

и вертикальная анизоморфность, характеризующие большинство эпителиев кожного типа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Данилов Р. К., Одинцова И. А. Гистогенетический анализ как основа для понимания механизмов реактивности, регенерации и патологии органов и систем // Вопросы морфологии XXI века. Вып. 5. — СПб.: Издательство ДЕАН, 2018. — С. 37–39.
2. Хлопин Н. Г. Общебиологические экспериментальные основы гистологии. — Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1946. — 491 с.
3. Kruepunga N., Hikspoors J. P. J. M., Mekonen H. K., Mommen G. M. C., Meemot K., Weerachayanukul W., Asuvapongpatana S., Kohler S. E., Lamers W. H. The development of the cloaca in the human embryo. *Journal of Anatomy*. 2018; 233(6):724–739.
4. Одинцова И. А., Данилов Р. К., Хилова Ю. К. и др. Методологические аспекты изучения эмбрионального гистогенеза // Вестник Российской Военно-медицинской академии. 2017. № 3(59). Прил. 2. С. 125–126.
5. Блюмберг А. Ж. Экспериментально-гистологическое исследование эпителиев кожного и кишечного типов в смежном участке: дисс. канд. мед. наук: 14.00.23 / Блюмберг Анатолий Жанович. — Л., 1949. — 200 с.
6. Одинцова И. А., Комарова А. С., Слуцкая Д. Р. Гистологическое строение эпителиа переходной области прямой кишки // Морфология в теории и практике: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посв. 95-летию со дня рождения д-ра мед. наук, проф. Д. С. Гордон, Чебоксары, 22 ноября 2017 г. Вып. 3. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 2017. — С. 198–201.
7. Комарова А. С. Формирование гетерогенности эпителиальной выстилки каудального отдела кишечной трубки позвоночных животных в эмбриогенезе // Цитология. 2022. Т. 64. № 3. С. 284.

УДК 616.36-003.93

Корчагина В. А., Миргородская О. Е.

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЗВЕЗДЧАТЫХ МАКРОФАГОВ ПЕЧЕНИ И КЛЕТОК ИТО ПРИ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

*Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова, Санкт-Петербург,
Российская Федерация*

Аннотация. Цель работы — изучение морфологического строения и локализации звездчатых макрофагов печени и клеток Ито в норме и на 9-е сутки при однократном воздействии рентгеновского облучения различными дозами (6,5; 7 и 7,8 Гр).

Методика работы заключается в анализе реактивных изменений синусоидных клеток печени после радиационного воздействия и сравнения полученных данных с нормой и при различных неблагоприятных воздействиях.

Основные результаты работы показали, что наибольшее количество звездчатых макрофагов и клеток Ито наблюдали на 9-е сутки после воздействия с поглощенной дозой 7 Гр. Выявлено расширение синусоидных капилляров; реактивные изменения гепатоцитов (кариорексис, везикулизация цитоплазмы); увеличение количества липидных включений в клетках Ито; активация пенистых и звездчатых макрофагов печени. Стоит отметить, что на 9-е сутки после облучения дозой 7,8 Гр макрофаги принимают более вытянутую форму. Изучение морфологических изменений различных клеточных дифферонов печени в том числе необходимо для определения пика активности макрофагов (локального иммунного ответа) и предотвращения развития фиброза, на процесс формирования которого они оказывают непосредственное воздействие.

Ключевые слова: звездчатый макрофаг, печень, клетка Ито, радиация.

Korchagina V. A., Mirgorodskaya O. E.

REACTIVE CHANGES IN STELLATE MACROPHAGES OF THE LIVER AND ITO CELLS UNDER RADIATION EXPOSURE

S. M. Kirov Military medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the work is to study the morphological structure and localization of stellate macrophages of the liver and Ito cells in normal and under the influence of X-ray irradiation with doses of 6.5, 7 and 7.8 Gy on day 9.

The method of the work consists in the analysis of reactive changes in sinusoidal liver cells after radiation exposure and comparison of the data obtained with the norm.

The main results of the work showed that the largest number of stellate macrophages and Ito cells was observed on day 9 after the absorbed dose of 7 Gy. Expansion of sinusoidal capillaries was revealed; reactive changes in hepatocytes (karyorexis, cytoplasm vesiculation); an increase in the number of lipid inclusions in Ito cells; activation of foamy and stellate macrophages of the liver. It is worth noting that on the 9th day after irradiation with a dose of 7.8 Gy, macrophages take a more elongated shape. The study of morphological changes in the liver is necessary to determine the peak of macrophage activity (local immune response) and prevent the development of fibrosis.

Keywords: : stellate liver macrophage, Ito cell, radiation.

ВВЕДЕНИЕ

Печень является самой крупной железой в организме человека и выполняет множество функций: образование желчи, участие в обмене белков, жиров и углеводов, синтез гликогена, холестерина, а также билирубина, выполняет роль депо крови [1]. Одной из наиболее важных функций печени считается дезинтоксикация веществ, поступающих в организм. Обезвреживание и фагоцитоз инородных объектов обеспечивается звездчатыми макрофагами (клетками Купфера), а синтез липидов и продукция коллагена — жиронакапливающими клетками (клетками Ито) [1].

Впервые звездчатые макрофаги были описаны Карлом Вильгельмом фон Купфером в 1876 году. Ученый назвал их Sternzellen (звездчатые клетки печени) и считал, что они являются частью эндотелия кровеносных сосудов печени, точнее синусоидных капилляров [2], ошибочно посчитав их фрагментами эритроцитов, захваченных путем фагоцитоза. В 1898 году К. Купфер пересмотрел свои представления о «звездчатых клетках» как об отдельном типе клеток и отнес их в разряд фагоцитов [3]. Тадеуш Брович определил эти клетки как макрофаги [4]. Долгое время клетки Ито относили к клеткам Купфера, и лишь в 1951 году японский ученый Тосио Ито, обнаружив в них капли жира, обозначил их вначале жиропоглощающими (shibo-sesshusaibo), а затем, установив, что жир вырабатывался самими клетками из гликогена, — жирозапасающими клетками (shibo-chozosaibo) [5].

В большинстве научных работ, посвященных морфологическим исследованиям реактивных изменений клеток печени, основное внимание уделяется ведущему клеточному дифферону — гепатоцитам. Звездчатые макрофаги в основном рассматриваются со стороны своих функциональных особенностей, так как выполняют важную роль в интоксикационных процессах печени, а также жиронакапливающим клеткам как принимающим участие в склерозировании сосудов при циррозах и гепатитах. Исследование строения и функций звездчатых макрофагов (клеток Купфера) и липоцитов (клеток Ито) дает возможность прогнозировать развитие патологических изменений печени при неблагоприятных воздействиях, в том числе и радиационном.

Цель исследования: дать морфометрическую оценку клеточно-дифферонному составу долек печени, провести сравнительный анализ морфологического строения звездчатых макрофагов и клеток Ито интактных животных и на 9-е сутки после воздействия рентгеновского облучения с различными поглощенными дозами (6,5; 7 и 7,8 Гр).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С помощью рентгенотерапевтической установки РУМ-17 у экспериментальных групп беспородных мышей-самцов ($n = 40$) моделировали острую лучевую болезнь. Параметры облучения: направление — спина — грудь на расстоянии 50 см. Поглощенная доза в эксперименте составляла 6,5, 7 и 7,8 Гр. Для морфологического анализа фрагменты печени фиксировали и обрабатывали по стандартной методике для трансмиссионной электронной микроскопии на 9-е сутки после однократного рентгеновского облучения. Полутонкие срезы толщиной 1 мкм изготавливали на приборе Ultramicrotome РТ-РС (RMC Voeckeler, США) и окрашивали 1%-ным толудиновым синим. Морфометрический анализ и фотографирование срезов осуществляли с помощью светового микроскопа Score A1c камерой Аxiocam Hrc 5s и использованием морфометрической лицензионной программы ZEN 2.3. Также в работе были использованы срезы печени, окрашенные гематоксилином и эозином, из гистологического архива кафедры гистологии с курсом эмбриологии Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В состав гистиона печени входят различные клеточные диффероны и кровеносные капилляры синусоидного типа. Морфологическое строение структур синусоидного и пресинусоидного пространств активно изучали Т. Ито [6],

Д. Н. Маянский [7], М. В. Горецкая [8], В. К. Верин [1], А. И. Щеголев [9] и др. Гепатоциты являются ведущим клеточным диффероном эпителия печени. Помимо них в пресинусоидном соединительнотканном пространстве находятся представители других клеточных дифферонов: жиронакапливающие клетки (клетки Ито), рit-клетки, миофибробласты (появляются только на ранних стадиях повреждения печени), фибробластоподобные и фиброкластоподобные клетки, между эндотелиоцитами и пространством Диссе встраиваются звездчатые клетки (клетки Купфера).

Клетки Ито чаще всего обладают веретеновидной или звездчатой формой. Некоторые исследователи считают, что липоцит является предшественником фибробласта и имеет мезенхимальное происхождение [10]. Клетки Ито дают начало образованию коллагеновых волокон в пресинусоидном пространстве, таким образом они участвуют в образовании соединительной ткани при повреждении печени [8]. Одной из важнейших функций клетки Ито является накопление ретиноидов, которые затем образуют витамин А [11].

Звездчатый макрофаг (клетка Купфера) находится в синусоидном пространстве, его отростки могут проникать в перисинусоидное пространство (пространство Диссе). Звездчатый макрофаг развивается из стволовой клетки крови, согласно унитарной теории кроветворения А. А. Максимова; является тканевым макрофагом, так как происходит из эритромиелоидных предшественников желточного мешка и эмбриональной печени и заселяет ткани на различных этапах эмбриогенеза [12, 13]. В отличие от макрофагов моноцитарного происхождения, клетки Купфера имеют пролиферативный потенциал, что позволяет им восстанавливаться [14].

Звездчатые макрофаги в основном располагаются около «портальных трактов», но возможно их перемещение, они погружены в эндотелиальную выстилку синусоидных капилляров, располагаясь в ней между эндотелиоцитами. Такая локализация позволяет закрыть поры в базальной мембране и обеспечить целостность эндотелия незамкнутого капилляра [15]. Помимо функций печеночных макрофагов, связанных с фагоцитарной активностью, они активно участвуют в поддержании структурного постоянства органа, оказывая «рострегулирующее» влияние на гепатоциты [7] и осуществляют синтез цитотоксических факторов: интерлейкина-1 и интерлейкина-6 [16].

На 9-е сутки после поглощенной дозы 6,5 Гр отмечено расширение просвета синусоидных капилляров, что, вероятно, связано с нарушением работы микроциркуляторного русла. Происходит накопление в жировых включениях гепатоцитов и клеток Ито (*рис. 1*). В гепатоцитах встречается кариорексис, в области ядер наблюдается от 3 до 6 глыбок. Большинство макрофагов локализируются у центральной вены, среди них встречаются пенистые, но преобладают звездчатые макрофаги. Общее процентное соотношение макрофагов и липоцитов на 200 клеток печени составляет 15% и 5% соответственно.

На 9-е сутки при поглощенной дозе 7 Гр наблюдается наибольшее количество звездчатых макрофагов и клеток Ито (*рис. 2*), что говорит об их высокой активности. Макрофаги распространяются по всем синусоидным капиллярам диффузно (нет определенного места локализации). Часто встречаются двуядерные гепатоциты. Выявлена выраженная везикулизация цитоплазмы гепатоцитов. Клетки Ито имеют вытянутую форму ядра и латерально смещенную липидную каплю в

цитоплазме. Общее процентное соотношение макрофагов и липоцитов составляет 22% и 8% соответственно.

После поглощенной дозы 7,8 Гр, которая является летальной для мышей, наблюдается увеличение площади гепатоцитов. В них отчетливо видны многочисленные вакуоли. Макрофаги принимают более вытянутую форму, ядро окрашено интенсивнее, чем у гепатоцитов, содержит по 2–3 ядрышка. Синусоидные капилляры в некоторых местах расширены. Клетки Ито в большинстве случаев накапливают липидные капли с одной стороны цитоплазмы (по отношению к ядру). Процентное соотношение макрофагов и липоцитов составляет 21% и 7% соответственно.

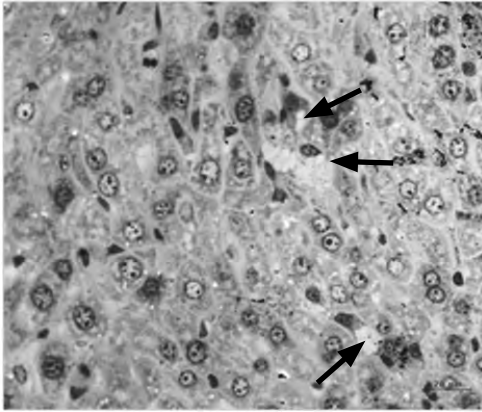


Рис. 1. Печень мыши. 9-е сутки, 6,5 Гр. Накопление липидных включений (отмечено стрелкой). Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим

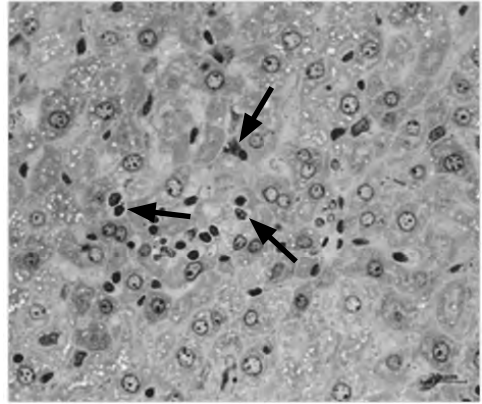


Рис. 2. Печень мыши. 9-е сутки, 7 Гр. Полутонкий срез. Макрофаги (отмечены стрелкой). Окраска толуидиновым синим

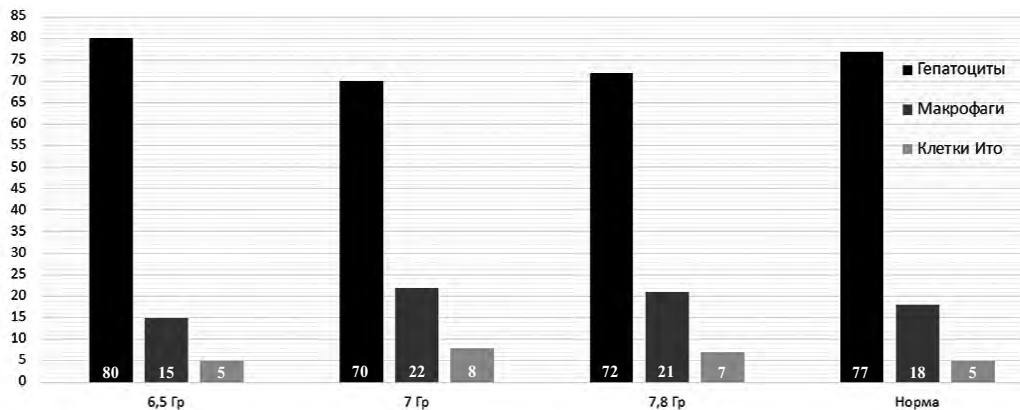


Рис. 3. Процентное соотношение клеток печени в норме и при различных поглощенных дозах радиации на 9-е сутки

Увеличение размеров макрофагов, выраженная вакуолизация цитоплазмы и ядро с преобладанием эухроматина и инвагинаций также характерны при заболевании ко-инфекцией ВИЧ/ВГС [17], при отравлении спиртовым

раствором полигексаметиленгуанидина гидрохлорида [18], при острой фазе описторхоза [19], при перитоните [20] и на ранних сроках заживления раны [21]. Наряду с клетками в состоянии высокой функциональной активности встречались и клетки с деструктивно измененными органеллами и участками лизиса цитолеммы. При липидозах и артериальной гипотензии в цитоплазме макрофагов отмечали, помимо вакуолизации, плотные по своей структуре включения, обильное отложение гранул и фибрилл в цитоплазматическом матриксе [7]. При стрессе увеличивается количество макрофагов [22]. При введении наночастиц усиливается фагоцитарная активность макрофагов печени [23]. Таким образом, описанные морфологические изменения клеточных дифферонов печени носят неспецифический характер, но изменение количества макрофагов после радиационного воздействия зависит от поглощенной дозы в эксперименте (рис. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследовано строение печени мыши в норме и реактивные изменения клеток синусоидных капилляров при различных поглощенных дозах радиации через 9 суток после воздействия. Результаты исследования на светооптическом уровне показали, что выраженные реактивные изменения в клетках печени происходят уже при поглощенной дозе 6,5 Гр и приводят к нарушению работы сосудов и капилляров микроциркуляторного русла, накоплению липидов. Максимальное количество звездчатых макрофагов и клеток Ито было выявлено при поглощенной дозе 7 Гр, которая считается сублетальной для мышей. Также были замечены следующие изменения: везикулизация цитоплазмы гепатоцитов, увеличение липидных включений в клетках Ито и образование групп по 2–3 липоцита в различных участках дольки печени. Количественное соотношение клеточных дифферонов печени является дозозависимым.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Верин В. К.* Печень. Руководство по частной гистологии / Под ред. Р. К. Данилова. 2-е изд., испр. и доп. — СПб.: СпецЛит, 2011. — Т. 2. — С. 167–180.
2. *Kupffer von C.* Über Sternzellen der Leber. Arch Mikroskop Anat. 1876; 12 (2):353–358.
3. *Wake K.* Karl Wilhelm Kupffer and his contributions to modern hepatology. Comp. Hepatol. 2004; 3:2–22.
4. *Sródka A., Gryglewski R. W., Szczepański W.* Browicz or Kupffer cells? Pol. J. Phatol. 2006; 57(4):183–185.
5. *Suematsu M.* Professor Toshio Ito: a clairvoyant in pericyte biology. Keio J. Med. 2000; 50:66–71.
6. *Ito T., Nemoto M.* Über die Kupfferschen Sternzellen und die «Fettspeicherungsellen» («fat storing cells»). Blutkapillarenwand der menschlichen Leber., Okajimas Folia Anatomica Japonica. 1952; 24(4):243–258.
7. *Маянский Д. Н.* Клетка Купфера и система мононуклеарных фагоцитов. — Новосибирск: Наука, 1981. — С. 35–121.
8. *Горецкая М. В.* Роль нейтрофилов, лимфоцитов, клеток Ито, купферовских, дендритных и синусоидальных эндотелиальных клеток в печени // Журнал

- Гродненского государственного медицинского университета. — 2008. — № 1(21). — С. 28–34.
9. *Щеголев А. И.* Эндотелиальные клетки печени в норме и при развитии гепатоцеллюлярной карциномы // Успехи современной биологии. — 2020. — № 140(5). — С. 478–493.
 10. *Людуп А. В.* Стволовые/прогениторные клетки печени и костного мозга как регуляторы восстановительной регенерации поврежденной печени // Вестник трансплатологии и искусственных органов. — 2010. — Т. XII (2). — С. 100–107.
 11. *Senoo H., Yoshikawa K.* Hepatic stellate cell (vitamin A-storing cell) and its relative--past, present and future. *Cell Biol Int.* 2010; 34(12):1247–1272.
 12. *Oishi Y., Manabe I.* Macrophages in inflammation, repair and regeneration. *International Immunology.* 2018; 30(11):511–528.
 13. *Yunna C., Mengru H., Lei W., Weidong C.* Macrophage M1/M2 polarization. *Eur J Pharmacol.* 2020; 15:877:173090. Doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173090
 14. *Basit H., Tan M. L., Webster D. R.* Histology. Kupffer Cell / StartPearlsPublishing, 2023. PMID: 29630278
 15. *Motta P.* A scanning electron microscopic study of the rat liver sinusoid: endothelial and Kupffer cells. *Cell Tissue Res.* 1975; 164(3):371–385.
 16. *Feder L. S., Todaro J. A., Laskin D. L.* Characterization of interleukin-1 and interleukin-6 production by hepatic endothelial cells and macrophages. *Journal of Leukocyte Biology.* 1993; 53(2):126–132.
 17. *Матиевская Н. В., Цыркунов В. М., Андреев В. П., Кравчук Р. И.* Структура клеток Купфера у пациентов с ко-инфекцией ВИЧ/ВГС // Вопросы экспериментальной и клинической физиологии: Сб. науч. трудов, посв. 100-летию со дня рождения Н. И. Аринчина. — Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2014. — С. 211–214.
 18. *Фрисс С. А., Карауловский А. Н., Косарев Д. Н.* Электронномикроскопическое исследование клеток Купфера при отравлении спиртовым раствором полигексаметиленгуанидина гидрохлорида // Проблемы экспертизы в медицине. — 2010. — Т. 10(1-2)(37-38). — С.18–20.
 19. *Сидельникова А. А.* Структурные изменения гепатоцитов и клеток Купфера, провоцируемые острой фазой описторхоза // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. — 2018. — Т. 234(2). — С.185–189.
 20. *Аирафов Р. А.* Динамика ультраструктурной организации клеток печени при экспериментальном перитоните // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2013. — Т. 12. — С. 75–78.
 21. *Миргородская О. Е.* Гетероморфия макрофагов на ранних этапах регенерационного гистогенеза // Вопросы морфологии XXI века. Вып. 6. — СПб.: Издательство ДЕАН, 2021. — С. 120–124.
 22. *Шкурупий В. А.* Ультраструктура клеток печени при стрессе. Наука, Сибирское отделение, 1989. — С. 42–45.
 23. *Мильто И. В., Суходоло И. В., Миллер А. А.* Электронно-микроскопическое исследование печени крыс после внутривенного введения суспензии наноразмерного магнетита // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2012. — Т. 153(4). — С. 510–513.