

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ХЛОРИДА МАГНИЯ

Р. В. ЯНКО¹⁾, Е. Г. ЧАКА¹⁾, И. Г. ЛИТОВКА¹⁾, М. И. ЛЕВАШОВ¹⁾

¹⁾Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины,
ул. Богомольца, 4, 01024, г. Киев, Украина

В работе исследовались морфологические изменения печени крыс разного возраста после продолжительного введения хлорида магния. Эксперименты выполнены на 48 крысах-самцах линии Вистар в возрасте 3 и 15 мес. Подопытные животные в дополнение к стандартному рациону питания ежедневно в течение 21 сут получали хлорид магния в дозе 50 мг/кг массы тела. Из ткани печени изготавливали гистологические препараты по стандартной методике. Морфометрию осуществляли с помощью компьютерной программы *Image J*. В сыворотке крови и суспензии эритроцитов определяли концентрацию катионов магния. Из результатов исследований следует, что введение хлорида магния активирует процессы физиологической регенерации и функциональной активности паренхимы печени у крыс разного возраста. Об этом свидетельствует увеличение количества двуядерных клеток и ядрышек в ядрах гепатоцитов, возрастание ядерно-цитоплазматического и ядрышко-ядерного соотношения. В печени 3-месячных подопытных животных выявлено возрастание относительной площади сетки синусоидов, а также увеличение количества и плотности размещения клеток соединительной ткани, что может указывать на повышение трофической и защитной активности стромы в этом органе. Выявлено умеренное повышение содержания магния в суспензии эритроцитов и сыворотке крови у подопытных крыс (особенно у 15-месячных). Таким образом, после введения хлорида магния имеют место морфологические признаки повышения физиологической регенерации и функциональной активности паренхимы печени как у молодых (в большей степени), так и у взрослых животных.

Ключевые слова: хлорид магния; печень; гепатоцит.

Образец цитирования:

Янко РВ, Чака ЕГ, Литовка ИГ, Левашов МИ. Морфологические изменения печени крыс разного возраста после введения хлорида магния. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2019;3:40–48.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-3-40-48>

For citation:

Yanko RV, Chaka EG, Litovka IG, Levashov MI. Morphological changes in the rat's liver of different age after administration of magnesium chloride. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2019;3:40–48. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-3-40-48>

Авторы:

Роман Васильевич Янко – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник отдела клинической физиологии соединительной ткани.

Елена Георгиевна Чака – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник отдела клинической физиологии соединительной ткани.

Ирина Георгиевна Литовка – доктор биологических наук, старший научный сотрудник; ведущий научный сотрудник отдела клинической физиологии соединительной ткани.

Михаил Иванович Левашов – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник; заведующий отделом клинической физиологии соединительной ткани.

Authors:

Roman V. Yanko, PhD (biology); senior researcher at the department of clinical physiology of connective tissue.
biolag@ukr.net

<http://orcid.org/0000-0002-0397-7517>

Elena G. Chaka, PhD (biology); senior researcher at the department of clinical physiology of connective tissue.

lenchaka@ukr.net

<http://orcid.org/0000-0001-7425-2751>

Irina G. Litovka, doctor of science (biology), senior researcher; leading researcher at the department of clinical physiology of connective tissue.

litir@biph.kiev.ua

<http://orcid.org/0000-0001-9163-3572>

Mikhail I. Levashov, doctor of science (medicine), senior researcher; head of the department of clinical physiology of connective tissue.

levashov@biph.kiev.ua

<http://orcid.org/0000-0003-1354-2047>

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE RAT'S LIVER OF DIFFERENT AGE AFTER ADMINISTRATION OF MAGNESIUM CHLORIDE

R. V. YANKO^a, E. G. CHAKA^a, I. G. LITOVKA^a, M. I. LEVASHOV^a

^a*A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine,
4 Bogomoletz Street, Kiev 01024, Ukraine*

Corresponding author: R. V. Yanko (biolag@ukr.net)

The aim of the work was to study the morphological changes in the rat's liver of different ages after prolonged administration of magnesium chloride. The experiments were performed on 48 Wistar male rats at 3 and 15 months of age. Experimental animals, in addition to the standard diet, received magnesium chloride daily for 21 days at a dose of 50 mg/kg of body weight. Histological preparations were made from the liver tissue according to the standard method. The liver morphometry was performed on digital images using the computer program *Image J*. The content of magnesium cations was determined in the serum and suspension of red blood cells. Based on the results of our studies, it can be assumed that the administration of magnesium chloride activates the processes of physiological regeneration and functional activity of the liver parenchyma in rats of different ages. This is evidenced by an increase in the number of binuclear cells and nucleolus in the nucleus of hepatocytes, an increase in the nuclear-cytoplasmic and nucleolar-nuclear ratio. The relative area of the sinusoid network, the number and density of connective tissue cells were increased in the liver of 3-month-old experimental rats. This may indicate an increase of trophic and protective activity of the stroma in this organ. Experimental rats (15-month-old animals) revealed a moderate increasing in the erythrocyte suspension and blood serum magnesium content. The administration of magnesium chloride has the morphological features indicating an increasing of the physiological regeneration and activity of the liver parenchyma in young (to a greater extent) and adult animals.

Keywords: magnesium chloride; liver; hepatocyte.

Введение

В печени протекают сложные процессы обмена белков, липидов, углеводов, биологически активных веществ, а также макро- и микроэлементов. Так, она участвует в обеспечении постоянства содержания в крови большинства макроэлементов, регулируя их поступление, депонирование и выведение из организма. Поскольку все звенья минерального обмена теснейшим образом связаны с печенью, развитие патологических процессов, сопровождающихся снижением ее функциональной активности, может нарушать обмен микро- и макроэлементов [1]. Среди наиболее распространенных причин ухудшения работы печени, таких как злоупотребление алкоголем и лекарственными препаратами, неправильное питание, инфекции, особое место занимает возрастной фактор. В этой связи поиск новых средств повышения активности печени является весьма актуальным. Одно из таких возможных средств – использование макроэлементов, необходимых живым организмам для обеспечения нормальной жизнедеятельности, и прежде всего магния.

Нормальный уровень магния признан основополагающей константой, контролирующей здоровье человека. Среди катионов, присутствующих в организме, магний по концентрации занимает четвертое место, а внутри клетки – второе после калия. Установлено наличие более 290 генов и белковых соединений в последовательности генома человека, которые способны связывать магний как кофактор множества ферментов, участвующих более чем в 300 внутриклеточных биохимических реакциях. Данный макроэлемент необходим для нормального протекания большого количества физиологических процессов, которые обеспечивают энергетику и функции различных органов, что определяет его ведущую роль в системном функционировании и позволяет рассматривать как важнейший регулирующий фактор жизнедеятельности [2]. Магний контролирует работу многих органов и систем: нервной, эндокринной, сердечно-сосудистой, костно-мышечной, пищеварительного тракта и др. [3–6].

Известно, что с возрастом снижается уровень активности большинства физиологических функций организма, падает сопротивляемость воздействию различных факторов внешней среды, нарушается работа многих органов, в том числе и печени: изменяется ее морфологическое строение, снижается функциональная способность [7]. В процессе онтогенеза печень по-разному реагирует на одни и те же воздействия. Не является исключением и возрастная восприимчивость этим органом макроэлементов, особенно магния. Данные литературы о влиянии такого на структуру и функцию печени часто имеют неоднозначный характер. Это связано с использованием различных препаратов магния и их дозировок, сезонностью и продолжительностью проведения экспериментов и т. д. [8; 9]. Вместе с тем до настоящего времени практически отсутствуют сведения об особенностях воздействия

магния на гистоморфологические изменения печени у животных с различным возрастом. Поэтому, чтобы сравнить и проанализировать возрастные морфологические особенности печени после введения магния, в эксперимент нами были взяты разновозрастные крысы.

Цель данной работы – исследовать возрастные закономерности морфологических изменений печени после продолжительного введения хлорида магния.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 48 крысах-самцах линии Вистар в возрасте 3 и 15 мес. в весенний период. В качестве естественного источника ионов магния использовали хлорид магния, который встречается в природе в виде минерала бишофита и входит в состав некоторых минеральных вод. Хлорид магния широко применяется в медицинской практике в профилактических и лечебных целях.

Крысы были разделены на четыре группы (по 12 животных в каждой): I и III – 3- и 15-месячные контрольные животные соответственно, II и IV – 3- и 15-месячные подопытные крысы соответственно. Животные ежедневно (в 10 ч утра) получали перорально хлорид магния ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) в дозе 50 мг/кг в течение 21 сут. Во избежание стресса, связанного с принудительным введением, препарат (после предварительного измельчения) добавляли в пищу с сырной массой и осуществляли визуальный контроль полного поедания порции. Крысы контрольной группы получали аналогичную порцию сырной массы без магния. С учетом того что биодоступность хлорида магния не превышает 50 %, такая доза может рассматриваться как профилактическая, так как не приводит к существенному повышению его содержания в организме, но является достаточной для коррекции возможного дефицита магния до значений физиологической нормы. Животные всех групп находились в унифицированных условиях со стандартным рационом питания. По завершении эксперимента крыс декапитировали под эфирным наркозом. Исследования проводили в соответствии с положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), а также комитета по биомедицинской этике Института физиологии имени А. А. Богомольца НАН Украины.

Для морфологических и морфометрических исследований методом слепой рандомизации отбирали образцы ткани печени, из которых изготавливали гистологические препараты по стандартной методике: фиксировали в жидкости Буэна, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5–6 мкм изготавливали на санном микротоме, окрашивали гематоксилином Бемера и эозином. Для визуализации элементов соединительной ткани применяли методы двух- и трехцветной окраски по Ван Гизону и Массону [10]. С использованием цифровой камеры микропрепараты фотографировали на микроскопе Nicon (Япония). Морфометрию осуществляли с помощью компьютерной программы *Image J*.

На гистологических срезах печени измеряли средний диаметр, площадь поперечного сечения гепатоцитов, их ядер и цитоплазмы, определяли ядерно-цитоплазматическое соотношение, находили количество одно- и двуядерных клеток и плотность размещения гепатоцитов, подсчитывали количество ядрышек в ядрах гепатоцитов и определяли ядрышко-ядерное соотношение, измеряли расстояние между смежными ядрами гепатоцитов. Ядрышко-ядерное соотношение рассчитывали по формуле $\Sigma S_{\text{ядрышек}} / (S_{\text{ядра}} - \Sigma S_{\text{ядрышек}})$, где $\Sigma S_{\text{ядрышек}}$ – общая сумма площадей ядрышек в ядре; $S_{\text{ядра}}$ – площадь ядра. Количество гепатоцитов находили в 10 полях зрения микроскопа (при увеличении в 800 раз), количество ядрышек подсчитывали на 100 ядер гепатоцитов, измерение диаметра и площади осуществляли для каждой клетки с определением среднего значения относительно 100 клеток. С использованием метода наложения точечных морфометрических сеток определяли относительную площадь сетки синусоидов и относительную площадь паренхимы печени. Рассчитывали коэффициент Vizotto – отношение относительной площади сетки синусоидов к относительной площади паренхимы печени. Подсчитывали количество и определяли плотность размещения клеток соединительной ткани (синусоидальных клеток: Купфера, Ито, тучных и Pit). Находили отношение количества клеток соединительной ткани к количеству гепатоцитов [11].

Содержание катионов магния (ммоль/л) в суспензии эритроцитов и сыворотке крови определяли фотометрическим методом с использованием стандартных наборов реактивов (*Diagnosticum*, Венгрия). Принцип метода заключается в измерении интенсивности окраски комплекса красного цвета, образовавшегося при взаимодействии магния с титановым желтым в присутствии гидроксиламина, который стабилизирует окраску [12; 13].

Статистическую обработку осуществляли методами вариационной статистики с помощью компьютерной программы *Statistica 6.0*. Нормальность распределения цифровых массивов проверяли, используя критерий Пирсона. Все результаты исследований подчинялись закону нормального распределения. Для оценки достоверности различий средних величин контрольной и подопытной групп животных использовали *t*-критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Как известно, основная часть магния в организме находится в клетках и костных тканях. Только 1 % общего магния локализуется во внеклеточных жидкостях, и около 0,3 % присутствует в сыворотке [14]. Тем не менее определение его концентрации в сыворотке крови и эритроцитах наиболее часто используется в лабораторной практике. Нами выявлено, что содержание магния в сыворотке крови и эритроцитах 15-месячных крыс контрольной группы было достоверно ниже, чем у 3-месячных, на 30 и 28 % соответственно (табл. 1). Это согласуется с общизвестными данными о том, что с возрастом ухудшается всасывание магния в кишечнике и увеличивается риск развития его дефицита в организме [15].

Таблица 1

Содержание катионов магния в суспензии эритроцитов и сыворотке крови ($n = 12$, $M \pm m$), ммоль/л

Table 1

The content of magnesium cations in the suspension of red blood cells and blood serum ($n = 12$, $M \pm m$), mmol/L

Показатели	Крысы			
	3-месячные		15-месячные	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Содержание магния: в сыворотке крови эритроцитах	$1,84 \pm 0,08$	$1,80 \pm 0,04$	$1,28 \pm 0,14^{**}$	$1,48 \pm 0,08^*$
	$1,78 \pm 0,07$	$2,09 \pm 0,08^*$	$1,28 \pm 0,05^{**}$	$1,50 \pm 0,07^*$

* $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с контролем; ** $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с контролем 3-месячных крыс.

У подопытных крыс 15-месячного возраста после 21-суточного введения хлорида магния его содержание в сыворотке крови было на 16 % ($p < 0,05$) выше, чем у контрольных, тогда как у 3-месячных подопытных крыс концентрация магния в сыворотке крови не изменялась. Это можно объяснить тем, что молодым животным при сбалансированном рационе питания магния вполне достаточно, поэтому его излишек выводится из организма и он не накапливается в сыворотке крови. В суспензии эритроцитов подопытных крыс независимо от возраста содержание магния было на 17 % ($p < 0,05$) выше, чем у контрольных животных (см. табл. 1).

После введения хлорида магния паренхима печени крыс как 3-месячных, так и 15-месячных сохранила физиологическую структуру. Гепатоциты – среднего размера, с хорошо выраженным контурами. Ядра – округлой формы, с центральным расположением в клетке. Структурные границы долек не четкие, что свойственно данному виду животных. Междольковая соединительная ткань слабо выражена. Ядрышки – округлой формы, среднего размера (≈ 1 мкм) (см. рисунок).

Большинство морфометрических показателей гепатоцитов контрольных крыс разного возраста не имели существенных отличий, тогда как активность соединительной ткани в печени 15-месячных крыс, по сравнению с 3-месячными, была несколько выше. Об этом свидетельствуют достоверно большие величины относительной площади сетки синусоидов (на 39 %), коэффициента Vizotto (на 42 %), количества и плотности размещения клеток соединительной ткани в печени (на 18 и 17 % соответственно) взрослых крыс (табл. 2).

Выявлено, что структурные изменения в паренхиме печени 3-месячных крыс, получавших хлорид магния, проявлялись в большей степени, чем у 15-месячных подопытных животных. У молодых крыс после введения хлорида магния наблюдали тенденцию к уменьшению площади поперечного сечения гепатоцитов и их цитоплазмы на 8 и 9 % соответственно по сравнению с контролем. Площадь ядра оставалась без изменений, что привело к достоверному возрастанию ядерно-цитоплазматического соотношения на 13 % по сравнению с контрольным значением. У взрослых подопытных крыс данные показатели не изменились (см. табл. 2).

Ядерно-цитоплазматическое соотношение – это морфологический показатель, который позволяет оценить уровень метаболизма, выявить степень проявления компенсаторных реакций. Он также является одним из важных параметров процессов регенерации и функциональной активности клетки. Увеличение ядерно-цитоплазматического соотношения свидетельствует о возрастании функциональной активности ядра гепатоцитов, что может указывать на подготовку клетки к митозу и связанную с ним интенсификацию синтеза нукleinовых кислот, белков и т. д. [16].

Таблица 2

Морфометрические показатели печени ($n = 12, M \pm m$)

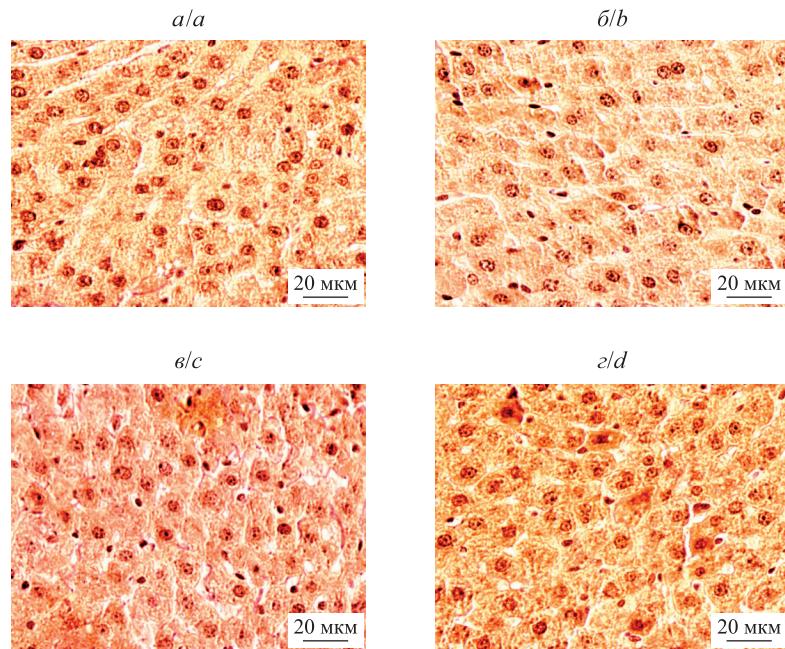
Table 2

Morphometric parameters of the liver ($n = 12, M \pm m$)

Показатели	Крысы			
	3-месячные		15-месячные	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Средний диаметр гепатоцита, мкм	$17,6 \pm 0,1$	$17,0 \pm 0,2$	$17,4 \pm 0,3$	$17,2 \pm 0,3$
Площадь, мкм^2 :				
гепатоцита	$302,4 \pm 5,0$	$278,6 \pm 9,1$	$285,3 \pm 8,3$	$278,4 \pm 12,8$
ядра	$40,7 \pm 0,9$	$40,3 \pm 1,3$	$37,1 \pm 0,9$	$38,1 \pm 1,5$
цитоплазмы	$261,7 \pm 5,0$	$238,3 \pm 6,2$	$248,2 \pm 7,7$	$240,3 \pm 11,6$
Ядерно-цитоплазматическое соотношение	$0,15 \pm 0,004$	$0,17 \pm 0,005^*$	$0,15 \pm 0,004$	$0,16 \pm 0,004$
Количество гепатоцитов на $10\,000\, \text{мкм}^2$:				
общее	$25,6 \pm 0,6$	$25,6 \pm 0,6$	$27,8 \pm 0,7$	$26,3 \pm 0,9$
одноядерных	$24,9 \pm 0,7$	$24,3 \pm 0,8$	$26,8 \pm 0,8$	$25,0 \pm 0,8$
двуядерных	$0,7 \pm 0,01$	$1,3 \pm 0,05^*$	$1,0 \pm 0,06^{**}$	$1,3 \pm 0,05^*$
Соотношение двуядерных и одноядерных гепатоцитов	$0,028 \pm 0,005$	$0,053 \pm 0,005^*$	$0,037 \pm 0,005^{**}$	$0,052 \pm 0,006^*$
Плотность размещения гепатоцитов, $(1000\, \text{мкм}^2)^{-1}$	$2,56 \pm 0,11$	$2,56 \pm 0,09$	$2,78 \pm 0,12$	$2,63 \pm 0,07$
Количество ядрышек в ядре гепатоцита	$1,81 \pm 0,05$	$2,13 \pm 0,04^*$	$1,65 \pm 0,08$	$1,89 \pm 0,05^*$
Ядрышко-ядерное соотношение	$0,044 \pm 0,001$	$0,053 \pm 0,002^*$	$0,044 \pm 0,003$	$0,05 \pm 0,002^*$
Расстояние между ядрами смежных гепатоцитов, мкм	$9,5 \pm 0,3$	$8,2 \pm 0,2^*$	$8,7 \pm 0,3$	$8,3 \pm 0,2$
Относительная площадь паренхимы, %	$89,5 \pm 1,2$	$88,3 \pm 1,9$	$85,4 \pm 1,5$	$84,9 \pm 1,4$
Относительная площадь сети синусоидов, %	$10,5 \pm 0,8$	$11,7 \pm 0,9$	$14,6 \pm 0,7^{**}$	$15,1 \pm 1,0$
Коэффициент Vizotto	$0,12 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,02^{**}$	$0,18 \pm 0,01$
Количество клеток соединительной ткани на $10\,000\, \text{мкм}^2$	$8,65 \pm 0,4$	$9,78 \pm 0,6^*$	$10,2 \pm 0,8^{**}$	$9,91 \pm 0,6$
Плотность размещения клеток соединительной ткани $(1000\, \text{мкм}^2)^{-1}$	$0,87 \pm 0,01$	$0,98 \pm 0,01^*$	$1,02 \pm 0,02^{**}$	$0,99 \pm 0,01$
Соотношение количества клеток соединительной ткани и гепатоцитов	$0,34 \pm 0,02$	$0,38 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,03$	$0,38 \pm 0,02$

* $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с контролем; ** $p < 0,05$ – достоверность различий по сравнению с контролем 3-месячных крыс.

Состояние ядрышкового аппарата служит информационным показателем функциональной активности гепатоцитов. Выявлено, что как у 3-месячных, так и у 15-месячных животных, подвергавшихся воздействию хлорида магния, количество ядрышек в ядрах гепатоцитов было достоверно больше (на 18 и 15 % соответственно) по сравнению с контролем. Это обусловило достоверное увеличение ядрышко-ядерного соотношения на 20 % (3-месячные крысы) и 14 % (15-месячные) (см. табл. 2). Одной из причин подобного изменения может быть активация физиологической регенерации гепатоцитов на внутриклеточном уровне, что проявляется в гиперплазии ядрышек [17]. Не исключена и активация латентных ядрышкообразующих районов хромосом, т. е. их переход к более активному функциональному состоянию. К основным функциям ядрышек относят синтез рРНК, из которой образуются субъединицы рибосом. Из этого следует, что увеличение количества ядрышек после введения хлорида магния указывает на повышение белоксинтетической активности гепатоцитов [18].



Микрофотография печени контрольных (а, в)
и подопытных (б, г) 3-месячных (а, б) и 15-месячных (в, г) крыс.
Окраска по методу Van Гизона

A micrograph of the liver of the control (a, c)
and experimental (b, d) 3 month old (a, b) and 15 month old (c, d) rats. Van Gieson stain

В печени подопытных животных независимо от возраста общее количество гепатоцитов и количество одноядерных гепатоцитов не изменялось, тогда как число двуядерных гепатоцитов достоверно возросло на 86 % у 3-месячных крыс и на 30 % у 15-месячных по сравнению с контролем. Это повлекло увеличение соотношения между двуядерными и одноядерными гепатоцитами на 89 % (3-месячные крысы) и 41 % (15-месячные) (см. табл. 2).

Биологический смысл двуядерных гепатоцитов долгое время оставался неизвестным. У взрослых животных и человека они встречаются постоянно, но их процент по отношению к общему количеству клеток может варьироваться. В литературе имеются сведения об увеличении числа двуядерных гепатоцитов в результате старения клетки, незаконченного митоза или амитоза. Некоторые исследователи считают, что образование двуядерных гепатоцитов из одноядерных при регенерации есть резерв полиплоидизации. Общим принципом регенерации является восстановление всего суммарного тканевого генома. Это достигается либо делением клеток, либо увеличением геномов в клетке, которая не разделилась, т. е. полиплоидией. Таким образом, по мнению ряда авторов, полиплоидизация с биологической точки зрения служит эквивалентом клеточного размножения [19–21]. Большинство авторов считают, что рост количества двуядерных гепатоцитов свидетельствует об усилении интенсивности регенерации паренхимы печени на внутриклеточном уровне [17].

После введения хлорида магния в печени молодых крыс выявили достоверное уменьшение расстояния между ядрами смежных гепатоцитов на 14 %, что, скорее всего, связано со снижением размеров клеток (см. табл. 2).

В ткани печени крыс в норме имеется незначительное количество соединительной ткани по сравнению с другими органами. Строма выполняет опорную роль для клеток паренхимы и выстилает стенки кровеносных, лимфатических сосудов и желчных канальцев. Важной особенностью соединительной ткани является ее способность к размножению и замещению дефектов, «пустот», которые образуются в паренхиме при массовой гибели гепатоцитов. В состав стromы печени входят соединительнотканые клетки: фибробласты, продуцирующие коллаген, клетки Купфера, Ито, тучные клетки и Pit-клетки, которые размещаются преимущественно в синусоидах. Строма содержит также более тонкие разветвленные коллагеновые волокна, образующие опорную сетевидную структуру между гепатоцитами [22]. При окраске препаратов печени 2 % кислым пикрофуксином в сочетании с железным гематоксилином Вейгерта (модифицированный метод окраски по Van Гизону) не было выявлено существенных различий в интенсивности окраски элементов (коллагеновых и эластиновых волокон) соединительной ткани между контрольными и подопытными группами животных. В основном соединительнотканые волокна в печени локализуются возле центральной вены и портальных триад.

После введения хлорида магния в печени 3-месячных крыс выявлена тенденция к росту относительной площади сетки синусоидов на 11 % по сравнению с контролем. Синусоиды образуют сеть соединенных между собой сосудов. В состав стенок синусоидов входят клетки ретикулоэндотелиальной системы – эндотелиальные и звездчатые ретикулоэндотелиоциты (клетки Купфера). Ретикулоэндотелиальные клетки (относятся к строме печени) захватывают и переваривают бактерии и другие чужеродные частицы, поступающие с током крови, и участвуют в ряде других защитных (иммунных) реакций организма. Коэффициент Vizotto у подопытных молодых крыс имел тенденцию к росту на 8 %. Увеличение относительной площади сетки синусоидов и коэффициента Vizotto может свидетельствовать о лучшей кровенаполненности паренхимы печени, активации трофической функции соединительной ткани в ней. Общее количество и плотность расположения соединительнотканых клеток достоверно возросло на 13 % по сравнению с контрольными показателями. Это может указывать на активацию в печени защитной функции соединительной ткани. Морфометрические показатели состояния последней у подопытных крыс 15-месячного возраста оставались близкими к контрольным значениям (см. табл. 2).

Следует отметить, что магний оказывает существенное влияние на морфофункциональное состояние и регенерацию гепатоцитов, а также на процессы биотрансформации, протекающие в них. В литературе имеются данные о воздействии магния на регуляцию внутриклеточных процессов и ключевые метаболические системы эндоплазматического ретикулума гепатоцитов [23].

Многие ученые исследовали влияние недостатка магния на состояние печени. Так, показано, что дефицит магния вызывает в ней окислительный стресс и воспалительные реакции [8], различные метаболические нарушения (включая метаболизм глюкозы) [9]. Примерно 85 % случаев вирусных гепатитов протекают на фоне дефицита магния. Выявлено, что хронические гепатиты В и С сопровождаются магниевой тканевой недостаточностью [24]. Установлено, что у магнийдефицитных перепелов снижается количество митохондрий в гепатоцитах при увеличении их средней площади. Эти морфологические изменения свидетельствуют о нарушениях в энергетическом обмене этих органелл [25]. В другом исследовании показано, что пероральные добавки хлорида магния снижают уровни АЛТ в плазме крови у женщин с ожирением, страдающих гипомагниемией [26]. Выявлено, что 28-суточное пероральное введение крысам (с моделируемой формой холестаза) сульфата магния в различных концентрациях (0,01; 0,05; 0,1 и 0,25 г/кг) уменьшает повреждения печени путем снижения некроза гепатоцитов, окислительного стресса и воспалительных процессов в ней, а также уменьшает пролиферацию звездчатых клеток и образование фиброза [27]. Доказано, что такое соединение, как магний изоглициризинат, обладает противовоспалительными, гепатопротекторными, детоксикационными и антиоксидантными свойствами. Кроме того, магний в таком сочетании улучшает функцию печени, защищает мембранные гепатоцитов от различных ядовитых химических веществ, поддерживает их нормальную морфологию и снижает гибель [28; 29].

Заключение

Гистоморфологическая структура печени у животных разных возрастных групп, получавших хлорид магния, изменялась одинаково. Однако морфофункциональные изменения в паренхиме печени 3-месячных подопытных крыс проявлялись в большей степени, чем у взрослых животных. На основании результатов наших исследований можно предположить, что 21-суточное введение хлорида магния (в дозе 50 мг/кг) активирует процессы физиологической регенерации и функциональной активности паренхимы печени. Об этом свидетельствует увеличение количества двуядерных клеток и ядрышек в ядрах гепатоцитов, возрастание ядерно-цитоплазматического и ядрышко-ядерного соотношения, а также повышение трофической и защитной активности соединительной ткани в печени молодых крыс.

Библиографические ссылки

1. Pickett-Blakely O, Young K, Carr RM. Micronutrients in nonalcoholic fatty liver disease pathogenesis. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. 2018;6(4):451–462. DOI: 10.1016/j.cmh.2018.07.004.
2. Хабаров АА, Новиков ДА. *Магний. Биологическая роль и применение в медицине*. Курск: КГМУ; 2005.
3. Romani AM. Magnesium in health and disease. *Metal Ions in Life Sciences*. 2013;13:49–79. DOI: 10.1007/978-94-007-7500-8_3.
4. Jähnchen-Dechent W, Ketteler M. Magnesium basics. *Clinical Kidney Journal*. 2012;5(supplement 1):i3–i14. DOI: 10.1093/ndt-plus/sfr163.
5. Янко РВ, Чака ЕГ, Левашов МИ. Возрастные различия морфофункционального состояния поджелудочной железы крыс после введения хлорида магния. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. 2019;105(4):501–509. DOI: 10.1134/S0869813919040125.
6. Yanko RV. Investigation of the influence of magnesium ions on the morphofunctional state of the thyroid gland of adult rats. *Endokrynologiya*. 2018;23(3):230–234.

7. Калинин АЛ. Морфологические и патофизиологические особенности печени у пожилых пациентов. *Проблемы здоровья и экологии*. 2016;47(1):13–17.
8. Matsui T. Magnesium and liver. *Clinical Calcium*. 2012;22(8):1181–1187. DOI: CliCa120811811187.
9. Mei S, Ryosuke N, Shozo T, Masayuki F. Fluctuations in metabolite content in the liver of magnesium-deficient rats. *British Journal of Nutrition*. 2016;116(10):1694–1699. DOI: 10.1017/S0007114516003676.
10. Данилов РК, редактор. *Руководство по гистологии. Том 2*. Санкт-Петербург: СпецЛит; 2011. 511 с.
11. Rudzki Z, Szczudrawa J, Stachura J. Morphometry of normal, regenerating and cancerous hepatocytes. *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 1989;27(3):141–148.
12. Громова ОА, Калачева АГ, Торшин ИЮ, Грустливая УЕ, Прозорова НВ, Егорова ЕЮ и др. О диагностике дефицита магния. Часть 1. *Архивъ внутренней медицины*. 2014;25–10. DOI: 10.20514/2226-6704-2014-0-2-5-10.
13. Kunkel H, Pearson P, Schweigert B. The photoelectric determination of magnesium in body fluids. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1947;32(8):1027–1033.
14. Gröber U, Schmidt J, Kisters K. Magnesium in prevention and therapy. *Nutrients*. 2015;7(9):8199–8226. DOI: 10.3390/nu7095388.
15. Barbagallo M, Belvedere M, Dominguez LJ. Magnesium homeostasis and aging. *Magnesium Research*. 2009;22(4):235–246. DOI: 10.1684/mrh.2009.0187.
16. Rosioru C, Talu S, Talu M, Giovanzana S, Craciun C. Morphometric assessments for the healthy rat hepatocytes. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 2012;17(1):74–79.
17. Саркисов ДС, Втюрин БВ. *Электронная микроскопия деструктивных и регенераторных внутриклеточных процессов*. Москва: Медицина; 1967. 224 с.
18. Boisvert F, van Koningsbruggen S, Navascués J, Lamond AI. The multifunctional nucleolus. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007;8(7):574–585. DOI: 10.1038/nrm2184.
19. Романова ЛП, Малышев ИИ. Роль двуядерных гепатоцитов в регенерации печени после механической травмы в раннем онтогенезе у крыс. *Вестник Чувашского университета*. 2011;3:398–402.
20. Duncan AW, Taylor MH, Hickey RD, Hanlon Newell AE, Lenzi ML, Olson SB, et al. The ploidy conveyor of mature hepatocytes as a source of genetic variation. *Nature*. 2010;467(7316):707–710. DOI: 10.1038/nature09414.
21. Бродский ВЯ, Урываева ИВ. *Клеточная полиплоидия. Пrolиферация и дифференцировка*. Москва: Наука; 1981. 259 с.
22. Widmaier EP, Raff H, Strang KT. *Human physiology: The mechanisms of body function. 9th edition*. New York: The McGraw-Hill Companies; 2003. 864 р.
23. Боев ВМ. Среда обитания и экологически обусловленный дисбаланс микроэлементов у населения урбанизированных и сельских территорий. *Гигиена и санитария*. 2002;5:3–8.
24. Плотникова ЕЮ, Карягина МС, Шамрай МА, Зинчук СФ, Баранова ЕН, Максимов СА. Магниево-цинковый статус у пациентов с хроническими гепатитами В и С. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2017;2:60–64.
25. Didier R, Gueux E, Rayssiguier Y. Magnesium deficiency in the Japanese quail. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Physiology*. 1984;79(2):223–227. DOI: 10.1016/0300-9629(84)90420-1.
26. Rodriguez-Hernandez H, Cervantes-Huerta M, Rodriguez-Moran M, Guerrero-Romero F. Oral magnesium supplementation decreases alanine aminotransferase levels in obese women. *Magnesium research*. 2010;23(2):90–96. DOI: 10.1684/mrh.2010.0204.
27. Eshraghi T, Eidi A, Mortazavi P. The protective effects of magnesium on liver tissue alteration induced by bile duct ligation in rat. *International Journal of Advances in Chemical Engineering and Biological Sciences*. 2015;2(1):50–53. DOI: 10.15242/IJACEBS.A0915005.
28. Zheng J, Wu G, Hu GX, Peng YZ, Xiong XJ. Protective effects against and potential mechanisms underlying the effect of magnesium isoglycyrrhizinate in hypoxia-reoxygenation injury in rat liver cells. *Genetics and Molecular Research*. 2015;14(4):15453–15461. DOI: 10.4238/2015.November.30.23.
29. Xu Q, Ji W, Chen F, Lin K, Zhu M, Chen L, et al. Protective role of magnesium isoglycyrrhizinate in non-alcoholic fatty liver disease and the associated molecular mechanisms. *International Journal of Molecular Medicine*. 2016;38(1):275–282. DOI: 10.3892/ijmm.2016.2603.

References

1. Pickett-Blakely O, Young K, Carr RM. Micronutrients in nonalcoholic fatty liver disease pathogenesis. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. 2018;6(4):451–462. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2018.07.004.
2. Habarov AA, Novikov DA. *Magnii. Biologicheskaya rol'i primenenie v meditsine* [Magnesium. Biological role and application in medicine]. Курск: Курск State Medical University; 2005. Russian.
3. Romani AM. Magnesium in health and disease. *Metal Ions in Life Sciences*. 2013;13:49–79. DOI: 10.1007/978-94-007-7500-8_3.
4. Jähnen-Dechent W, Ketteler M. Magnesium basics. *Clinical Kidney Journal*. 2012;5(supplement 1):i3–i14. DOI: 10.1093/ndtplus/sfr163.
5. Yanko RV, Chaka EG, Levashov MI. Age-related differences in the morphofunctional state of the rat pancreas after magnesium chloride administration. *Russian Journal of Physiology*. 2019;105(4):501–509. DOI: 10.1134/S0869813919040125. Russian.
6. Yanko RV. Investigation of the influence of magnesium ions on the morphofunctional state of the thyroid gland of adult rats. *Endokrynologiya*. 2018;23(3):230–234.
7. Kalinin AL. The morphological and pathophysiological features of the liver in elderly patients. *Problemy zdorov'ya i ekologii*. 2016;47(1):13–17. Russian.
8. Matsui T. Magnesium and liver. *Clinical Calcium*. 2012;22(8):1181–1187. DOI: CliCa120811811187.
9. Mei S, Ryosuke N, Shozo T, Masayuki F. Fluctuations in metabolite content in the liver of magnesium-deficient rats. *British Journal of Nutrition*. 2016;116(10):1694–1699. DOI: 10.1017/S0007114516003676.
10. Danilov RK, editor. *Rukovodstvo po gistolozii. Tom 2* [Guide to histology. Volume 2]. Saint Petersburg: SpetsLit; 2011. 511 p. Russian.
11. Rudzki Z, Szczudrawa J, Stachura J. Morphometry of normal, regenerating and cancerous hepatocytes. *Folia Histochemica et Cytobiologica*. 1989;27(3):141–148.

12. Gromova OA, Kalacheva AG, Torshin IYu, Gruslivaya UE, Prozorova NV, Egorova EYu, et al. [About the diagnosis of magnesium deficiency. Part 1]. *The Russian Archives of Internal Medicine*. 2014;2:5–10. DOI: 10.20514/2226-6704-2014-0-2-5-10. Russian.
13. Kunkel H, Pearson P, Schweigert B. The photoelectric determination of magnesium in body fluids. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1947;32(8):1027–1033.
14. Gröber U, Schmidt J, Kisters K. Magnesium in prevention and therapy. *Nutrients*. 2015;7(9):8199–8226. DOI: 10.3390/nu7095388.
15. Barbagallo M, Belvedere M, Dominguez LJ. Magnesium homeostasis and aging. *Magnesium Research*. 2009;22(4):235–246. DOI: 10.1684/mrh.2009.0187.
16. Rosioru C, Talu S, Talu M, Giovanzana S, Craciun C. Morphometric assessments for the healthy rat hepatocytes. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 2012;17(1):74–79.
17. Sarkisov DS, Vtyurin BV. *Elektronnaya mikroskopiya destruktivnykh i regeneratorykh vnutrikletchnykh protsessov* [Electron microscopy of destructive and regenerative intracellular processes]. Moscow: Meditsina; 1967. 224 p. Russian.
18. Boisvert F, van Koningsbruggen S, Navascués J, Lamond AI. The multifunctional nucleolus. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007;8(7):574–585. DOI: 10.1038/nrm2184.
19. Romanova LP, Malyshev II. The role of binuclear hepatocytes in liver regeneration after mechanical trauma in early ontogenesis in rats. *Vestnik Chuvashskogo universiteta*. 2011; 3:398–402. Russian.
20. Duncan AW, Taylor MH, Hickey RD, Hanlon Newell AE, Lenzi ML, Olson SB, et al. The ploidy conveyor of mature hepatocytes as a source of genetic variation. *Nature*. 2010;467(7316):707–710. DOI: 10.1038/nature09414.
21. Brodskii VY, Uryvaeva IV. *Kletchnaya poliploidiya. Proliferatsiya i differentsirovka* [Cell polyploidy. Proliferation and differentiation]. Moscow: Nauka; 1981. 259 p. Russian.
22. Widmaier EP, Raff H, Strang KT. *Human physiology: The mechanisms of body function. 9th edition*. New York: The McGraw-Hill Companies; 2003. 864 p.
23. Boyev VM. [Habitat and ecologically caused imbalance of microelements in the population of urbanized and rural areas]. *Hygiene and Sanitation*. 2002;5:3–8. Russian.
24. Plotnikova EYu, Karyagina MS, Shamray MA, Zinchuk SF, Baranova EN, Maximov SA. The magnesium-zinc status at patients with chronic hepatitises B and C. *RMJ. Medical Review*. 2017;2:60–64. Russian.
25. Didier R, Gueux E, Rayssiguier Y. Magnesium deficiency in the Japanese quail. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Physiology*. 1984;79(2):223–227. DOI: 10.1016/0300-9629(84)90420-1.
26. Rodriguez-Hernandez H, Cervantes-Huerta M, Rodriguez-Moran M, Guerrero-Romero F. Oral magnesium supplementation decreases alanine aminotransferase levels in obese women. *Magnesium research*. 2010;23(2):90–96. DOI: 10.1684/mrh.2010.0204.
27. Eshraghi T, Eidi A, Mortazavi P. The protective effects of magnesium on liver tissue alteration induced by bile duct ligation in rat. *International Journal of Advances in Chemical Engineering and Biological Sciences*. 2015;2(1):50–53. DOI: 10.15242/IJACEBS.A0915005.
28. Zheng J, Wu G, Hu GX, Peng YZ, Xiong XJ. Protective effects against and potential mechanisms underlying the effect of magnesium isoglycyrrhizinate in hypoxia-reoxygenation injury in rat liver cells. *Genetics and Molecular Research*. 2015;14(4):15453–15461. DOI: 10.4238/2015.November.30.23.
29. Xu Q, Ji W, Chen F, Lin K, Zhu M, Chen L, et al. Protective role of magnesium isoglycyrrhizinate in non-alcoholic fatty liver disease and the associated molecular mechanisms. *International Journal of Molecular Medicine*. 2016;38(1):275–282. DOI: 10.3892/ijmm.2016.2603.

Статья поступила в редакцию 02.10.2019.
Received by editorial board 02.10.2019.