массы печени животных в течение первых 14 суток эксперимента (на 10%), затем происходило увеличение этих параметров (соответственно на 20 и 34%, $p < 0,05$). Смертность животных составила 20%, в основном из-за развившейся сердечной недостаточности. Относительная масса печени на протяжении всего эксперимента увеличивалась незначительно. Следует отметить, что масса тела у опытных животных возрастала в результате накопления трансудата в брюшной и грудной полостях.

Макроскопически печень животных оставалась без изменений до 14-х суток. Значительные изменения формы и цвета органа происходили с 21-х суток эксперимента: печень становилась «шаровидной», приобретала светлоржавно-коричневый оттенок. Практически у всех животных отмечено слипание (образование спаек) долей печени, значительное утолщение капсулы органа, появление на ней участков плотного белесоватого налета.

По данным светооптического и электронно-микроскопического исследования, ремоделирование печени при воздействии ДОК определялось двумя основными патогенетическими факторами: 1) цитотоксическим действием цитостатика и его метаболитов на клеточные популяции печени, прежде всего на ГЦ, и 2) выраженными гемодинамическими нарушениями в большом круге кровообращения в результате развития хронической сердечной недостаточности [2]. Повреждения печени токсического генеза манифестировали в жировой дистрофии ГЦ в перипортальных зонах и выраженных литических изменениях цитоплазмы («опустошении» цитоплазмы, как правило, это был лизис больших скоплений гликогена) в перипортальных зонах. Гемодинамические нарушения, проявлявшиеся в ранние сроки (до 7-х суток) эксперимента полнокровием и окклюзией синусоидов, усиливались начиная с 14-х суток наблюдения. К концу эксперимента в печени развивался венозный застой, который был также следствием гемодинамических нарушений в большом круге кровообращения. На этом фоне как в перипортальной, так и в перипортальной зонах печеночной доли регистрировались небольшие очаги некроза паренхимы, инфильтрированные мононуклеарными клетками преимущественно лимфоидного ряда. Следует отметить, что дистрофические и литические повреждения ГЦ усиливались

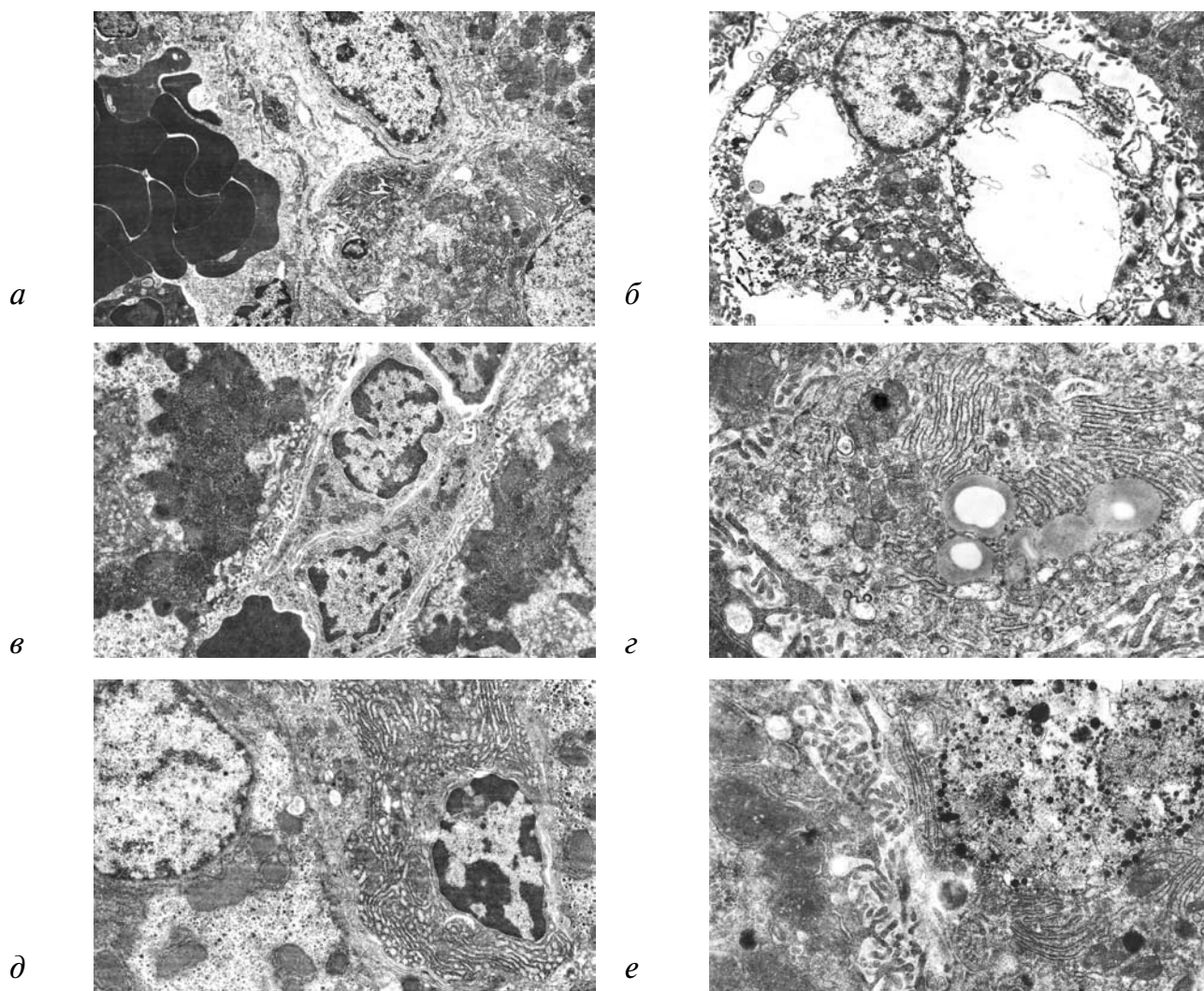


Рис. 1. Ультраструктура печени крыс в ранние сроки после введения сублиетальной дозы доксорубицина. а — окклюзия микрососуда и синусоида клетками крови через 1 сут. эксперимента, увел. 3000; б — некроз эндотелиоцита синусоида через 5 сут. после введения доксорубицина, увел. 5000; в — скопления лимфоидных клеток в просвете синусоида через 7 сут. эксперимента, увел. 4000; г — фрагмент клетки Купфера в просвете синусоида с гиперплазированным комплексом Гольджи и эндоплазматической сетью через 7 сут. эксперимента, увел. 10 000; д — плазматическая клетка в просвете синусоида через 7 сут. эксперимента, исчезновение микроворсинок на синусоидальном полюсе гепатоцитов, увел. 5000; е — клетка Купфера (siderophag) в просвете синусоида через 7 сут. эксперимента, увел. 10 000.

к 30-м суткам эксперимента. Наблюдалось также нарушение поглотительной, накопительной и экскреторной функции ГЦ, ультраструктурными маркерами этих изменений были снижение количества пиноцитозных везикул и числа микроворсинок вплоть до сглаживания поверхности ГЦ на синусоидальном полюсе, спавшиеся мешочки комплекса Гольджи, суммарное снижение объемной плотности основных цитоплазматических органелл [3]. В то же время в других ГЦ отмечалось увеличение площади синусоидальной поверхности за счет сокращения латеральной поверхности и образования микроворсинок, отражающее усиление трансмембранного обмена.

Детальный ультраструктурный анализ синусоидальной выстилки и пространства Диссе показал, что начиная с 1-х суток токсического действия ДОК происходила окклюзия микрососудов и синусоидных капилляров печени клетками крови (**рис. 1, а**). В пространство Диссе мигрировали многочисленные клетки лимфо- и моноцитарного ряда, эозинофилы, плазмоциты разной функциональной активности. С 5-х суток наблюдалось значительное расширение синусоидов, заполненных гипертрофированными макрофагами (клетками Купфера). При этом свободный (полезный) просвет синусоидов сужался, наблюдался некроз эндотелиальных клеток (**рис. 1, б**). Через 7 сут. после веде-

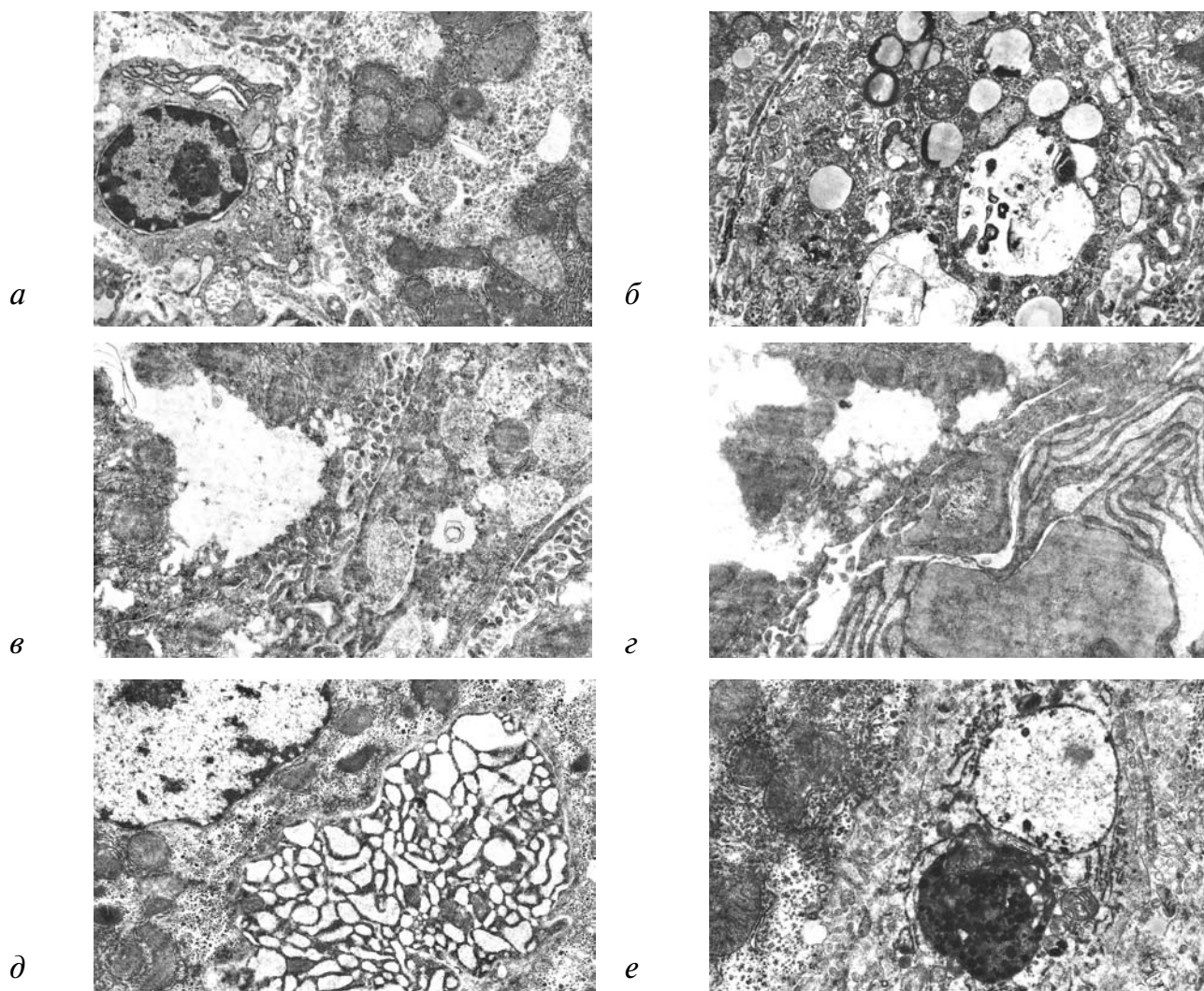


Рис. 2. Ультраструктура основных клеточных популяций печени при гепатотоксическом воздействии доксорубина. а — плазматическая клетка в синусоидальной выстилке через 14 сут. эксперимента, в гепатоците — секвестрация гликогена, увел. 6000; б — клетка Купфера с гетерогенными аутофагосомами и липидными включениями через 14 сут. после введения доксорубина, увел. 6000; в — фрагмент клетки Купфера с вторичными лизосомами, в гепатоците — диффузный лизис очаговых скоплений гликогена через 21 сут. эксперимента, увел. 10 000; г — фрагмент плазматической клетки и атрофически измененного эндотелиоцита через 21 сут., увел. 10 000; д — активированная плазматическая клетка с расширенными цистернами эндоплазматической сети через 30 сут. эксперимента, увел. 6000; е — гетерогенные аутофагосомы в клетке Купфера через 30 сут. эксперимента, увел. 10 000.

ния ДОК в просветах синусоидных капилляров выявлялись массовые скопления лимфоидных клеток (рис. 1, в), активированные клетки Купфера (рис. 1, г), плазмоциты, плотно прилежавшие к эндотелиальным клеткам (рис. 1, д), а также сидерофаги с огромными фагосомами, содержащими осмиофильные включения (рис. 1, е). В некоторых синусоидах преобладал клеточный детрит (остатки эритроцитов, тромботических масс, хлопьевидный материал).

С 14-х суток в синусоидах наблюдалось появление сегментоядерных нейтрофилов, активированных плазмоцитов с хорошо развитой эндоплазматической сетью (рис. 2, а) и актив-

ных форм клеток Купфера с обилием лизосом, фагосом и остаточных телец (рис. 2, б). Миграция нейтрофилов в печень в эти сроки была связана с наблюдавшимися некрозами ГЦ. Начиная с 21-х суток гипертрофированные клетки Купфера и активированные плазмоциты часто входили в выстилку синусоидных капилляров, заполняли просвет капилляров, мигрировали в пространство Диссе, занимая всю перисинусоидальную область. В этот период в клетках Купфера, расположенных рядом с ГЦ с выраженным лизисом скоплений гликогена, появлялись крупные фагосомы, содержавшие гранулы этого полисахарида (рис. 2, в). В кон-

тактирующих с плазмócитами эндотелиальных клетках значительно снижалась пиноцитозная активность, сами клетки часто подвергались деструкции (рис. 2, г). Через 30 сут в просветах синусоидных капилляров преобладали активированные (гипертрофированные) плазмócиты, которые мигрировали также в пространство Диссе и внедрялись между гепатоцитами (рис. 2, д). В пространствах Диссе находилось также большое количество клеток Купфера с гигантскими остаточными тельцами и фаголизосомами (рис. 2, е).

Следует особо подчеркнуть, что в использованной нами модели доксорубинового повреждения печени не отмечалось развитие перичеллюлярного фиброза во все сроки эксперимента, звездчатые клетки встречались очень редко и были липид-содержащими. Однако основной клеточной популяцией среди клеток соединительной ткани были клетки Купфера, в которых липидные включения начинали появляться через 7 суток после воздействия ДОК.

Активация и гипертрофия клеток Купфера, плазмócитов, обилие клеток лимфоидного ряда, массовые скопления детрита обуславливали уменьшение полезного просвета синусоидов и, как следствие, еще большее снижение скорости кровотока и тромбообразование. Снижение интенсивности гематотканевого обмена, в значительной степени зависящего от скорости кровотока в синусоидах, вызывало ишемическое повреждение ГЦ.

В печени очищение крови от антигенов происходит главным образом синусоидальными эндотелиальными клетками через рецептор-опосредованный эндоцитоз [13, 14]. Снижение уровня пиноцитозной активности эндотелиоцитов синусоидов в результате ишемического повреждения и их некроз замедляют удаление антигенов из крови, что способствует дифференцировке Т-клеток в эффекторные клетки — Т-хэлперы. Как следствие, возрастает Т-зависимая активация В-лимфоцитов и их дифференцировка в плазматические клетки, что является ключевым моментом в иммунно-опосредованном повреждении клеток печени. Кроме того, биотрансформация лекарств приводит к образованию аддуктов, служащих иммунными мишенями. Аддукты мигрируют к поверхности гепатоцитов, где они могут индуцировать образование антител (антитело-опосредованная цитотоксичность) или индуцировать прямой цитолитический Т-клеточный ответ [9]. Вторичный цитокиновый ответ, вызванный таким образом, может

быть причиной воспаления и дополнительной нейтрофильно-опосредованной гибели ГЦ.

Прежде чем представить анализ динамики пространственной реорганизации основных компартментов печеночной дольки при доксорубиновом воздействии, следует отметить, что у интактных животных выявлен ряд достоверных различий между объемной и поверхностной плотностью ГЦ и синусоидов в перипортальной и перичентральной зонах. В частности, в перипортальной зоне объемная плотность ГЦ была достоверно выше (на 10,3%, $p < 0,05$), чем в перичентральной зоне (табл. 1, 2), в то время как объемная плотность синусоидных капилляров — ниже (на 57,3%, $p < 0,05$), соответственно ниже было и отношение стромы к паренхиме (на 50,9%, $p < 0,05$) (рис. 3, а). Стереологический анализ печени крыс Вистар через сутки после введения ДОК выявил снижение объемной плотности синусоидных капилляров и увеличение объемной плотности ГЦ в перичентральной зоне до уровня значений перипортальной зоны. Соответственно, в перичентральной зоне снизилось отношение стромы к паренхиме до уровня значений портальной зоны.

Через 3 суток стереологические показатели структурных компартментов перичентральной зоны были близки к контрольным значениям, тогда как в перипортальной зоне наблюдалось увеличение объемной (на 54,7%, $p < 0,05$) и поверхностной (на 26,6%) плотности синусоидных капилляров в результате полнокровия, гемостаза, сдвига эритроцитов и скопления мононуклеаров в просветах сосудов [2]. В то же время в пространстве Диссе отмечено снижение объемной плотности клеток соединительной ткани (на 42,8% по сравнению с контролем, $p < 0,05$).

На 5-е сутки сохранялись высокие показатели объемной плотности синусоидных капилляров перипортальной зоны (рост на 58,1% по сравнению с контролем, $p < 0,05$), и как следствие, увеличение объемного отношения стромы к паренхиме (на 46,8% по сравнению с контролем, $p < 0,05$). В перипортальной зоне снизилась объемная плотность ГЦ (на 4,5 % по сравнению с контролем, $p < 0,05$) и увеличилась их поверхностная плотность (в перипортальной зоне — на 22,6%; в перичентральной зоне — на 32,3%, $p < 0,05$), что привело к увеличению поверхностно-объемного отношения ГЦ в обеих зонах (в перипортальной — на 28,6%, в перичентральной — на 25,4% по сравнению с контролем, $p < 0,05$), что свидетельствовало

Таблица 1

Тканевый стереологический анализ печени крыс Вистар после введения доксорубина (периферическая зона) (M ± m)

| Показатель | Контроль | Время после введения доксорубина | | | | | | |
|---|-----------------|----------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | 1 сутки | 3 сутки | 5 сутки | 7 сутки | 14 сутки | 21 сутки | 30 сутки |
| Объемная плотность (мм ³ /см ³): | | | | | | | | |
| гепатоцитов | 816,6 ± 20,5 | 873,6 ± 32,0 | 846,8 ± 18,5 | 793,1 ± 17,3 | 816,0 ± 71,7 | 850,0 ± 16,4 | 844,0 ± 10,8 | 872,9 ± 13,2 |
| ядер гепатоцитов | 50,0 ± 11,6 | 47,9 ± 13,3 | 56,0 ± 6,6 | 65,7 ± 9,4 | 51,4 ± 1,4 | 44,4 ± 0,8 | 45,4 ± 5,7 | 59,0 ± 11,8 |
| синусоидных капилляров | 158,3 ± 23,4 | 100,7 ± 28,6 | 123,1 ± 14,9 | 166,7 ± 14,1 | 134,1 ± 56,4 | 98,2 ± 19,8 | 119,9 ± 15,8 | 84,1 ± 3,5* |
| клеток соединительной ткани | 17,6 ± 3,4 | 13,9 ± 5,6 | 20,9 ± 5,0 | 18,2 ± 1,6 | 25,7 ± 6,3 | 25,9 ± 8,3 | 20,4 ± 2,6 | 28,2 ± 15,0 |
| внеклеточного матрикса | 7,4 ± 4,0 | 11,9 ± 2,1 | 9,2 ± 2,3 | 22,0 ± 5,4 | 24,3 ± 9,0 | 25,9 ± 7,3 | 15,7 ± 3,3 | 14,8 ± 1,7 |
| Поверхностная плотность (м ² /см ³): | | | | | | | | |
| гепатоцитов | 0,1577 ± 0,0162 | 0,1584 ± 0,0021 | 0,1962 ± 0,0095 | 0,2085 ± 0,0107* | 0,1966 ± 0,0123 | 0,1760 ± 0,0052 | 0,1860 ± 0,0058 | 0,1541 ± 0,0241 |
| ядер гепатоцитов | 0,0347 ± 0,0079 | 0,0307 ± 0,0071 | 0,0399 ± 0,0047 | 0,0486 ± 0,0044 | 0,0319 ± 0,0012 | 0,0265 ± 0,0003 | 0,0336 ± 0,0049 | 0,0394 ± 0,0095 |
| синусоидных капилляров | 0,0825 ± 0,0092 | 0,0623 ± 0,0056 | 0,0699 ± 0,0054 | 0,0785 ± 0,0042 | 0,0879 ± 0,0123 | 0,0623 ± 0,0154 | 0,0804 ± 0,0060 | 0,0635 ± 0,0036 |
| клеток соединительной ткани | 0,0163 ± 0,0029 | 0,0177 ± 0,0012 | 0,0147 ± 0,0032 | 0,0171 ± 0,0037 | 0,0178 ± 0,0028 | 0,0234 ± 0,0041 | 0,0179 ± 0,0031 | 0,0162 ± 0,0091 |

Примечание: * – p < 0,05 при сравнении с контролем.

Таблица 2

Тканевый стереологический анализ печени крыс Вистар после введения доксорубина (перипортальная зона) ($M \pm m$)

| Показатель | Контроль | Время после введения доксорубина | | | | | | |
|---|------------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | 1 сутки | 3 сутки | 5 сутки | 7 сутки | 14 сутки | 21 сутки | 30 сутки |
| Объемная плотность ($\text{мм}^2/\text{см}^3$): | | | | | | | | |
| гепатоцитов | $900,9 \pm 16,1^{***}$ | $916,2 \pm 14,4$ | $877,7 \pm 9,6$ | $860,2 \pm 4,0^{*,***}$ | $850,7 \pm 41,1$ | $872,6 \pm 14,2$ | $901,9 \pm 7,5^{***}$ | $903,9 \pm 8,1^{***}$ |
| ядер гепатоцитов | $62,0 \pm 9,1$ | $62,0 \pm 8,7$ | $59,7 \pm 6,1$ | $63,0 \pm 4,9$ | $59,1 \pm 7,7$ | $58,8 \pm 5,7^{***}$ | $66,7 \pm 5,8^{***}$ | $51,1 \pm 6,7$ |
| синусоидных капилляров | $67,6 \pm 9,1^{***}$ | $65,7 \pm 15,8$ | $104,6 \pm 10,4^*$ | $106,9 \pm 6,9^{*,***}$ | $120,8 \pm 36,2^*$ | $80,1 \pm 10,5$ | $56,9 \pm 5,6^{***}$ | $64,6 \pm 6,3^{***}$ |
| клеток соединительной ткани | $19,4 \pm 8,3$ | $13,9 \pm 1,6$ | $11,1 \pm 2,1^*$ | $20,4 \pm 1,8$ | $15,3 \pm 2,8$ | $23,6 \pm 4,9$ | $23,6 \pm 4,5$ | $21,5 \pm 6,3$ |
| внеклеточного матрикса | $12,1 \pm 1,0$ | $4,1 \pm 0,8^{**}$ | $6,6 \pm 2,6$ | $12,5 \pm 5,2$ | $13,1 \pm 2,1$ | $23,6 \pm 4,5$ | $17,6 \pm 3,0$ | $10,0 \pm 8,1$ |
| Поверхностная плотность ($\text{м}^2/\text{см}^3$): | | | | | | | | |
| гепатоцитов | $0,1765 \pm 0,0112$ | $0,1586 \pm 0,0051$ | $0,2204 \pm 0,0175$ | $0,2164 \pm 0,0132$ | $0,2069 \pm 0,0083$ | $0,1825 \pm 0,0197$ | $0,1710 \pm 0,0146$ | $0,1726 \pm 0,0316$ |
| ядер гепатоцитов | $0,0426 \pm 0,0078$ | $0,0399 \pm 0,0040$ | $0,0412 \pm 0,0034$ | $0,0454 \pm 0,0026$ | $0,0398 \pm 0,0059$ | $0,0341 \pm 0,0021^{***}$ | $0,0428 \pm 0,0043$ | $0,0331 \pm 0,0000$ |
| синусоидных капилляров | $0,0593 \pm 0,0089$ | $0,0462 \pm 0,0049$ | $0,0751 \pm 0,0079$ | $0,0646 \pm 0,0055^{***}$ | $0,0737 \pm 0,0042$ | $0,0612 \pm 0,0099$ | $0,0581 \pm 0,0045^{***}$ | $0,0489 \pm 0,0016^{***}$ |
| клеток соединительной ткани | $0,0168 \pm 0,0052$ | $0,0134 \pm 0,0023$ | $0,0126 \pm 0,0012$ | $0,0147 \pm 0,0011$ | $0,0158 \pm 0,0008$ | $0,0165 \pm 0,0059$ | $0,0200 \pm 0,0038$ | $0,0114 \pm 0,0059$ |

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ при сравнении с контролем; *** – $p < 0,05$ при сравнении с перипортальной зоной.

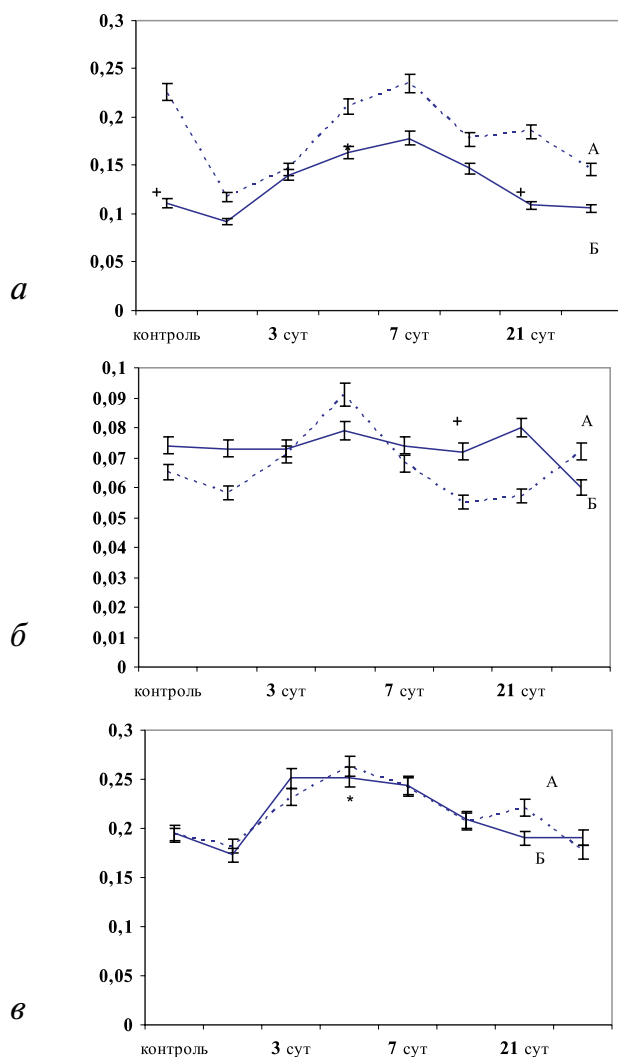


Рис. 3. Вторичные стереологические параметры печени крыс Вистар, подвергнутых воздействию доксорубина. а - объемное отношение стромы к паренхиме; б - ядерно-цитоплазматическое отношение гепатоцитов; в - поверхностно-объемное отношение гепатоцитов. А - перичесентральная зона, Б - перипортальная зона. * - $p < 0,05$ при сравнении с контролем, + - $p < 0,05$ при сравнении с перичесентральной зоной.

об увеличении доли «мелких» ГЦ и сопряжено с увеличением абсолютной численности ГЦ в этот срок эксперимента [2]. На 7-е сутки в перипортальной зоне изменения нарастали — продолжался рост объемной плотности синусоидов (на 78,7% по сравнению с контролем, $p < 0,05$), соответственно увеличивалось объемное отношение стромы к паренхиме (на 60,4% по сравнению с контролем, $p < 0,05$).

С 14-х суток и до конца эксперимента стереологические показатели в перипортальной зоне стабилизировались на уровне контрольных значений, тогда как в перичесентральной зоне

отмечалось стабильное снижение объемной плотности синусоидных капилляров (на 30-е сутки — на 46,9% по сравнению с контролем, $p < 0,05$). При характеристике популяции ГЦ перичесентральной зоны важно отметить снижение объемной (на 24,5% по сравнению с перипортальной зоной, $p < 0,05$) и поверхностной (на 22,3% по сравнению с перипортальной зоной, $p < 0,05$ и на 23,6% по сравнению с контролем, $p < 0,05$) плотности их ядер, что обуславливало снижение ядерно-цитоплазматического отношения (на 23,6% по сравнению с перипортальной зоной, $p < 0,05$) (рис. 3, б).

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что ключевую роль в тканевой реорганизации печеночной дольки и ремоделировании печени при действии ДОК играют изменения объемной плотности синусоидов, которая вносит основной вклад в изменения стромально-паренхиматозных отношений. Важно отметить, что объемное отношение стромы к паренхиме у интактных животных было выше в перичесентральной зоне печеночной дольки, чем в перипортальной зоне (рис. 3, а). При действии ДОК более выраженные изменения данного параметра (значительное уменьшение с 1-х по 5-е и с 14-х по 30-е сутки эксперимента) отмечались в перичесентральной зоне, при этом его значения оставались выше, чем в перипортальной зоне, на протяжении всего эксперимента.

При оценке структурной реорганизации основного компартмента печеночной дольки — ГЦ — следует отметить, что их поверхностно-объемное отношение было одинаковым в обеих зонах печеночной дольки у интактных животных, а в динамике эксперимента наблюдалась одинаковая направленность изменений данного параметра (рис. 3, в). Эти данные свидетельствуют о том, что размеры ГЦ в обеих зонах были одинаковыми не только у интактных крыс, но и во все сроки эксперимента. В то же время ядерно-цитоплазматическое отношение ГЦ изменялось в большей степени в перичесентральной зоне, что может отражать особенности регенераторных стратегий на клеточном уровне в разных зонах (вероятно, в результате различий в метаболизме и микроокружении ГЦ).

Характер пространственной реорганизации печени при индуцированной доксорубицином деструкции обусловлен токсическими, ишемическими и иммуно-опосредованными повреждениями ГЦ и эндотелиоцитов сосудов, развивающимися на фоне системных гемодинамических нарушений. Структурные

изменения, свидетельствующие об адаптивных реакциях ГЦ в условиях ограниченных возможностей пластического обеспечения, проявляются в изменениях поверхностно-объемного и ядерно-цитоплазматического отношения ГЦ.

Литература

1. Лушникова Е.Л., Клиникова М.Г., Молодых О.П., Непомнящих Л.М. Морфологические проявления ремоделирования сердца при дилатационной кардиомиопатии антрациклинового генеза // Бюлл. exper. биол. 2004. 12. 684 – 689.
2. Молодых О.П., Лушникова Е.Л., Клиникова М.Г., Непомнящих Л.М. Структурная реорганизация печени крыс при цитотоксическом действии доxorубина // Бюлл. exper. биол. 2006. 5. 579-585.
3. Молодых О.П., Лушникова Е.Л., Клиникова М.Г., Непомнящих Л.М. Внутриклеточная реорганизация гепатоцитов при воздействии доxorубина // Бюлл. exper. биол. 2007. 10. 464-472.
4. Jaeschke H., Gores G.J., Cederbaum A.I. et al. Mechanisms of hepatotoxicity // Toxicol. Sci. 2002. 65. 166-176.
5. Hilmer N.H., Cogger V.C., Muller M., Couteur D.G.C. The hepatic pharmacokinetics of doxorubicin and liposomal doxorubicin // Drug Metab. Dispos. 2004. 32. 794-799.
6. Kaplowitz N. Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury // Semin. Liver Dis. 2002. 22. 137-144.
7. Park B.K., Kitteringham N.R., Maggs J.L. et al. The role of metabolic activation in drug-induced hepatotoxicity // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2005. 45. 177-202.
8. Petrovic V., Teng S., Piquette-Miller M. Regulation of drug transporters: during infection and inflammation // Mol. Interv. 2007. 7. 99-111.
9. Lee W.M. Drug-induced hepatotoxicity // N. Engl. J. Med. 2003. 349. 474-485.
10. Lee W.M., Senior J.R. Recognizing drug-induced liver injury: current problems, possible solutions // Toxicol. Pathol. 2005. 33. 155-164.
11. Navarro V.J., Senior R. Drug-related hepatotoxicity // N. Engl. J. Med. 2006. 354. 731-739.
12. Sierra F.A., Torres D.P. A concise and structured review of drug-induced toxic hepatic disease // Ann. Hepatol. 2004. 3. 18-25.
13. Limmer F., Knolle P.A. Liver sinusoidal endothelial cells: a new type of organ-resident antigen-presenting cell // Arch. Immunol. Ther. Exp. 2001. 49. S7-S11.
14. Knolle P.A., Gerken G. Local control of immune response in the liver // Immunol. Rev. 2000. 174. 21-34.

RAT LIVER REMODELING UNDER HEPATOTOXIC DOXORUBICIN TREATMENT

Olga Pavlovna MOLODYKH, Elena Leonidovna LUSHNIKOVA, Anastasiya Alexandrovna BAKULINA

SI RI for regional pathology and pathomorphology of SB RAMS
2, Ac. Timakov str., Novosibirsk, 630117

Peculiarities of remodeling of Wistar rat liver after singlefold administration of doxorubicin sublethal dose in dynamic have been investigated. It has been shown that main role in liver three-dimensional reorganization plays vascular-parenchymatous relations which specify dynamics of stromal-parenchymatous relations. Noticeable reduction of the ratio of stroma to parenchyma predominantly due to reduction of spatial density of sinusoidal capillaries occurs in pericentral zone of liver acinus in early and late terms after administration of the preparation. In periportal zone increase in spatial and surface density of sinusoidal capillaries causing increase in the spatial ratio of stroma to parenchyma occurs in a week after administration of the preparation. Increasing with time Disse's space infiltration by plasmocytes and lymphoid cells is consider to be a peculiarity of parenchymatous-stromal mutual relations in liver acinus.

Key words: doxorubicin hepatotoxic effect, tissue reorganization of liver, cells of Disse's space, ultrastructure, stereology.

Molodykh O.P. — doctor of Biological Sciences, leading researcher of laboratory of cytology and cellular biology, e-mail: pathol@soramn.ru
Lushnikova E.L. — doctor of Biological Sciences, professor, head of laboratory of cytology and cellular biology, e-mail: pathol@soramn.ru
Bakulina A.A. — junior researcher of of laboratory of cytology and cellular biology, e-mail: pathol@soramn.ru