

UOT: 611.362

QARACİYƏRİN DAXİLİ QURULUŞUNUN NORMADA VƏ EKSPERİMENTDƏ (ÜMUMİ QARACİYƏR AXACAĞININ BLOKADASI MODELİNDƏ) HİSTOLOJİ VƏ ELEKTRON-MİKROSKOPİK TƏDQIQİ

Əliyeva N.H.

Azərbaycan Tibb Universiteti. İnsan anatomiyası və tibbi terminologiya kafedrası.

Müəssisənin ünvanı: AZ 1022 Azərbaycan, Bakı şəhəri, Ə.Qasımzadə küçəsi 14

Müəllifin elektron poçt ünvanı: aliyeva_naila@icloud.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8447-8092>

Aşar sözlər: qaraciyər, öd axacaqları, eksperiment, mexaniki blokada, histoloji və elektron-mikroskopik tədqiqat

Giriş. Qaraciyər eksperimental tədqiqatlarda və toxuma elektron mikroskopik üsullarının təkmilləşdirilməsində ən çox istifadə edilən orqandır. Elektron mikroskopun köməyi ilə qaraciyərin daha kiçik histoloji strukturlarını dəqiq tədqiq etmək mümkündür [1].

Hazırda müxtəlif anadangəlmə anomaliyalar zamanı və xarici amillərə məruz qaldıqdan sonra daxili orqanların divarlarının öyrənilməsinə diqqət artır [2,3,4]. Buna baxmayaraq, elmi ədəbiyyatda öd yollarının atreziyası zamanı qaraciyərin ultramikroskopik morfoloqiyasının xüsusiyyətlərinə dair heç bir məlumat yoxdur.

Öd yollarının atreziyası yenidə doğulmuş uşaqların hər 20 mindən birində rast gəlinir və onlarda cərrahi sarılığın ən çox yayılmış səbəbidir. Bu anomaliya həm qaraciyərdaxili, həm də qaraciyərxarici öd yollarının obliterasiyası ilə xarakterizə olunur. [5].

Beləliklə, hal-hazırda normada və öd yollarının atreziyası zamanı qaraciyərin elektron mikroskopiyası ilə bağlı məlumat çatışmazlığı mövcuddur. Bu istiqamətdə görülən tədqiqatlar xüsusi elmi-praktik dəyərə malik olacaqdır.

Tədqiqatın məqsədi normada və ümumi qaraciyər axacağının blokadası modelində mikroskopik və ultramikroskopik strukturlarının morfoloji xüsusiyyətlərini öyrənmək olmuşdur.

Tədqiqatın material və metodları.

Tədqiqatın materialı cinsi xətti məlum olmayan 30 yetkin dovşan (mexaniki blokada modelində 15 dovşan, nəzarət qrupunda 15 dovşan) olmuşdur.

Heyvanların saxlanması və onların evtanaziyası Avropa Şurasının “Təcrübə və elmi məqsədlər üçün istifadə edilən heyvanların mühafizəsi haqqında” Direktivinə (86/609 CE) uyğun olaraq həyata keçirilmişdir [6].

Qaraciyərxarici ümumi qaraciyər axacağını ligaturaya alamaqla öd yollarının blokadası modeli yaradılmışdır.. Bunun üçün, heyvanlar izofluran ilə anesteziya edilmiş, sonra sağ qabırğaaltı nahiyyədə köndələn kəsik aparılmışdır. Kiçik piyliyin ön səhifəsi kəsilmiş, ümumi qaraciyər axacağı ətrafı toxumalardan təmizlənir. Bu axacaq ligaturaya götürülmüşdür. Sonra kiçik piyliyin ön səhifəsi və qarın boşluğunun ön divarı ardıcıl olaraq tikilmişdir. Müdaxilədən sonra öd ifrazını stimullaşdırmaq üçün dovşanlara 1,25 ml Ursolfalk verilmişdir .2-3 saatdan sonra heyvanlar evtanaziya edilmişdir. Dovşanların təşrihi nəzarət qrupunun dovşanları ilə aparılan prosedurlara uyğun şəkildə aparılmışdır.

Heyvanların evtanaziyası təcrübədə geniş istifadə olunan natrium pentobarbitalatın venadaxili yeridilməsi ilə həyata keçirilmişdir. boyunca Evtanaziyaadan sonra dovşanların qaraciyərinin strukturlarını öyrənmək üçün

orta xətt boyunca qarın boşluğu açılmış, qaraciyər öd axacaqları ilə birlikdə çıxarılmış və ətrafdakı toxumalardan təmizlənmişdir. Eksperiment və nəzarət qrupu dovşanların qaraciyərinin müxtəlif hissələrindən parçalar kəsilib götürülmüşdür. Material 10% neytral formalində, seçmə olaraq "Karnua" mayesində fiksasiya edilmiş, parafinə salınmışdır. Bu parçalardan 5-7 µm qalınlığında köndələn kəsiklər hazırlanmışdır. Hazırlanmış kəsiklər hematoksilin-eozin, metilen mavisi və Van Gison üsulu ilə boyanmışdır [7].

Preparatlar "MicroOptix" (Almaniya) işıq-optik mikroskopuna quraşdırılmış "Topica TP1002DS" video görüntü sistemi ilə tədqiq edilmiş və fotosəkilləri çəkilmişdir.

Elektron makroskopik müayinə üçün əsas və nəzarət qruplarından dovşanların qaraciyərinin müxtəlif hissələrindən parçalar götürülmüş. Bu parçalar 2,5% qlutaraldehyd məhluluna salınmış. 1 saat, sonra 1% soyudulmuş OsO₄ məhlulunda fiksasiya edilmişdir. Qaraciyər toxumaları 50%, 70%, 90% və 100% (3X) aseton ilə susuzlaşdırıldı və Agar 100 epoksi qatranına daxil edildi. Susuzlaşdırmadan sonra, iki mərhələli boyama üsulu uranil asetat UA və ardınca qurğuşun sitrat tətbiq edilmişdir [8]. Bu preparatlardan qalınlığı 20 ilə 50 nm arasında olan nazik və ultra nazik kəsiklər hazırlanmışdır. Tədqiqatlar 80 kV gərginlikli "FEI Tecnai G 2 Spirit BioTWIN" elektron mikroskopunda aparılmışdır.

Tədqiqatın nəticələri və onların müzakirəsi. Normada qaraciyərin histoloji preparatlarının öyrənilməsinin nəticələri göstərdi ki, paycıqlar birləşdirici toxuma təbəqələri (arakəsmələr) ilə ayrılır. Paycıqların konturları, adətən, bitişik paycıqların qovşağında, paycıqarası səviyədə yerləşən triadaların və mərkəzi venanın mövqeyi ilə təxminən müəyyən edilə bilər.

Paycıqətrafi damarlardan (arteriollardan və venulalardan) kapillyarlar paycıqın daxilinə uzanır və bunlar vahid sinusoidal kapillyarlar

şəklində birləşirlər. Sonuncular qaraciyər hüceyrələrinin sıraları arasında açıq rəngli boşluqlar kimi görünür və mərkəzi damara doğru radial istiqamətdə yerləşirlər.

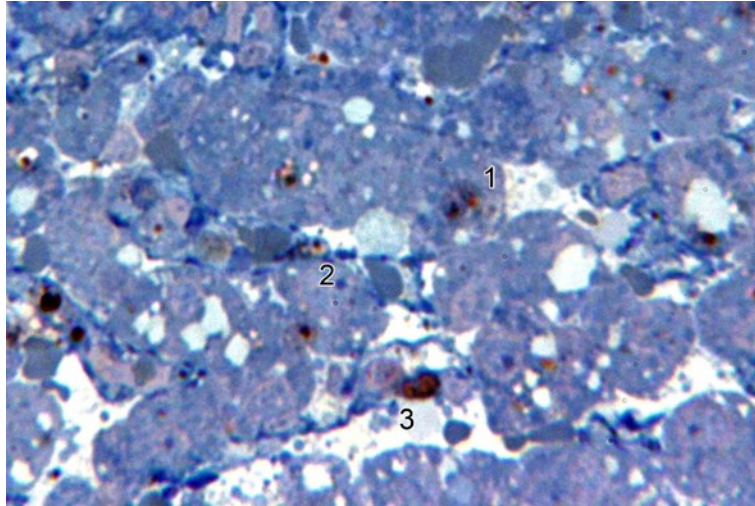
Qaraciyər hüceyrələri (hepatositlər) şüavarı sütunlar əmələ gətirirlər. Hepatosit nüvələri təxminən bərabər ölçüdə olmuşdur. İki-nüvəli hepatositlər nadir hallarda rast gəlinmişdir. Hepatositlərin sitoplazması heterogendir, xüsusən də nüvələrin ətrafında.

Sütunlar sinusoidal kapillyarların üstündə və ya altında bir-biri ilə anastomozlaşır. Qaraciyər paycıqlarının sütunlarının hepatositlərinin iki sırası arasında öz divarı olmayan kiçik yarıqvari boşluqlar – öd kapillyarları müəyyən edilir. Bu kapillyarlar şüaların mərkəzi hissələrində kor-şəkildə başlayır. Buna görə də, onların daxilində öd axını mərkəzdən periferiyaya döğrudur. Bu axacaqların divarı tək qatlı epiteldən ibarətdir.

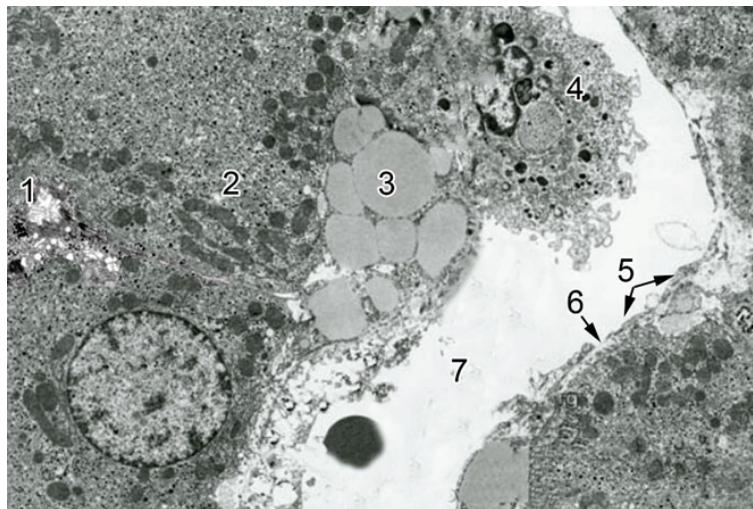
Ümumi qaraciyər axacağının mexaniki blokadasından sonra qaraciyərin histoloji preparatlarının öyrənilməsinin nəticələri göstərdi ki, bu zaman orta dərəcədə hüceyrədaxili xolestaz, öd kapillyarlarında və axacaqlarında ödənin toplanması, paycıqətrafi ödem və paycıqarası arakəsmələrin fibrozu müşahidə edilir. Öd yollarının forması dəyişmiş, lakin xolangiositlərdə şişkinlik və degenerativ dəyişikliklər baş verir. Əksər öd yollarında divar sklerozu və epitelin örtüyünün yox olması qeyd edildi. Bu zaman "öd göllərinin" meydana gəlməsi ilə nəticələnən ödənin ətrafdakı boşluğa keçməsi, sinusoidal kapillyarların genişlənməsi müşahidə edilir (şəkil 1).

Normada qaraciyərin elektron mikroskopik tədqiqatlarının nəticələrinin təhlili göstərdi ki, elektronogramlarda hepatositlər, sinusoidal endotel hüceyrələr, Kupffer hüceyrələr, yağ toplayan hüceyrələri, retikulya lifləri və öd axacaqlarının epitel hüceyrələri müəyyən edilir (şəkil 2).

Hepatositlər bucaqlı bir formaya malik olub olub sinusoidal səthə və öd kapillyarlara baxan səthlərə malikdirlər.



Şəkil 1. Mexanik blokadaya məruz qalmış dovşan qaraciyərinin histoloji strukturları. 1. Divarın sklerozu və interlobulyar kanalın epiteliya örtüyünün yox olması; 2. Xolangiositlərdə ödem və distrofik dəyişikliklər; 3. Sinisoidal kapillyarın genişlənməsi. Metilen mavisi ilə boyama. Böyütmə dərəcəsi X600.



Şəkil 2. Normada dovşan qaraciyərinin ultramikroskopik quruluşu. 1. Öd kapilyarları; 2. Hepatosit; 3. Yağ toplayan hüceyrələr; 4. Kupfer hüceyrəsi; 5. Sinisoidal endotel hüceyrələri; 6. Sitoplazmik fenestralar; 7. Sinusoidin mənfəzi. Elektron oqrmma. böyütmə dərəcəsi X6000.

Onlar periferik heterokromatin oval nüvəyə, mərkəzi elektron şəffaf qovuqcucqlara və qabarıq nüvəciyə malikdirlər. Hepatositlər sinusoidini divarına daxil olan çoxlu sayda mikroxovlar ilə örtülür.

Sinusoidal endotel hüceyrələrdə çoxsaylı sayda böyük və kiçik sitoplazmik pəncərələr olur. Endotel hüceyrələr qaraciyərin paycıqımında bərabər paylanır.

Sinusoidin endotel hüceyrələri ilə hepatositlər arasında dar Disse boşluğu və

sinusoidin mənfəzində Kupfer hüceyrələri müşahidə edilir. Bu hüceyrələr çoxsaylı xovşəkili çıxıntılarla xarakterizə olunur.

Yağ toplayan hüceyrələr (Ito hüceyrələri) hepatositlər arasındakı sahədə yerləşlər və sinusoidin mənfəzinə daxil olurlar. Bu hüceyrələr yuvarlaq və ya oval ekssentrik şəkildə yerləşən nüvəyə və sitoplazmanın çox hissəsini tutan çoxsaylı iri yağ damcılarına malikdirlər.

Qaraciyərxarici öd yollarının blokada s;

modelini yaratdıqdan sonra dovşanların qaraciyərinin ultrastrukturlarının tədqiqi göstərdi ki, bu zaman elektronogramlarda öd kapillyarlarının mikroxovlarının nəzərəcarpacaq dərəcədə itkisi, öd kapillyarlarının degenerasiya olunmuş və axacaqətrafı iltihabı fibroz ilə qeyd olunan hepatoselülar xolestaz müəyyən edilir. Bu xüsusiyyətlər öd yollarının blokadası zamanı əsas patoloji prosesin bilyar sistemə təsir etdiyini göstərir.

Bir sıra müəlliflərə görə öd axaçaqlarının blokadası zamanı ümumi patohistoloji mənzərə qaraciyərxarici və qaraciyərdaxili öd yollarının iltihabi zədələnməsi, onların divarlarının sklerozu, mənfəzinin daralması və obliterasiyası ilə xarakterizə olunur [9,10].

W.F. Balistreri və b. məlumatlarına əsasən öd yollarının atreziyası ilə bağlı qaraciyərdə gedən ən xarakterik dəyişikliklərə aşağıdakılar daxildir: 1) hepatositlərdə və öd yollarında ödənin durğunluğu, 2) öd yollarının proliferasiyası, 3) nəhəng hüceyrə transfermasiyası, 4) portal və perilobulyar ödem və fibroz [11].

D.C. Yamaquti və F.R. Patricio (2011) bilyar atreziyası olan uşaqlarda qaraciyərdaxili öd yollarının morfoloji xüsusiyyətlərini öyrənmişlər. Tədqiqat materialına bilyar atreziyası olan uşaqlardan alınmış 35 qaraciyər preparatları daxil edilmişdir. Uşaqların 42,86%-ində qaraciyərdaxili öd yollarının obliterasiyası, 20%-də öd yollarının sayının azalması, 28,57%-də öd axaçaqlarının lövhələrinin qusuru, öd axaçaqlarının malformasiyası 8,57%-də aşkar edilmişdir [12].

Yekun. ümumi qaraciyər axacağının mexaniki blokadasından sonra qaraciyərin histoloji preparatlarının öyrənilməsinin nəticələri göstərdi ki, histoloji preparatlarda orta dərəcədə hüceyrədaxili xolestaz, öd kapillyarlarında və axaçaqlarında ödənin toplanması, paycıqətrafı ödem və paycıqarası arakəsmələrin fibrozu müşahidə edilir. Öd yollarının xolangiositlərində şişkinlik və degenerativ dəyişikliklər baş verir. Əksər öd yollarında divar sklerozu

və epitelin örtüyünün yox olması qeyd edildi. Bu vəziyyətdə "öd göllərinin" meydana gəlməsi ilə nəticələnən ödənin ətrafdakı boşluğa keçməsi, sinusoidal kapilyarların genişlənməsi müşahidə edilir. Bu zaman elektronogramlarda öd kapillyarlarının mikroxovlarının nəzərəcarpacaq dərəcədə itkisi, öd kapillyarlarının degenerasiya olunmuş və axacaqətrafı iltihabı fibroz ilə qeyd olunan hepatoselülar xolestaz müəyyən edilir. Bu xüsusiyyətlər öd yollarının blokadası zamanı əsas patoloji prosesin bilyar sistemə təsir etdiyini göstərir.

Əldə edilmiş məlumatlardan öd axaçaqlarının atreziyası zamanı götürülən biopsiya və seksion materialların patoloji-anatomik müayinəsində, hepatoloqların və cərrahların bu patologiya zamanı müalicə taktikasının düzgün seçimində istifadə oluna bilər

Ədəbiyyat siyahısı

1. Мильто И.В., Суходоло И.В., Миллер А.А. Электронно-микроскопическое исследование печени крыс после внутривенного введения суспензии наноразмерного магнетита // – Москва: Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. № 4, – с. 510-513
2. Шадлинская, С.В. Макромикроскопическая анатомия, закономерности морфогенеза малых желёз и лимфоидных образований преддверия влагалища в постнатальном онтогенезе человека и в эксперимент / автореферат дисс. доктора медицинских наук. / – Баку. 2021. – 61 с.
3. Шадлинский В.Б., Гараев Г.Ш., Хыдырова Х.Ф. Морфологические особенности сосудов микроциркуляторного русла печени // V национальный конгресс Азербайджана по аллергологии и иммунореабилитации. – Баку: 21 октября, – 2016. – с.107-108.
4. Гараев Г.Ш., Хыдырова Х.Ф. Изменения лимфообращения печени в зависимости от продолжительности ингаляционной интоксикации парами хлористого водорода в эксперименте // – Самара: Морфологические ведомости. – 2018. №2, – с.38-40.

5. Betalli P., Maurizio Cheli M., D'Antiga L. Diseases of the Liver and Biliar Atreziya / P.Betalli, M.Maurizio Cheli, L.D'Tree Springer: Cham – 2021. 170 p.
6. Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Европейского Союза: По охране животных, используемых в научных целях / Санкт-Петербург.; Спец.Лит, 2012. – 48 с.
7. Коржевский, Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э.Коржевский – Санкт-Петербург: Спец.Лит, – 2010. – 95 с.
8. Santhana Raj L, Nur Dayana MA, Norzarila SN, Tan CV, Afrina N () New Preparation Method of Reynolds' Stain for Transmission Electron Microscope for Liver Samples. International Journal of Medical Nano Research 2021 8(1). doi.org/10.23937/2378-3664.1410033
9. Roy P. A histopathological study of liver and biliary remnants with clinical outcome in cases of extrahepatic biliary atresia. Indian / P.Roy, U.Chatterjee, M.Ganguli [et al.] // J. Pathol. Microbiol. – 2010. 53(1) – p 101–105. doi: 10.4103/0377-4929.59194
10. Yamaquti D.C., Patricio F.R. Morphometrical and immunohistochemical study of intrahepatic bile ducts in biliary atresia // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2011. 23(9), – p. 759–765. doi: 10.1097/MEG.0b013e32832e9df0.
11. Balistreri W.F. Biliary Atresia: Current Concepts and Research Directions Summary of a Symposium / W.F.Balistreri, R.Grand, J.H.Hoofnagle [et al.] // Hepatology. – 1996. 23 (6), – p.1682–1692. doi: 10.1002/hep.510230652.
12. Yamaquti D.C., Patricio F.R. Morphometrical and immunohistochemical study of intrahepatic bile ducts in biliary atresia // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2011. 23(9), – p. 759–765. doi: 10.1097/MEG.0b013e32832e9df0.

РЕЗЮМЕ

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ И ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВНУТРЕННЕГО СТРОЕНИЯ ПЕЧЕНИ В НОРМЕ И В ЭКСПЕРИМЕНТЕ (НА МОДЕЛИ МЕХАНИЧЕСКОЙ БЛОКАДЫ ОБЩЕГО ПЕЧЕНОЧНОГО ПРОТОКА)

Алиева Наиля Гасан кызы

Азербайджанский Медицинский Университет. Кафедра анатомии человека и медицинской терминологии. Баку, Азербайджан

Цель исследования — изучить морфологические особенности микроскопических и ультрамикроскопических структур печени в норме и на модели механической блокады общего печеночного протока.

Материалом исследования послужили 30 беспородных взрослых кроликов (15 кроликов в модели механической блокады, 15 кроликов в контрольной группе). Модель блокады желчевыводящих путей создавали путем перевязки внепеченочного общего печеночного протока. Через 2-3 часа животных подвергали эвтаназии. Препарирование кроликов проводили в соответствии с методикой, проведенной с кроликами контрольной группы. Из различных участков печени кроликов экспериментальной и контрольной групп вырезали и брали кусочки. Из этих кусочков изготавливали поперечные срезы толщиной 5-7 мкм. Подготовленные срезы окрашивали гематоксилин-эозином, метиленовым синим и методом Ван Гисона [7]. Препараты изучали и фотографировали с помощью системы видеоизображения «Topica TP1002DS», установленной на светооптическом микроскопе «MicroOptix» (Германия). Электронно-микроскопические исследования проводили на электронном микроскопе «FEI Tecnai G 2 Spirit BioTWIN» под напряжением 80 кВ.

Результаты изучения гистологических препаратов печени показали, что после механической блокады общего печеночного протока в гистологических препаратах наблюдались умеренный уровень внутриклеточного холестаза, скопление желчи в желчных капиллярах и протоках, отек вокруг долек и фиброз междольковых перегородок. Форма желчных путей не меняется, но в холангиоцитах возникают набухание и дегенеративные изменения. В большинстве желчных путей отмечался склероз стенок и утрата эпителиального покрова. При этом наблюдается выход желчи в окружающее пространство, приводящий к образованию «желчных озер», и расширение синусоидальных капилляров. При этом на электронограммах выявляется выраженная потеря микроворсинок желчных капилляров, гепатоцеллюлярный холестаз, выраженный дегенеративным

желчных капилляров и воспалительным фиброзом вокруг протоков.

Полученная информация может быть использована при патологоанатомическом исследовании материалов биопсии желчных протоков, при выборе гепатологами и хирургами тактики лечения этой патологии.

Ключевые слова: *печень, эксперимент, механическая блокада, гистологическое и электронно-микроскопическое исследование.*

SUMMARY

HISTOLOGICAL AND ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF THE INTERNAL STRUCTURE OF THE LIVER IN NORM AND IN EXPERIMENT (ON THE MODEL OF MECHANICAL BLOCKADE OF THE COMMON HEPATIC DUCT)

Aliyeva Naila Hasan

Azerbaijan Medical University. Department of Human Anatomy and Medical Terminology.
Baku, Azerbaijan

The aim of the study was to investigate the morphological features of microscopic and ultramicroscopic structures of the liver in norm and on the model of mechanical blockade of the common hepatic duct. The research material was 30 non-breeding adult rabbits (15 rabbits in the mechanical blockade model, 15 rabbits in the control group). The model of bile duct blockade was created by ligating the extrahepatic common hepatic duct. After 2-3 hours, the animals were euthanized. The rabbits were dissected according to the method used with the rabbits of the control group. Pieces were cut out and taken from different parts of the liver of the rabbits of the experimental and control groups. Transverse sections 5-7 μm thick were made from these pieces. The prepared sections were stained with hematoxylin and eosin, methylene blue and the Van Gieson method [7]. The preparations were studied and photographed using a Topica TP1002DS video imaging system installed on a MicroOptix light-optical microscope (Germany). Electron-macroscopic studies were performed on a FEI Tecnai G 2 Spirit BioTWIN electron microscope under 80 kV.

The results of the study of histological preparations of the liver showed that after mechanical blockade of the common hepatic duct, a moderate level of intracellular cholestasis, accumulation of bile in the bile capillaries and ducts, edema around the lobules and fibrosis of the interlobular septa were observed in histological preparations. The shape of the bile ducts does not change, but swelling and degenerative changes occur in cholangiocytes. In most bile ducts, sclerosis of the walls and loss of the epithelial cover were noted. In this case, there is an exit of bile into the surrounding space, leading to the formation of "bile lakes", and the expansion of the sinusoidal capillaries. In this case, electronograms reveal a pronounced loss of microvilli in the bile capillaries, hepatocellular cholestasis, expressed by degenerative inflammation of the bile capillaries and inflammatory fibrosis around the ducts.

The information obtained can be used as standards (norms) in pathological studies for comparison with biopsy and autopsy material taken in atresia of the liver and bile ducts, as well as for the correct choice of treatment tactics for this pathology by hepatologists and surgeons.

Key words: *liver, experiment, mechanical blockade, histological and electron microscopic examination.*