

Про вікові гістоморфологічні і гістохімічні особливості репаративної регенерації печінки у білих щурів

Г. О. Родіонов

Лабораторія морфології і цитології Інституту геронтології АМН СРСР, Київ

Вивченню компенсаторних процесів у організмі присвячена дуже велика кількість праць, в тому числі і морфологічних, однак лише в небагатьох з них це питання розглядається у віковому аспекті. Відомо, що спроможність до вікарної гіпертрофії одного з контралатеральних органів, після усунення другого, зменшується з віком і стає мінімальною в старості [17]. В зв'язку з ослабленням у цей період життя проліферативної здатності клітин, регенераційний процес стає більш тривалим, ніж звичайно. Пересувається на більш пізніший строк синтез РНК [1], а також час максимуму мітозів у печінці при її репаративній регенерації у старих тварин [3], а мітотична активність клітин при цьому знижується [4]. Відновлення маси печінки після усунення частини органа у старих щурів відбувається повільніше, ніж у дорослих [13].

Менш досконало виявляється регенерація печінки у старих тварин також в умовах експериментальної патології, наприклад, після отруєння їх чотирихлористим вуглецем [15]. Однак є важливі факти, які свідчать про значні потенціальні можливості тканин, здатних до регенерації у старих організмів, що має принципове значення. Так, залежно від віку тварин клітини печінки в культурі виявляють неоднаковий ріст [12], а експлантати тканини, що регенерує, добуті від молодих і старих щурів, ростуть у культурі однаково швидко [10].

Відомості, які є в літературі щодо вікових особливостей регенерації, нерідко суперечні. Між тим, більш точне і повне з'ясування закономірностей регенерації у тварин різного віку сприяло би створенню передумов до цілеспрямованого, диференційованого у віковому відношенні експериментального впливу на цей процес різними стимуляторами, що в дальшому змогло б дати вихід і в практику геріатрії.

Ми вивчали можливі морфологічні та деякі гістохімічні особливості репаративної регенерації печінки у тварин різного віку. Гістохімічно визначали вміст і розподіл у регенераті нуклеїнових кислот для морфологічної оцінки їх синтезу, глікогену і жирів — для виявлення особливостей обміну вуглеводнів і ліпідів у регенераційному циклі.

Методика досліджень

Основні досліди проведені на 90 білих щурах: дорослих (один рік), старих (2—2,5 роки) і молодих (3,5 місяців). Операція видалення лівої і середньої часток печінки (дві третини маси органа) здійснювалась під загальним ефірним наркозом вранці — до годування тварин. Видалений матеріал фіксували в 12%-ному нейтральному формаліні, а також у сумішах Карнуа і Жандра. Парафінові гістологічні зрізи фарбували гематоксилін-еозином, за ван Гізоном, піроніном У-метиловим зеленим за Курніком, а також карміном Беста. Проводилось також фарбування заморожених зрізів суданом III.

Через чотири доби (на висоті мітотичної активності), два тижні (у строк максимальної вираженості регенераційного процесу) і чотири місяці (у віддалений строк після операції) тварин декапітували і розтинали. Додатково досліджували також процес регенерації через добу після операції. Регенерат зважували, шматочки тканини обробляли так само, як і відправний післяопераційний матеріал. Гістологічні зрізи фарбували за наведеними методиками.

Результати досліджень

Група дорослих тварин (віковий контроль). Через два тижні вага регенерату небагато менша середньої вихідної ваги печінки, а через чотири місяці вона дорівнює їй. Мікроскопічно через чотири доби після операції в регенераті відзначається нерівномірне повнокрів'я, набрякання клітин паренхіми. Спостерігається досить багато клітинних елементів з гіперхромними ядрами. Виявляється помірна проліферація купферівських клітин і епітелію жовчних ходів. В різних ділянках часточки виявлена значна кількість клітин паренхіми з різко базофільною цитоплазмою, головним чином біля прошарок гліссонової капсули.

При фарбуванні за Курніком збільшення РНК відзначається у згаданих базофільних клітинах, які в невеликій кількості трапляються і в нормальній печінці, але при регенерації кількість їх стає більш значною, що дозволяє виявити загальне збільшення вмісту РНК в печінці, що регенерує. Клітини з великим вмістом РНК розташовуються ізольовано, групами, або утворюють безперервний шар, відповідно пограничній пластинці часточки за Еліасом [9]. Клітини з більш високим вмістом РНК трапляються також і на інших ділянках часточок, кількість їх тут теж нерідко зростає. Відзначається також поява багатьох клітин з високим вмістом РНК поряд з грануляційною тканиною біля місця резекції. В даний строк після операції піронінофілія цитоплазми периваскулярних плазматичних і тучних клітин, а також ендотелію вен регенерату виявляється досить значною, як і в контролі. У препаратах, пофарбованих за Бестом, відзначається різке зменшення вмісту глікогену — від незначної кількості його в окремих клітинах паренхіми та їх невеликих групах, до повної відсутності. В контрольних зрізах з післяопераційного матеріалу виявлено багато глікогену, включення його розподіляються в різних клітинах неоднаково, але рівномірно в часточках. При фарбуванні зрізів суданом III в ряді спостережень виявляється ожиріння клітини паренхіми помірного або значного ступеня.

Через два тижні після операційного втручання у деяких тварин в регенераті відзначається помірна дископлексація клітин, нерівномірні величина і забарвлення ядер, проліферація купферівських клітин, епітелію жовчних ходів та клітин сполучної тканини за ходом портальних судин. Іноді трапляються потовщення і розпушення стінок вен середнього калібру.

Кількість РНК в цілому вища за вихідну. Клітини з високим вмістом РНК, в основному, локалізуються по периферії часточок, в ряді випадків їх більше, ніж у чотиридобовому досліді. Багато РНК є також в периваскулярних клітинах сполучної тканини. Вміст глікогену приблизно дорівнює вихідному. Жир в клітинах регенерату, як правило, відсутній, лише іноді він виявляється переважно в клітинах периферії часточок.

Через чотири місяці після операції у дорослих щурів морфологічні зміни мінімальні. Триває виявлення дрібних некрозів, розпушення і потовщення стінок вен гліссонової капсули, а також проліферація купферівських клітин. Вміст РНК в клітинах регенерату, в цілому, такий самий, як і в контролі. Кількість глікогену взагалі також дорівнює вихідній, розподіл його в клітинах часточок рівномірний. Вільний жир

в тканині регенерату звичайно не виявляється. Лише у одного щура відзначені групи клітин з краплями жиру.

Наведені дані про збільшення кількості РНК в процесі регенерації у дорослих тварин збігаються з літературними відомостями [1, 8, 14, 16]. Ряд авторів описує також зниження глікогену в печінці в перші дні регенерації [2, 5, 11].

Група старих тварин. Перебіг регенераційного процесу повільніший, ніж у дорослих тварин. Через два тижні вага регенерату печінки значно менша за вихідну. Через чотири дні після операції мікроскопічно в регенераті виявляється іноді різка дискомплексация клітин паренхіми. Часто трапляються дрібні некрози з крововиливами. Купферівські клітини округлі, іноді помірно проліферують.

Кількість РНК в регенераті дещо зменшена щодо норми, лише іноді в клітинах периферії часток вміст РНК відносно підвищений, ядра вміщують збільшену кількість РНК у всіх тварин (рис. 1). Багато РНК в периваскулярних клітинах та ендотелії вен. Кількість глікогену індивідуально широко варіює — від повної відсутності до середньої кількості, але в цілому — знижена. Жир у клітинах паренхіми не виявляється, або виявляється в невеликій кількості у ряду щурів, більше по периферії часточок.

Через два тижні після операції дискомплексация клітин паренхіми триває, в багатьох ділянках є значна проліферація купферівських клітин і вогнищеві скупчення сполучнотканинних клітин біля судин. Кількість РНК середня, місцями розподіл її в клітинах нерівномірний. Загальний вміст РНК в регенераті дорівнює вихідному або дещо перевищує його — за рахунок великих і яскравих цитоплазматичних включень у клітинах паренхіми по периферії часточок. Глікогену виявляється дещо менше, ніж у контролі, жир у клітинах регенерату відсутній.

Через чотири місяці спостерігається помірна дискомплексация клітин, небагато мікронекрозів, що відзначається також і в контролі з вихідного матеріалу. Вміст РНК варіює у різних тварин — відносно невеликий, або дорівнює вихідному (у більшості). Досить багато РНК в ендотелії вен. Глікогену в клітинах паренхіми стільки ж, як і в контролі (рис. 3). Жир відсутній, або у вигляді слідів.

Група молодих тварин. Перебіг регенерації дуже інтенсивний. Через два тижні вага регенерату така сама, як і вихідна. Гістологічно через чотири доби після операції в тканині регенерату відзначаються нерівномірна гіперемія, помірна дискомплексация клітин і дрібні ділянки некрозів з крововиливами, округлення і помірна проліферація купферівських клітин. Трапляються численні базофільні клітини паренхіми, головним чином на периферії часточок. Вміст РНК значний як по периферії часточок, так і в інших їх ділянках (рис. 2). В цілому РНК більше, ніж у відповідних дослідах на дорослих і старих щурах. Глікогену виявляється менше, ніж у контролі, особливо в ділянках жирової дистрофії, яка виявляється досить постійно.

Через два тижні в регенераті виявляється нерівномірна гіперемія та мікронекрози. Спостерігається значна проліферація купферівських клітин. Багато клітин з високим вмістом РНК, загальна її кількість більша, ніж у старих щурів. Глікогену в цілому також досить багато, за винятком ділянок жирової дистрофії, досить значної по периферії часточок.

Через чотири місяці в регенераті патологічних змін нема. Вміст РНК в клітинах різний, але в цілому дорівнює вихідному. Кількість та розподіл глікогену також не має особливостей щодо контролю (рис. 4). Жир в клітинах регенерату відсутній.

Окремо слід відзначити розподіл у тканині, що регенерує, ДНК. Літературні дані з цього питання різні. Одні автори твердять про стабільність ДНК в органі, що регенерує [8, 14, 16], інші виявляють значне



Рис. 1. Регенерат печінки старого щура через чотири доби після операції. Відносно невеликий вміст РНК у клітинах паренхіми, лише на периферії часточки її багато.

Піронін Y-метилловий зелений, $\times 600$.

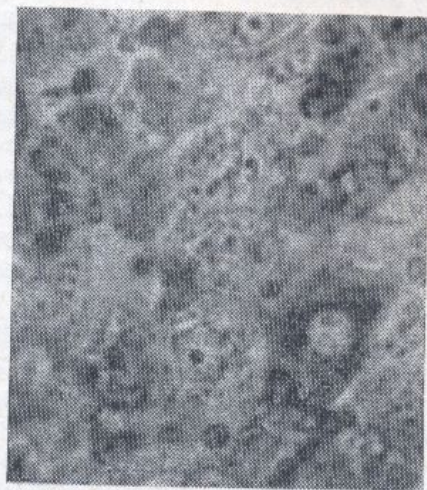


Рис. 2. Регенерат печінки молодого щура через чотири доби після операції. У багатьох клітинах паренхіми є значна кількість РНК. Піронін Y-метилловий зелений, $\times 600$.

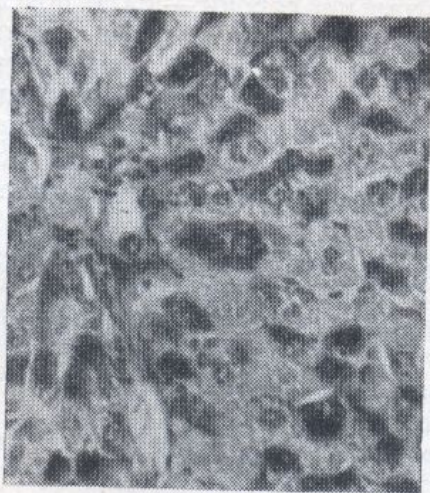


Рис. 3. Регенерат печінки старого щура через чотири місяці після операції. Звичайний вміст глікогену в клітинах паренхіми.

Кармін Беста, $\times 150$.

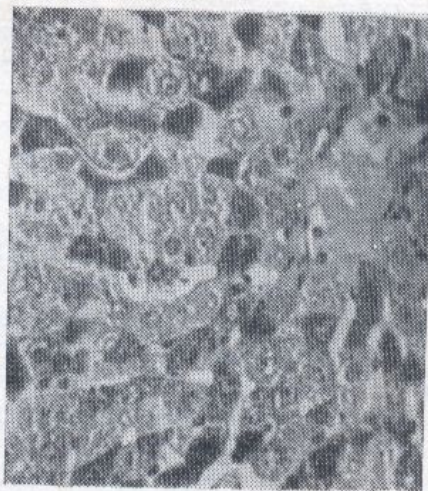


Рис. 4. Регенерат печінки молодого щура через чотири місяці після операції. Звичайний вміст глікогену в клітинах паренхіми.

Кармін Беста, $\times 150$.

збільшення її [7], а деякі вказують на зменшення вмісту ДНК в перші дні регенерації [2], що пов'язують з розпадом ядер. В наших спостереженнях досить чітких особливостей щодо інтермітотичних ядер регенерату печінки не виявлено, однак, незалежно від умов досліджу, відзначено збільшення вмісту ДНК в поліплоїдних ядрах паренхіми та хромосомах клітин, що діляться мітозом.

Обговорення результатів досліджень

Репаративна регенерація печінки у тварин різного віку характеризується рядом загальних рис, але має і деякі особливості. В цілому відновлення первинного об'єму органа у старих щурів відбувається повільніше, ніж у дорослих, на початку регенерації дистрофічний компонент у тканині у них більш виразний і спостерігається протягом більш тривалого строку. Відзначено, що на другий день після резекції печінки, очевидно, в зв'язку з операційною травмою, у ряду щурів різного віку відзначається зниження рівня синтезу РНК, судячи із зменшення вмісту її в більшості клітин паренхіми. Це, однак, відноситься лише до РНК цитоплазми. РНК в ядерцях, які швидко зазнають гіпертрофії, не тільки не зменшується кількісно, але їх піронінофілія в цих випадках виявляється більш різкою, ніж звичайно. Очевидно РНК ядерця є більш стабільною, становить наче резерв, який швидко поновлюється, для утворення і накопичення цитоплазматичної РНК. Це повністю узгоджується з концепцією про ядерцеве походження РНК цитоплазми [6].

Підвищений синтез РНК в регенераті печінки у молодих і ряду дорослих тварин спостерігається протягом більш тривалого часу, ніж у старих. Порівняно більший ступінь накопичення РНК у старих щурів через два тижні (максимум визначення) пояснюється можливо тим, що у них відносно більше, ніж у молодих тварин тривають деструктивні зміни печінки, пов'язані з операційною травмою. Кількість ДНК в печінці, що регенерує, в цілому збільшується за рахунок загальної кількості її в клітинах, які мітотично поділяються, і поліплоїдних, кількість яких у цілому досить значна, особливо у молодих щурів. Очевидно ослабленням синтезу глікогену, зокрема в найближчий час після операції, і підвищенням енергетичних витрат у дальші строки, — слід пояснити різке зниження кількості його в клітинах паренхіми. Незначне початкове зменшення кількості глікогену в регенеруючій тканині у ряду старих тварин, видимо, зумовлюється зниженою інтенсивністю його розпаду, що пов'язано з особливостями цього віку. Поява і накопичення в регенераті нейтрального жиру в перші дні регенерації являє собою дистрофічний процес, зумовлений роз'єднанням білково-ліпідних комплексів.

Висновки

1. Перебіг репаративної регенерації печінки у старих щурів повільніший, ніж у дорослих і, особливо, у молодих тварин. Деструктивний компонент у клітинах основної тканини органа у старих щурів виражений більш різко і зберігається довше.

2. Регенераційний процес супроводжується кількісними змінами цитоплазматичної РНК, що індивідуально варіює і залежить від віку тварин і строку досліду.

3. У старих щурів, відразу після видалення частини печінки, настає зниження вмісту РНК у клітинах паренхіми регенерату, яке в дальшому змінюється збільшенням. У молодих тварин збільшення кількості РНК цитоплазми спостерігається в більш ранні строки, і це різко виражено.

4. Клітини паренхіми регенерату зі збільшеною кількістю РНК розподіляються головним чином по периферії часточок, але трапляються часто в значній кількості і на інших ділянках — окремо, або групами.

5. Кількість ДНК збільшується в клітинах, що мітотично діляться, та поліплоїдних ядрах регенерату, незалежно від віку тварин. Оскільки поліплоїдних ядер і фігур мітозу в регенераті багато, особливо в перші

два тижні після операції, слід вважати, що збільшується і загальний вміст ДНК в регенеруючій тканині печінки.

6. Вміст глікогену в регенераті печінки в перші дні регенерації знижується. У старих тварин відновлення його вихідної кількості відбувається повільніше, ніж у молодих і дорослих.

7. Жирова дистрофія клітин паренхіми печінки, яка розвивається в ранні строки її регенерації, більш виражена у молодих тварин; через тривалий час (чотири місяці) після резекції печінки вона відсутня у молодих, але іноді нечітко виявляється у дорослих і старих щурів.

Література

1. Гребенникова Н. П. и Новикова Н. М.—Труды Ин-та биологии Харьк. ун-та, 1960, 29, 149.
2. Григорьев Н. И.—Архив анат. гистол. и эмбриол., 1962, 8, 77.
3. Подвысоцкий В. В.—Возрождение печеночной ткани у млекопитающих животных. К., 1886.
4. Сидорова В. Ф.—Бюлл. exper. биол. и мед., 1964, LVII, 1, III.
5. Солопаев Б. П.—Пробл. регенерации и клеточного деления, М., 1959, 68.
6. Caspersson T., Thorell B.—Chromosoma, 1941, 2, 2, 132.
7. Cater D., Holmer B., Mee L.—(цит. за А. Фишером — Физиол. и exper. патол. печени, Будапешт, 1961) Biochem. J., 1957, 66, 482.
8. Drabkin D.—J. Biol. Chem., 1947, 171, 1, 395.
9. Elias H.—Amer. J. Anat., 1949, 84, 311; 85, 379.
10. Glinos A., Bartlett E.—Cancer Res., 1951, 11, 3, 164.
11. Gurd F., Vars H., Ravdin L.—(цит. за А. Фишером) Amer. J. Physiol., 1948, 152, 11.
12. Nordmann M.—(цит. за Г. П. Литовченко — Материалы к возрастной физиологии, К., 1938).
13. Norris J., Blanchard J., Polovny C.—Arch. Path., 1942, 34, 208.
14. Novikoff A., Potter V.—J. Biol. Chem., 1948, 173, 1, 223.
15. Post J., Klein A., Hoffman J.—Arch. Path., 1960, 70, 3, 314.
16. Stowell R.—Arch. Path., 1948, 46, 2, 164.
17. Verzar F.—Internat. Ass. of Gerontol. third Congress, Symposia a. Abstracts. 1954, 263.

Надійшла до редакції
25.III 1966 р.

О возрастных гистоморфологических и гистохимических особенностях репаративной регенерации печени у белых крыс

Г. А. Родионов

Лаборатория морфологии и цитологии Института геронтологии АМН СССР, Киев

Резюме

Выяснение возрастных закономерностей регенерации у животных имеет теоретическое значение, а также способствует предпосылкам для целенаправленного и дифференцированного экспериментального воздействия на этот процесс.

Мы изучали возможные морфологические особенности репаративной регенерации печени у белых крыс различного возраста после удаления двух третей массы органа. Основные сроки наблюдения — четверо суток, две недели и четыре месяца после операции. Кроме патогистологического исследования определялось содержание и распределение в регенерате нуклеиновых кислот, гликогена и жира.

Установлено, что регенерация печени у старых животных протекает медленнее, чем у взрослых и молодых. У старых крыс деструктивный компонент в паренхиме регенерата выражен резче и сохраняется дольше. Вскоре после операции у них наблюдается снижение содержания РНК в клетках паренхимы, которое в дальнейшем сменяется

увеличением. У молодых крыс накопление в регенерате РНК более выражено и отмечается в более ранние сроки. Содержание ДНК в регенерате печени увеличивается у всех животных, особенно в первые две недели, за счет увеличения общего количества митотически делящихся клеток и полиплоидных ядер.

Количество гликогена в начале регенерации снижается, у старых крыс восстановление его исходного содержания происходит медленнее, чем у молодых и взрослых животных. Жировая инфильтрация печени в ранние сроки регенерации больше выражена у молодых крыс.

On the Age Histomorphological and Histochemical Peculiarities of Reparative Regeneration of the Liver in the Albino Rats

G. A. Rodionov

*Laboratory of morphology and cytology of the Institute of Gerontology,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Kiev*

Summary

The regeneration of the liver was studied after ablation of 2/3 of the organ mass in the albino rats of various age. The observation term are the following: 4 days, 2 weeks and 4 months after operation.

It is established that the regeneration proceeds slower in the old animals than in the adult and young ones. A destructive component in the regenerate parenchyma is sharply pronounced in the old rats and preserved for more long time. Soon after operation a decrease of RNA is observed that is changed then by an increase. In young rats the accumulation of RNA in the regenerate is expressed more strongly and noted at more early terms. The DNA content is increased in all the animals during the first fortnight for the account of the dividing cell and polyploid nuclei.

The glycogen quantity decreases at the beginning of the regeneration; the reduction of its initial content is delayed in the old rats. The fat infiltration of the liver is sharply pronounced in the young rats at the early terms.