

СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ У ЩУРІВ ІЗ ХРОНІЧНОЮ ФТОРИДНОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ

Коник У. В.¹, Козак Л. П.²

¹ Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна

² Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
м. Львів, Україна

Анотація. За умов 30-ти денного введення натрію фториду було проведено дослідження ультраструктурної організації гепатоцитів та синусоїдних гемокапілярів тканин печінки, оскільки відомо, що морфологічний статус відповідних тканин може бути критерієм адекватної структурно-метаболічної основи для перебігу компенсаторно-приспосувальних реакцій при дії різних екстремальних чинників. Вибір тканин печінки мотивувався її виключною роллю у забезпеченні регуляторних, стосовно основних обмінних перетворень, функцій та детоксикаційних властивостей на рівні цілого організму. Виявлено, що унаслідок фтористої інтоксикації ультраструктура гепатоцитів та синусоїдних гемокапілярів тканин печінки, змінена. Зафіксована значна електронна щільність гепатоцитів, що вміщують велику кількість пероксисом, аутофаголізосом, вакуолей, мікроміхуриців, ліпопротеїнові краплі великих розмірів. У деяких з цих клітин міститься по два ядра, які заповнені дезорганізованим еухроматином та ядерцями значних розмірів. Жовчні капіляри в окремих випадках є дещо збільшеними та в своїх просвітах вміщують електроннощільні маси. Одночасно зафіксовано утворення в просвіті гемокапілярів гіперагрегатів еритроцитів, преципітатів і коагулятів. Такі особливості у крові гемокапілярів можуть бути відображенням змін у коагуляційно-фібринолітичній системі з переважанням процесів коагуляції при сповільненні обмінного кровотоку, спричиненого фтористою інтоксикацією. Виявлені морфологічні зміни можуть вказувати на неспецифічне порушення постачання кисню до клітин за умов екстремальних впливів. Дезорганізація цитоплазми і ядра та накопичення ліпідних крапель, гранул глікогену може бути результатом мобілізації ліпідних субстратів та пригнічення інсулінзалежних процесів. Підсумовуючи отримані результати можна зробити висновок, що наші результати біохімічних досліджень, опубліковані раніше, відповідають ультраструктурним характеристикам гепатоцитів та синусоїдних гемокапілярів тканини печінки, які вказують на морфологічні зміни задіяних у систему киснезалежних реакцій органел цих тканин, порушення регенераторних та мікроциркуляторних процесів у них.

Ключові слова: хронічна фторидна інтоксикація, печінка, ультраструктура.

Вступ. Відомо, що хронічна фториста інтоксикація спостерігається як у людей, які тривалий час працювали на промислових підприємствах, так і в населення, яке мешкає в екологічно забруднених регіонах [1, 2, 4]. Біологічна дія фтору, його міграція в біосфері визначається будовою атома і його хімічними властивостями. Висока реакційна здатність пояснює його виняткову біологічну активність. У цілому вважається, що вплив фторид-іону спрямований на метаболічні процеси, які виражаються функціональними та структурними порушеннями, а саме істотно знижують синтез білка. Здатність іону фтору утворювати водневі зв'язки з лужними ділянками залишків амінокислот у білках та азотистих основах нуклеїнових кислот змінює просторову структуру цих біомолекул. На основі цього зроблено висновок, що однією з причин цитотоксичної дії фтору є уповільнення синтезу білка [2].

Метою дослідження було електронно-мікроскопічне дослідження тканин печінки при хронічній фторидній інтоксикації.

Матеріали та методи досліджень. Для вирішення поставленої мети та завдань дослідження були проведенні на білих щурах-самцях масою 0,18–0,22 кг. Тварини утримувалися за стандартних умов віварію, на звичайному харчовому та світловому режимах. Хронічну фтористу інтоксикацію викликали шляхом щоденного перорального введення натрію фториду у дозі 10 мг на 1 кг маси впродовж 30 днів. У дослідях натрію фторид вводився тваринам у вигляді водного розчину перорально через медичний шприц із спеціально виготовленою насадкою, притуплений кінець якої попереджував травмування ротової порожнини. Для виключення стресового впливу контрольним тваринам замість натрію фториду аналогічним способом вводили фізіологічний розчин у тих самих об'ємах. Враховуючи дані літератури щодо термінів явного вираження симптомів хронічної фтористої інтоксикації після початку затруювання і керуючись власними спостереженнями (фіксувався виражений флюороз зубів), забій щурів шляхом декапітації проводили на 31–34 добу від початку експерименту. Матеріалом досліджень була печінка. Зрізи контрастували спочатку в 2%-ному розчині ураніацетату [3], а після цього – у розчині цитрату свинцю [5]. Вивчення і фотографування матеріалу проводили за допомогою мікроскопу УЕМВ-100К при прискорюючій напрузі 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопу $\times 2000$ – $\times 124000$.

Досліди проводили відповідно до Директиви 2010/63/EU Європейського парламенту про захист тварин, що використовуються для наукових цілей (22.09.2010), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (редакція від 13.02.20). Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням критерію t Стюдента.

Результати та їх обговорення. За умов 30-ти денного введення натрію фториду було проведено дослідження ультраструктурної організації гепатоцитів та синусоїдних гемокапілярів тканин печінки, оскільки відомо, що морфологічний статус відповідних тканин може бути критерієм адекватної структурно-метаболічної основи для перебігу компенсаторно-приспосувальних реакцій при дії різних екстремальних чинників. Вибір тканин печінки мотивувався її виключною роллю у забезпеченні регуляторних, стосовно основних обмінних перетворень, функцій та детоксикаційних властивостей на рівні цілого організму. Ультраструктура гепатоцитів та синусоїдних гемокапілярів в умовах фтористої інтоксикації, як видно з рис. 1, змінена. Зафіксована значна електронна щільність гепатоцитів, що вміщують велику кількість пероксисом, аутофаголізосом, вакуолей, мікроміхурців, ліпопротеїнові краплі великих розмірів (рис. 1, а).

У деяких з цих клітин міститься по два ядра, які заповнені дезорганізованим еухроматином та ядерцями значних розмірів. Жовчні капіляри в окремих випадках є дещо збільшеними та в своїх просвітах вміщують електроннощільні маси. Спостерігається також ущільнення міжклітинних контактів у ділянках прямої бокової плазматичної мембрани сусідніх гепатоцитів. Відмічено розширення міжклітинних просторів у окремих ділянках парацелюлярної плазматичної мембрани гепатоцитів. На фоні розширення простору Діссе відстежено звуження просвіту синусоїдних

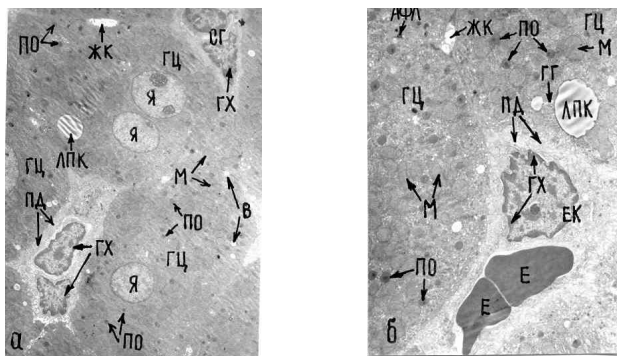


Рис. 1. Ультраструктура тканин печінки щурів, яким перорально вводили натрію фторид упродовж 30 днів:

- а) просвіти синусоїдних гемокапілярів звужені, а гепатоцити мають підвищену електронну щільність. Зб. $\times 1000$; б) гіпертрофовані канали ендоплазматичного ретикулуму, мікроміхурці та ліпопротеїнові краплі в цитоплазмі гепатоцитів. Просвіт гемокапіляра, заповнений гіперагрегатом еритроцитів. Зб. $\times 1500$

гемокапілярів за рахунок заповнення їх форменими елементами та лапатими масами плазми крові. Електронна щільність цитоплазми ендотеліальних клітин незначна, водночас їх ядра є електроннощільними і насичені гетерохроматином. Цитоплазма гепатоцитів, що прилягає до синусоїдального полюса, має незначну електронну щільність та пронизана значною кількістю дещо розширених каналів агранулярного ендоплазматичного ретикулу. Ці ділянки цитоплазми також вміщують в значних кількостях мітохондрії з розпушеними кристами, дезорганізовані пероксисоми та ліпопротеїнові краплі, які оточені розетками гранул глікогену. Що стосується гепатоцитів, які мають середню електронну щільність, то слід відмітити наявність в цитоплазмі, яка прилягає до біліарного полюсу, гіпертрофованого комплексу Гольджі, значної кількості аутофаголізосом, що в своєму складі вміщують ліпопротеїнові краплі та кластери видовжених каналів дезорганізованого гранулярного і агранулярного ретикулу (рис. 1, б). У таких ділянках цитоплазми, але ближче до ядра, знаходяться значні скупчення гранул глікогену, мітохондрії та окремі пероксисоми. Каріотека ядер гепатоцитів із середньою електронною щільністю цитоплазми в ряді місць розпушена. Ядерця таких ядер гіпертрофовані. Цитоплазма електроннощільних гепатоцитів, що прилягає до розширених жовчних капілярів, вміщує аутофаголізосоми, дрібні пероксисоми та велику кількість гіпертрофованих каналів агранулярного ендоплазматичного ретикулу. Канікулярна плазматична мембрана електроннощільних гепатоцитів утворює значну кількість мікрворсинок, які розміщені нерівномірно на всьому її просторі.

При фтористій інтоксикації нами виявлено у значних кількостях мітохондрії з розпушеними кристами, що може зумовлювати зменшення окисного фосфорилування. Згідно літературних даних фтор суттєво (на 60–70%) знижує тканинне дихання у печінці [2]. Одночасно зафіксовано утворення в просвіті гемокапілярів гіперагрегатів еритроцитів, преципітатів і коагулятів. Такі особливості у крові гемокапілярів, на нашу думку, можуть бути відображенням змін у коагуляційно-фібринолітичній системі з переважанням процесів коагуляції при сповільненні обмінного кровотоку, спричиненого фтористою інтоксикацією. Виявлені морфологічні зміни можуть вказувати на неспецифічне порушення постачання кисню до клітин за умов екстремальних впливів [7]. Дезорганізація цитоплазми і ядра та накопичення ліпідних крапель, гранул глікогену може бути результатом мобілізації ліпідних субстратів та пригнічення інсулінзалежних процесів [6].

Висновки. Підсумовуючи отримані результати можна зробити висновок, що результати біохімічних досліджень, опубліковані раніше, відповідають ультраструктурним характеристикам гепатоцитів та синусоїдних

геокапілярів тканини печінки, які вказують на морфологічні зміни задіяних у систему кисеньзалежних реакцій органел цих тканин, порушення регенераторних та мікроциркуляторних процесів у них.

Список літератури

1. Коник У. В., Гжегоцький М. Р., Ковальчук С. М. Метаболічні ефекти олії амаранту та імпульсного гіпоксичного тренування за умов дії фтористої інтоксикації та малих доз радіації. *Фізіологічний журнал*. 2002. № 48 (6). С. 74–79. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz>
2. Костенко В. О., Акімов О. Є., Ковальова І. О., Міщенко А. В., Френкель Ю. Д. Молекулярні механізми впливу фторидів на організм ссавців. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. Академії*. 2018. № 18 (1). С. 303–308.
3. Glauert A. M. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. *Practical methods in electron microscopy*. Ed. by Glauert A. M. – North-Holland (American Elsevier). 1975. 207 p.
4. Inkielewicz-Stepniak I, Czarnowski W. Oxidative stress parameters in rats exposed to fluoride and caffeine. *Food and Chemical Toxicology*. 2010. № 48 (6). P. 607–1611. doi: 10.1016/j.fct.2010.03.033.
5. Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biology*. 1963. № 17. P. 208–212.
6. Sharma Priyanka, Pawan Kumar Verma, Shilpa Sood, Maninder Singh, Deepika Verma. Impact of Chronic Sodium Fluoride Toxicity on Antioxidant Capacity, Biochemical Parameters, and Histomorphology in Cardiac, Hepatic, and Renal Tissues of Wistar Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2023. № 201 (1). P. 229–241. doi: 10.1007/s12011-022-03113-w
7. Tymochko M. F., Alekseyevych Ya.I., Bobkov Yu.H. “Features of oxygen balance in extreme conditions”, *Hypoxia Med. J.*, 1996. № 3. P. 8–12.

REFERENCE

1. Konyk U. V., Hzhchotskiy M. R., Kovalchuk S. M. (2002). Metabolic effects of amaranth oil and pulsed hypoxic training under conditions of fluoride intoxication and low doses of radiation, *Fiziologichnyi zhurnal*, 48 (6), 74–79. Doi: <https://doi.org/10.15407/fz>
2. Kostenko V. O., Akimov O. Ie., Kovalova I. O., Mishchenko A. V., Frenkel Yu. D. (2018). Molecular mechanisms of the influence of fluorides on the body of mammals, *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visn. Ukrainskoi med. stomatol. Akademii*, 18 (1), 303–308.
3. Glauert A. M. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. (1975). *Practical methods in electron microscopy*. Ed. by Glauert A. M. North-Holland (American Elsevier). 207 p.
4. Inkielewicz-Stepniak I, Czarnowski W. (2010), “Oxidative stress parameters in rats exposed to fluoride and caffeine”. *Food and Chemical Toxicology*. 48 (6), 607–1611. Doi: 10.1016/j.fct.2010.03.033.
5. Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biology*. 1963. 17, 208–212.

6. Sharma Priyanka, Pawan Kumar Verma, Shilpa Sood, Maninder Singh, Deepika Verma. (2023), Impact of Chronic Sodium Fluoride Toxicity on Antioxidant Capacity, Biochemical Parameters, and Histomorphology in Cardiac, Hepatic, and Renal Tissues of Wistar Rats, *Biol Trace Elem Res.* 201 (1), 229–241. doi: 10.1007/s12011-022-03113-w.

7. Tymochko M. F., Alekseyvych Ya.I., Bobkov Yu.H. (1996), Features of oxygen balance in extreme conditions, *Hypoxia Med. J.*, 3, 8–12.

STRUCTURAL AND METABOLIC CHANGES IN RATS WITH CHRONIC FLUORIDE INTOXICATION

Konyk U. V., Kozak L. P.

Abstract. *Under the conditions of a 30-day administration of sodium fluoride, a study of the ultrastructural organization of hepatocytes and sinusoidal hemocapillaries of liver tissues was conducted, since it is known that the morphological status of the relevant tissues can be a criterion for an adequate structural and metabolic basis for the course of compensatory and adaptive reactions under the influence of various extreme factors. The choice of liver tissue was motivated by its exceptional role in providing regulatory, in relation to basic metabolic transformations, functions and detoxification properties at the level of the whole organism. It was found that due to fluoride intoxication, the ultrastructure of hepatocytes and sinusoidal hemocapillaries of the liver tissues is changed. A significant electron density of hepatocytes containing a large number of peroxisomes, autophagolysosomes, vacuoles, microbubbles, and large lipoprotein droplets was recorded. Some of these cells contain two nuclei each, which are filled with disorganized euchromatin and large nucleoli. Bile capillaries in some cases are somewhat enlarged and contain electron-dense masses in their lumens. At the same time, the formation of hyperaggregates of erythrocytes, precipitates and coagulates in the lumen of hemocapillaries was recorded. Such features in the blood of hemocapillaries may be a reflection of changes in the coagulation-fibrinolytic system with the predominance of coagulation processes when the exchange blood flow is slowed down caused by fluoride intoxication. Identified morphophysiological changes may indicate a non-specific violation of oxygen supply to cells under conditions of extreme exposure. Disorganization of cytoplasm and nucleus and accumulation of lipid droplets, glycogen granules can be the result of mobilization of lipid substrates and inhibition of insulin-dependent processes. Summarizing the obtained results, it can be concluded that our results of biochemical studies, published earlier, correspond to the ultrastructural characteristics of hepatocytes and sinusoidal hemocapillaries of the liver tissue, which indicate morphological changes in the organelles involved in the system of oxygen-dependent reactions of these tissues, disorders of regenerative and microcirculatory processes in them.*

Key words: *chronic fluoride intoxication, liver, ultrastructure.*

У. В. Коник uvkonyk@gmail.com

Л. П. Козак <https://orcid.org/0000-0003-3542-6848>,

+38 067 155 17 21, kozak.l.p.lnmu@gmail.com