BG Pulse Journal USA
ISSN:1947-2536 http://www.bgpulseusa.com/index.php/bg

ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭТАНОЛА

Курбанова С.О., 230-ЛД
Ташкентский государственный медицинский университет, Ташкент, Узбекистан
Кафедра: Анатомия, гистология, патологическая анатомия.
Научный руководитель: доцент **Дусметов А.Т.**

Doi: https://doi.org/10.5281/zenodo.21836246

Аннотация: Целью настоящего исследования явилось изучение патогистологических изменений печени и почек белых крыс при экспериментальной алкогольной интоксикации различной продолжительности, а также анализ морфологических параллелей между поражением этих двух органов. В эксперименте использовали белых крыс-самцов, подвергавшихся ежедневному внутрижелудочному введению 40% раствора этанола в дозе 5 г/кг массы тела в течение 30, 60 и 90 суток, а также интактных контрольных животных. Установлено, что хроническое воздействие этанола вызывает в печени последовательное развитие жировой дистрофии гепатоцитов, очагового некроза, активацию клеток Купфера и лимфогистиоцитарную инфильтрацию портальных трактов, а в почках — вакуольную дистрофию и некроз эпителия проксимальных канальцев, полнокровие сосудов коркового вещества и начальные признаки гломерулосклероза. Выраженность морфологических изменений находилась в прямой зависимости от длительности алкогольной интоксикации.

Ключевые слова: этанол, алкогольная интоксикация, жировая дистрофия печени, некроз гепатоцитов, нефропатия, канальцевая дистрофия, эксперимент, белые крысы

Введение

Актуальность: Злоупотребление алкоголем остаётся одной из наиболее значимых медико-социальных проблем современности, поскольку хроническая алкогольная интоксикация приводит к поражению практически всех систем организма и занимает ведущее место среди предотвратимых причин заболеваемости и смертности населения. По данным Всемирной организации здравоохранения, употребление алкоголя ежегодно становится причиной значительной доли случаев цирроза печени, хронической болезни почек и сердечно-сосудистых заболеваний, а экономический и демографический ущерб от алкоголь-ассоциированной патологии продолжает возрастать [1,4].

Печень является главным органом-мишенью при алкогольной интоксикации, поскольку именно в гепатоцитах происходит основной метаболизм этанола с образованием ацетальдегида — высокотоксичного соединения, инициирующего окислительный стресс, повреждение митохондрий и запуск апоптоза и некроза клеток [2,7,8]. Наряду с печенью существенным изменениям подвергаются и почки, участвующие в выведении продуктов метаболизма этанола и подверженные прямому и опосредованному токсическому воздействию как самого этанола, так и продуктов эндотоксемии, возникающей на фоне поражения кишечного барьера и печени [9,11]. Несмотря на значительное число работ, посвящённых алкогольному поражению печени, сочетанная динамика патогистологических

изменений печени и почек при различной длительности интоксикации изучена недостаточно, а имеющиеся данные носят фрагментарный характер.

Понимание последовательности и взаимосвязи структурных изменений печени и почек на экспериментальных моделях позволяет уточнить патогенетические механизмы алкогольного повреждения внутренних органов и обосновать подходы к ранней диагностике, профилактике и патогенетической коррекции алкоголь-индуцированных висцеропатий.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: изучить характер и динамику патогистологических изменений печени и почек белых крыс при экспериментальном хроническом воздействии этанола различной продолжительности.

В соответствии с целью исследования были поставлены следующие задачи:

— изучить морфологические изменения печени крыс (гепатоцитов, клеток Купфера, сосудистого русла, портальных трактов) на 30, 60 и 90-е сутки алкогольной интоксикации;

— изучить морфологические изменения почек крыс (клубочкового аппарата, эпителия канальцев, интерстиция и сосудов) в те же сроки наблюдения;

— провести количественный морфометрический анализ выявленных изменений и оценить их зависимость от длительности воздействия этанола;

— сопоставить характер и выраженность патогистологических изменений печени и почек для выявления возможных патогенетических параллелей.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 60 белых крысах-самцах линии Вистар массой 180–220 г, содержавшихся в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и корму. Животные были разделены на 4 группы по 15 особей: контрольную группу (получавшую эквивалентный объём физиологического раствора) и три опытные группы, которым ежедневно внутрижелудочно вводили 40% раствор этанола в дозе 5 г/кг массы тела на протяжении 30, 60 и 90 суток соответственно. Выведение животных из эксперимента осуществляли методом декапитации под эфирным наркозом на следующие сутки после последнего введения этанола, что соответствует принципам гуманного обращения с лабораторными животными.

Образцы ткани печени и почек фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине и в жидкости Карнуа, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин по стандартной методике. Парафиновые срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином для оценки общей морфологической картины, а также применяли окраску по Ван-Гизону для выявления соединительнотканных элементов и Суданом III на замороженных срезах для верификации липидных включений. Для полутонких срезов, приготовленных на ультратоме LKB-4800, использовали окраску метиленовым синим. Морфометрический анализ проводили с помощью световой микроскопии с использованием окулярной сетки; в каждой группе исследовали не менее 10 полей зрения на препарат при увеличении ×400.

Количественную оценку изменений печени проводили путём подсчёта доли гепатоцитов с признаками жировой дистрофии и некроза, числа двуядерных гепатоцитов и клеток Купфера, а также измерения диаметра центральных вен долек. При оценке почек определяли средний диаметр клубочков, долю клубочков со склеротическими изменениями, долю канальцевого эпителия с вакуольной дистрофией и некрозом, а также полуколичественно (в баллах от 0 до 3) оценивали выраженность лимфогистиоцитарной инфильтрации интерстиция и полнокровия сосудов коркового вещества. Статистическую обработку результатов проводили с вычислением среднего значения и стандартной ошибки среднего (M±m); достоверность различий между группами оценивали с использованием критерия Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $P<0,05$.

Результаты исследования

Гистологическое исследование печени контрольных животных выявило типичное балочное строение печёночных долек, гепатоциты с чёткими границами, центрально расположенными округлыми ядрами и умеренно эозинофильной цитоплазмой; синусоидные капилляры были умеренно кровенаполнены, портальные тракты не содержали признаков клеточной инфильтрации.

Уже на 30-е сутки алкогольной интоксикации в печени опытных животных отмечалось появление мелкокапельной жировой дистрофии гепатоцитов, преимущественно локализованной в центролобулярных и среднедолевых отделах печёночных долек. Цитоплазма поражённых гепатоцитов содержала множественные мелкие липидные вакуоли, ядра сохраняли центральное положение. Наблюдалось умеренное полнокровие синусоидов и начальная активация клеток Купфера, число которых статистически значимо превышало контрольные значения.

К 60-м суткам воздействия этанола морфологическая картина печени характеризовалась нарастанием жировой дистрофии с переходом мелкокапельной формы в крупнокапельную, при которой единичная крупная жировая вакуоль смещала ядро гепатоцита к периферии клетки. В центролобулярных зонах выявлялись очаги баллонной дистрофии и единичные некротизированные гепатоциты с пикнотичными ядрами и эозинофильной гомогенизированной цитоплазмой (тельца, сходные с тельцами Мэллори). В портальных трактах и вокруг очагов некроза определялась умеренно выраженная лимфогистиоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофильных гранулоцитов. Синусоидные капилляры были неравномерно расширены и полнокровны, отмечались начальные признаки перисинусоидального фиброза при окраске по Ван-Гизону.

На 90-е сутки эксперимента изменения приобретали наиболее выраженный характер: доля гепатоцитов с жировой дистрофией достигала практически половины клеточной популяции долек, увеличивалось число очагов некроза, преимущественно центролобулярной локализации, с формированием мелких воспалительных инфильтратов на их месте. Отмечалось выраженное полнокровие центральных вен с увеличением их диаметра, утолщение и разрыхление стенок сосудов портальных трактов, а также нарастающий перипортальный и перисинусоидальный фиброз. Число двуядерных гепатоцитов, отражающих регенераторную активность паренхимы, статистически значимо снижалось по сравнению с контролем и с группой 30 суток, что свидетельствует об истощении

компенсаторно-пролиферативных возможностей печени при длительной алкогольной нагрузке.

Результаты морфометрического анализа печени представлены в таблице 1.

Таблица № 1.

Морфометрические показатели печени крыс при экспериментальном воздействии этанола.

Показатели	**Контроль M ±**	**30 суток M ±**	**60 суток M ±**	**90 суток M ±**
Относительная масса печени, %	3,21±0,06	3,45±0,08*	3,89±0,10**	4,12±0,11**
Гепатоциты с жировой дистрофией, %	2,4±0,3	18,6±1,2**	34,7±2,1**	46,3±2,8**
Гепатоциты в состоянии некроза, %	0,3±0,1	1,8±0,3*	5,4±0,6**	9,1±0,9**
Двуядерные гепатоциты, %	4,1±0,4	3,2±0,3	2,0±0,3*	1,4±0,2**
Клетки Купфера (число в п/з)	6,8±0,5	9,3±0,6*	13,2±0,8**	16,5±1,0**
Диаметр центральных вен, мкм	28,4±1,1	31,2±1,3	36,7±1,6**	41,5±1,8**

*Примечание: * P<0,05, ** P<0,001 по сравнению с контролем*

Гистологическое исследование почек контрольных животных выявило сохранную структуру нефронов: клубочки округлой формы с умеренно выраженной клеточностью мезангия, капсула Шумлянского–Боумена без признаков утолщения, эпителий проксимальных и дистальных канальцев кубической и призматической формы с чёткой щёточной каёмкой, интерстиций без признаков отёка и клеточной инфильтрации.

На 30-е сутки воздействия этанола в почках опытных животных обнаруживались начальные признаки вакуольной дистрофии эпителия преимущественно проксимальных извитых канальцев: цитоплазма клеток становилась мутной, набухшей, с мелкими вакуолями, отдельные ядра теряли чёткость контуров. Клубочки визуально мало отличались

от контрольных, однако отмечалось умеренное полнокровие капилляров коркового вещества и единичные периваскулярные лимфогистиоцитарные скопления.

К 60-м суткам эксперимента вакуольная дистрофия эпителия канальцев приобретала распространённый характер, местами с явлениями баллонной дистрофии и десквамацией отдельных эпителиоцитов в просвет канальцев; в ряде канальцев выявлялись мелкие очаги некроза эпителия с разрушением базальной мембраны. В клубочках отмечалось умеренное расширение мезангиального матрикса, неравномерное полнокровие капиллярных петель и утолщение отдельных участков капсулы. Лимфогистиоцитарная инфильтрация интерстиция становилась более выраженной, преимущественно в перитубулярных зонах коркового вещества.

На 90-е сутки интоксикации морфологические изменения почек достигали наибольшей выраженности: у значительной части животных выявлялись очаги некроза эпителия проксимальных канальцев с обнажением базальной мембраны, выраженная вакуольная дистрофия сохранившегося эпителия, десквамация клеток с формированием клеточного детрита в просвете канальцев. Средний диаметр клубочков был статистически значимо увеличен по сравнению с контролем, что можно расценивать как проявление компенсаторной гиперфильтрации на фоне снижения функционирующей массы канальцевого аппарата; вместе с тем у части клубочков отмечались начальные признаки склерозирования капиллярных петель и утолщения капсулы, что свидетельствует о формировании хронического повреждения клубочкового аппарата. Сосуды коркового вещества были выраженно полнокровны, местами с явлениями стаза и диапедезных микрокровоизлияний в интерстициальную ткань, лимфогистиоцитарная инфильтрация носила диффузный характер.

Результаты морфометрического анализа почек представлены в таблице 2.

Таблица № 2.

Морфометрические показатели почек крыс при экспериментальном воздействии этанола.

Показатели	**Контроль M ±**	**30 суток M ±**	**60 суток M ±**	**90 суток M ±**
Средний диаметр клубочков, мкм	82,3±1,7	85,1±1,9	91,4±2,2*	97,8±2,5**
Клубочки с признаками склероза, %	1,2±0,2	3,6±0,4*	8,9±0,7**	14,2±1,1**
Эпителий канальцев с вакуольной дистрофией, %	3,8±0,4	22,4±1,6**	39,7±2,3**	51,6±2,9**

Показатели	Контроль M ±	30 суток M ±	60 суток M ±	90 суток M ±
Некроз эпителия канальцев, %	0,2±0,1	2,1±0,3*	6,3±0,6**	10,8±1,0**
Лимфогистиоцитарная инфильтрация стромы (баллы, 0–3)	0,3±0,1	0,9±0,2*	1,6±0,2**	2,2±0,2**
Полнокровие сосудов коркового вещества (баллы, 0–3)	0,4±0,1	1,1±0,2*	1,9±0,2**	2,4±0,2**

*Примечание: * P<0,05, ** P<0,001 по сравнению с контролем*

Обсуждение результатов

Полученные данные свидетельствуют о том, что хроническая алкогольная интоксикация вызывает в печени и почках белых крыс закономерную стадийную динамику патогистологических изменений, выраженность которых нарастает пропорционально длительности воздействия этанола. Развитие жировой дистрофии гепатоцитов на ранних сроках эксперимента объясняется нарушением липидного обмена вследствие изменения соотношения НАД/НАДН при окислении этанола алкогольдегидрогеназой, что приводит к торможению β-окисления жирных кислот и усилению их эстерификации в триглицериды [7,8,14]. Переход мелкокапельной жировой дистрофии в крупнокапельную и появление очагов некроза к 60–90-м суткам отражает нарастающее повреждающее действие ацетальдегида и активных форм кислорода на мембранные структуры и митохондриальный аппарат гепатоцитов, что согласуется с современными представлениями о патогенезе алкогольной болезни печени [8,9,12].

Активация клеток Купфера и нарастающая лимфогистиоцитарная инфильтрация портальных трактов подтверждают ведущую роль воспалительного компонента в прогрессировании алкогольного поражения печени: повреждённые и погибающие гепатоциты, а также продукты эндотоксемии, обусловленной повышением кишечной проницаемости на фоне хронической алкогольной нагрузки, стимулируют высвобождение провоспалительных цитокинов, что способствует поддержанию хронического воспаления и формированию перисинусоидального фиброза [9,12,13]. Снижение доли двуядерных гепатоцитов на поздних сроках эксперимента указывает на истощение регенераторного потенциала печёночной паренхимы, что представляет собой неблагоприятный прогностический признак с точки зрения возможности обратного развития морфологических изменений.

Морфологические изменения почек, выявленные в настоящем исследовании, характеризуются преимущественным поражением эпителия проксимальных канальцев, что может быть связано как с прямым нефротоксическим действием этанола и ацетальдегида,

экскретируемых с мочой, так и с опосредованным повреждением вследствие системной эндотоксемии, оксидативного стресса и нарушений почечной гемодинамики на фоне хронической алкогольной интоксикации [10,11,15]. Нарастающее полнокровие сосудов коркового вещества и периваскулярная лимфогистиоцитарная инфильтрация свидетельствуют об активном участии микроциркуляторного русла в патогенезе алкогольной нефропатии, а увеличение среднего диаметра клубочков на поздних сроках эксперимента отражает компенсаторную гиперфильтрацию, развивающуюся в ответ на прогрессирующую потерю функционирующих нефронов вследствие канальцевого некроза.

Сопоставление динамики изменений печени и почек показывает выраженный параллелизм в сроках появления и степени выраженности патологических процессов, что подтверждает представление о системном характере алкогольного повреждения внутренних органов и позволяет рассматривать хроническую алкогольную интоксикацию как модель сочетанной токсической гепаторенальной дисфункции. Практическая значимость полученных результатов состоит в обосновании необходимости комплексной оценки функционального состояния как печени, так и почек при обследовании лиц с хронической алкогольной интоксикацией, а также в определении потенциальных морфологических маркеров ранних стадий алкогольного поражения этих органов.

Выводы

1. Хроническое внутрижелудочное введение этанола в дозе 5 г/кг массы тела вызывает у белых крыс прогрессирующие патогистологические изменения печени, проявляющиеся последовательным развитием жировой дистрофии гепатоцитов, очагового некроза, активации клеток Купфера и портального фиброза, выраженность которых нарастает от 30-х к 90-м суткам эксперимента.

2. Снижение числа двуядерных гепатоцитов на поздних сроках интоксикации свидетельствует об истощении регенераторно-пролиферативного потенциала печёночной паренхимы при длительном воздействии этанола.

3. В почках белых крыс алкогольная интоксикация вызывает нарастающую вакуольную дистрофию и очаговый некроз эпителия проксимальных канальцев, полнокровие сосудов коркового вещества и начальные признаки склерозирования клубочков, наиболее выраженные к 90-м суткам эксперимента.

4. Степень выраженности патогистологических изменений печени и почек находится в прямой зависимости от длительности алкогольной интоксикации, что подтверждается статистически значимым нарастанием морфометрических показателей повреждения в динамике эксперимента.

5. Выявленный параллелизм в сроках и характере поражения печени и почек указывает на системный характер токсического действия этанола и обосновывает целесообразность комплексной морфофункциональной оценки гепаторенальной системы при экспериментальном и клиническом изучении алкогольной болезни.

Использованная литература:

1. Бондарь Т.П., Миссетова Е.Н. Морфофункциональные изменения печени при хронической алкогольной интоксикации в эксперименте // Морфология. – 2019. – Т. 155, № 3. – С. 45–50.
2. Серов В.В., Лапиш К. Морфологическая диагностика заболеваний печени. – М.: Медицина, 2015. – 336 с.
3. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
4. Мухин Н.А., Моисеев В.С. Алкогольная болезнь: поражение внутренних органов при хронической алкогольной интоксикации. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 264 с.
5. Пауков В.С., Ерохин Ю.А. Патологическая анатомия алкоголизма и алкогольной болезни // Архив патологии. – 2018. – Т. 80, № 4. – С. 61–68.
6. Ветшева Н.Н., Быков В.Л. Гистологические изменения почек при экспериментальной алкогольной интоксикации // Морфологические ведомости. – 2020. – Т. 28, № 2. – С. 33–39.
7. Louvet A., Mathurin P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2015; 12(4):231–242.
8. Osna N.A., Donohue T.M., Kharbanda K.K. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Current Management. Alcohol Res. 2017; 38(2):147–161.
9. Latchoumycandane C., Nagy L.E., McIntyre T.M. Chronic ethanol ingestion induces oxidative kidney injury through taurine-inhibitable inflammation. Free Radic Biol Med. 2014; 69:403–416.
10. Gao B., Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. Gastroenterology. 2011; 141(5):1572–1585.
11. Varga Z.V., Matyas C., Paloczi J., Pacher P. Alcohol Misuse and Kidney Injury: Epidemiological Evidence and Potential Mechanisms. Alcohol Res. 2017; 38(2):283–288.
12. Crabb D.W., Im G.Y., Szabo G., Mellinger J.L., Lucey M.R. Diagnosis and Treatment of Alcohol-Associated Liver Diseases: 2019 Practice Guidance. Hepatology. 2020; 71(1):306–333.
13. Rehm J., Samokhvalov A.V., Shield K.D. Global burden of alcoholic liver diseases. J Hepatol. 2013; 59(1):160–168.
14. Sozio M., Crabb D.W. Alcohol and lipid metabolism. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2008; 295(1):E10–E16.
15. Тремасов М.Я., Галяутдинова Г.Г. Патоморфологические критерии оценки токсического повреждения печени и почек в эксперименте // Ветеринарный врач. – 2016. – № 5. – С. 12–17.