

**МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕПАТОЦИТІВ ІНТАКТНИХ ЩУРІВ
ТА ПРИ ВВЕДЕННІ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ**

Полтавський державний медичний університет (м. Полтава)

alena.voloshina85@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом НДР „Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти та інших екзогенних чинників на морфофункціональний стан внутрішніх органів”, (номер державної реєстрації 0113U006185), „Експериментально-морфологічне вивчення дії кріоконсервованих препаратів кордової крові та ембріофетоплацентарного комплексу (ЕФПК), дифереліну, етанолу та 1% ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів” (номер державної реєстрації 0119U102925).

Вступ. Однією з великих травних залоз організму є печінка, яка має приблизно 300 млрд. клітин, гепатоцити складають 80% від їх загальної кількості [1]. В нормі форма гепатоцитів багатокутна, діаметр їх складає 20-25 мкм, вони містять одно бо два великих ядра (величиною 7-16 мкм), в яких переважає еухроматин. В цитоплазмі наявні добре розвинені гранулярна та гладка ендоплазматичні сітки, чисельні мітохондрії, лізосоми, пероксисоми, множинні елементи апарату Гольджи, глікоген та ліпідні краплі у вигляді включень. Органели мають зональне розміщення, залежно від їх функціонального призначення [2]. Гепатоцити приймають участь в поглинанні, синтезі, хімічному перетворенні та накопиченні різноманітних речовин, які потім виділяються в жовч або кров [3].

Роль печінки в організмі людини різноманітна: участь в обміні білків, вуглеводів, ліпідів, вітамінів та біологічно-активних речовин, знешкодження ендо- та екзогенних токсинів, регуляція гомеостазу, а також поглинання, трансформація і виділення компонентів крові [4].

Відомо, що в багатьох тканинах ссавців, зокрема в плацентарній тканині, міститься велика кількість біологічно активних речовин, що виявляє їх істотний лікувальний ефект на різні системи організму, а також ферментні системи енергетичного, білкового та інших видів обміну речовин [5-9].

При використанні кріоконсервованої плаценти при різних патологічних станах відмічались значні позитивні клінічні результати [5-9]. Пацієнти, при лікуванні яких були застосовані препарати кріоконсервованої плаценти, одержували ряд біологічно активних сполук природного походження, які здатні впливати на різні ланки метаболізму в організмі людини в цілому, прискорювати репаративні процеси, підвищувати неспецифічну резистентність до стресових ситуацій та несприятливих факторів зовнішнього середовища [7, 8, 10, 11]. Також відмічався позитивний вплив кріоконсервованої плаценти на перебіг запальних процесів в організмі [7, 12-17].

Не зважаючи на велику кількість експериментальних та клінічних даних, багато аспектів у питан-

нях механізмів дії тканинної терапії залишаються недостатньо вивченими, тому виникає необхідність подальших досліджень у даній області.

Мета дослідження. Порівняти кількісні параметри гепатоцитів у інтактних щурів та при введенні кріоконсервованої плаценти.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводилось на 50 статевозрілих щурах, масою 180-200 г. Експериментальні дослідження проводили відповідно до "Загальних принципів експериментів на тваринах", схвалених V Національним конгресом із біоетики (Київ, 2013) і узгоджених із положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986), згідно з Законом України №3447-IV від 21.02.2006 р. "Про захист тварин від жорсткого поводження" та Гельсінською декларацією про гуманне відношення про тварин [18-20].

Об'єктом дослідження була печінки щурів, де вимірювались кількісні показники гепатоцитів. Експериментальні тварини були поділені на дві групи: I – інтактна група (5), II – тварини, яким біла введена підшкірно одноразово кріоконсервована плацента (45). Виведення тварин відбувалося в наступні терміни: на 1-у, 2-у, 3-ю, 5-у, 7-у, 10-у, 14-у, 21-у та 30-у доби. Парафінові зрізи виготовлялись згідно загальноприйнятими методиками.

Аналіз морфометричних досліджень структурних компонентів печінки тварин був проведений згідно з загальноприйнятими статистичними методами за допомогою програми Microsoft Office Excel 2007 [21-22].

Вірогідність відмінностей кількісних результатів визначалася за допомогою t-критерію Стьюдента. Відмінності вважались статистично значущими при загальноприйнятій в медико-біологічних обстеженнях вірогідності помилки $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

Згідно даним дослідження, середній діаметр гепатоцитів інтактної групи складав $26,412 \pm 0,324$ мкм (великий діаметр) та $16,355 \pm 0,325$ мкм (малий діаметр), площа їх становила $1364,225 \pm 35$ мкм, ядерноцитоплазматичний індекс (IG_S) $0,196 \pm 0,006$. Середні показники ядер гепатоцитів цієї групи становили: великий діаметр – $9,976 \pm 0,094$ мкм, малий діаметр – $7,881 \pm 0,134$ мкм, площа – $249,304 \pm 5,861$ мкм. Кількість одноядерних гепатоцитів коливалась в межах $91,43 \pm 0,55$, багатоядерних – $8,57 \pm 0,55$.

Отримані результати якісних та кількісних показників печінки тварин інтактної групи є контрольними і необхідними для порівняння з результатами експериментальних досліджень.

При введенні кріоконсервованої плаценти проведений аналіз морфометричних досліджень гепа-

тоцитів показав, що їх великий діаметр поступово збільшувався починаючи з 7-ої доби експерименту в порівнянні з інтактною групою та досягав найбільшої величини з 7-ої по 21-у доби 27,959±0,363 мкм (при p<0,001), малий діаметр гепатоцитів був найбільш великим, порівнюючи з інтактом на 7-у та 10-у доби експерименту 21,205±0,257 мкм (при p<0,001). Також збільшувалася площа гепатоцитів, починаючи з 3-ої доби і була найбільшою на 7-у та 10-у доби експерименту (табл. 1).

Морфометричні дослідження діаметру ядер гепатоцитів показали наступні результати: в порівнянні з інтактом діаметр ядер при введенні кріоконсервованої плаценти поступово збільшувався, починаючи з 2-ої доби експерименту 10,699±0,123 мкм (при p<0,001), досягав найбільшої величини на 10-у добу експерименту 11,289±0,149 мкм (при p<0,001), а потім поступово зменшувався та досягав величини інтактної групи на 30-у добу експерименту 9,959±0,112 мкм (при p>0,005).

Проведені дослідження показали, що малий діаметр ядер гепатоцитів поступово збільшувався, починаючи з 1-ої доби експерименту, порівнюючи з інтактом, і досягав величини в 1,5 рази більше від нього на 7-у та 10-у доби експерименту 9,836±0,140 мкм (при p<0,001, p<0,001) (табл. 2).

Показники середньої площі ядер гепатоцитів починали збільшуватися з 2-ої доби експерименту 297,535±7,329 мкм (при p<0,001).

Найбільшій величині середня площа досягала на 10-у добу експерименту 353,966±9,270 мкм (при p<0,001), потім поступово зменшувалася і дорівнювала цифрам інтактної групи на 30-у добу експерименту.

При дослідженні площі гепатоцитів було встановлено, що вона збільшувалася на 7-у та 10-у доби 1872,067±40,188 мкм (при p<0,001), а на 30-у добу

Таблиця 2 – Середні показники розміру ядер гепатоцитів (M±m, мкм)

Доби експерименту	Великий діаметр (D)	Малий діаметр (d)	Площа (S)
1	9,278±0,094 p<0,001	8,088±0,089 p>0,05	237,329±4,592 p>0,05
2	10,699±0,123 p<0,001	8,763±0,140 p<0,001	297,535±7,329 p<0,001
3	10,670±0,095 p<0,001	9,465±0,095 p<0,001	318,350±5,124 p<0,001
5	10,939±0,087 p<0,001	9,610±0,081 p<0,001	331,582±4,880 p<0,001
7	11,241±0,149 p<0,001	9,787±0,140 p<0,001	350,767±9,235 p<0,001
10	11,289±0,149 p<0,001	9,836±0,140 p<0,001	353,966±9,270 p<0,001
14	10,406±0,112 p<0,01	9,024±0,098 p<0,001	296,344±5,476 p<0,001
21	10,416±0,112 p<0,01	8,190±0,154 p<0,05	270,967±7,312 p<0,02
30	9,959±0,112 p>0,05	7,733±0,148 p>0,05	244,658±6,781 p>0,05
Інтактна група	9,976±0,094	7,881±0,134	249,304±5,861

Примітка: p – показник статистичної значимості різниці з показниками інтактної групи.

Таблиця 1 – Середні показники розміру діаметрів і площі гепатоцитів (M±m, мкм)

Доби експерименту	Показник			
	Великий діаметр (D)	Малий діаметр (d)	Площа (S)	Ядерно-цитоплазматичний індекс (IG _S)
1	24,144±0,48 p<0,001	17,238±0,291 p>0,05	1321,025±41,00 p>0,05	0,195±0,006 p>0,05
2	26,363±0,48 p>0,05	14,774±0,263 p<0,001	1236,095±36,48 p<0,02	0,261±0,010 p<0,001
3	26,086±0,37 p>0,05	20,679±0,302 p<0,001	1712,075±43,48 p<0,001	0,196±0,005 p>0,05
5	26,998±0,23 p<0,05	20,918±0,192 p<0,001	1780,652±28,73 p<0,001	0,191±0,004 p>0,05
7	27,877±0,33 p<0,001	21,124±0,257 p<0,001	1859,555±40,02 p<0,001	0,197±0,007 p>0,05
10	27,959±0,33 p<0,001	21,205±0,257 p<0,001	1872,067±40,18 p<0,001	0,195±0,006 p>0,05
14	27,482±0,25 p<0,001	19,298±0,225 p<0,001	1671,694±28,79 p<0,001	0,184±0,005 p>0,05
21	27,028±0,30 p>0,05	17,363±0,357 p<0,001	1484,553±42,07 p<0,001	0,193±0,006 p>0,05
30	26,571±0,32 p>0,05	16,906±0,349 p>0,05	1420,904±40,51 p>0,05	0,182±0,006 p>0,05
Інтактна група	26,412±0,34	16,355±0,325	1364,225±35,92	0,196±0,006

Примітка: p – показник статистичної значимості різниці з показниками інтактної групи.

експерименту досягала величини інтактної групи. Слід відмітити, що збільшення ядерно-цитоплазматичного індексу відмічалось на 21-у добу експерименту при порівнянні з інтактом 0,193±0,006.

Морфометричні дослідження кількості багатоядерних гепатоцитів у найбільш показові доби експерименту показали, що кількість одноподібних гепатоцитів суттєво не змінювалася. Однак, починаючи з 3-ої доби експерименту, кількість багатоядерних гепатоцитів починала збільшуватися, і досягала максимальних показників на 10-у добу спостереження (13,09±1,1 при p<0,05), порівнюючи з інтактною групою (8,57±0,55 при p>0,05) (табл. 3).

Був проведений кореляційний аналіз між площею гепатоцитів та великим діаметром гепатоцитів, він показав прямий кореляційний зв'язок між ними, який при порівнянні з інтактом (r=0,53 p<0,001) починав збільшуватись з 1-ої доби експерименту і поступово зменшувався на 30-у добу (r=0,59 при p<0,001) (табл. 4).

Кореляційний аналіз між площею гепатоцитів та малим діаметром не проводився, так як дані були мало інформативними.

Кореляційний аналіз між площею і діаметром ядер показав прямий кореляційний зв'язок та найбільші результати були виявлені на 7-у та 10-у доби (r=0,94 при p<0,001) (табл. 5).

Таким чином, при введенні кріоконсервованої плаценти піддослідним тваринам на ранніх термінах експерименту (1-а, 3-я доби) у печінці встановлені

реактивні зміни ультраструктури гепатоцитів. Діаметр гепатоцитів, в середньому, складав 25,531 мкм (великий діаметр) та 17,564 мкм (малий діаметр), площа їх становила 1423,065 мкм, ядерно-цитоплазматичний індекс (IG_S) 0,217±0,005. Середні показники ядер гепатоцитів становили: великий діаметр – 10,215 мкм, малий діаметр – 8,772 мкм, площа – 284,405 мкм. Кількість одноядерних гепатоцитів коливалась в межах 89,17±0,65, багатоядерних – 10,83±0,65 $p < 0,05$.

Поступово відбувалася фізіологічна реакція структур гепатоцитів, де на 5-7-10-у доби експерименту виявились помірні зміни якісного та кількісного характеру. На 7-му та 10-ту добу експерименту збільшувались: великий діаметр гепатоцитів 27,959±0,363 мкм (при $p < 0,001$), малий діаметр 21,205±0,257 мкм (при $p < 0,001$), площа гепатоцитів та ядерно-цитоплазматичний індекс 1872,067±40,188 мкм (при $p < 0,001$).

Діаметри ядер гепатоцитів (великий та малий) та площа ядра також мали тенденцію збільшуватися на 7-му та 10 доби експерименту (11,289±0,149 мкм при $p < 0,001$ – великий, 9,836±0,140 мкм при $p < 0,001$ – малий, площа 353,966±9,270 мкм при $p < 0,001$). Кількість багатоядерних гепатоцитів на 10-ту добу досягала максимуму і становила 13,09±1,1 (при $p < 0,005$).

У пізні терміни дослідження (14, 21, 30-а доби) більшість гепатоцитів не мають відмін ультраструктурної організації від печінки тварин інтактною групи [23].

Висновки. Доведено, що у щурів інтактною групи структурна організація печінки принципово не відрізняється від людини. Середній показник площі гепатоцитів складає у тварин інтактною групи

Таблиця 3 – Кількість багатоядерних гепатоцитів (M±m)

	Інтакт	Доби експерименту			
		2-а	3-а	7-а	10-а
Одноядерні	91,43±0,55	91,21±0,99	89,17±0,65	87,97±1,02	86,91±1,1
Багатоядерні	8,57±0,55	8,79±0,99 $p < 0,05$	10,83±0,65 $p < 0,05$	12,03±1,02 $p < 0,05$	13,09±1,1 $p < 0,05$

Таблиця 4 – Кореляція розміру великого діаметру гепатоцита з площею клітин

Показники	Інтакт	Доби експерименту									
		1	2	3	5	7	10	14	21	30	
r	0,53	0,83	0,76	0,83	0,78	0,70	0,70	0,69	0,59	0,59	
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Таблиця 5 – Кореляція розміру площі і діаметру ядра гепатоцита

Показники	Інтакт	Доби експерименту									
		1	2	3	5	7	10	14	21	30	
r	0,53	0,86	0,76	0,77	0,89	0,94	0,94	0,77	0,73	0,72	
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

1364,226±35,982 мкм², ядерно-цитоплазматичне співвідношення – 0,196±0,006, середня площа ядер дорівнює 249,304±5,861 мкм². Введення кріоконсервованої плаценти впливає на стан гепатоцитів, що проявляється появою клітин з великими ядрами, збільшенням кількості двоядерних гепатоцитів. Зміни метричних показників гепатоцитів проявляються в збільшенні середньої площі клітин і ядер з 1-ої до 10-ої доби на 37% і 42% відповідно ($p < 0,001$). До 30-ої доби спостерігалась тенденція до зменшення параметрів. Значення ядерно-цитоплазматичного індексу збільшилось на 24,9% на 2-у добу і відновилося на 3-ю.

Перспектива подальших досліджень полягає в розробці методів корегування деяких патологічних станів печінки за допомогою препаратів кріоконсервованої плаценти.

Література

1. Skrypnik IM, Melnyk TV, Potiazhenko MM. Klinichna hepatolohiia. Poltava: Dyvosvit; 2007. 423 s. [in Ukrainian].
2. Byikov VL. Chastnaya gistologiya cheloveka. SPb: SOTIS; 1999. 300 s. [in Russian].
3. Milyukov VE, Marshudova HM. Sovremennyye kliniko-anatomicheskie predstavleniya o stroenii i funktsii pecheni. Zhurnal anat. i gist. 2014;1(19):64-70. [in Russian].
4. Metwally E, Negm F, SI-din R, Nabien E. Anatomical and Histological study of Effect of Lead on Hepatocytes in Albino Rats. International Journal of Biomedical Mabirials research. 2015;3:34-45.
5. Gromova OA, Torshin IYU, Dibrova YEA, Karimova IM, Gilel's AV, Kustova YEV. Mirovoy opyt primeneniya preparatov iz platsenty cheloveka: rezul'taty klinicheskikh i eksperimental'nykh issledovaniy. Obzor. Plasticheskaya khirurgiya i kosmetologiya. 2011;3:385-76. [in Russian].
6. Bondarenko TP, Bozhok GA, Alabedal'karim NM, Volkova NA, Ustichenko VD, Samchenko II, et al. Transplantatsiya kriokonservirovannogo endokrinnogo materiala kak metod korrektsii razlichnykh patologiy u eksperimental'nykh zhivotnykh. Problemy kriobiologii. 2005;15(3):393-7. [in Russian].
7. Rassokhin AV. Tkanevaya platsentarnaya terapiya. Sankt-Peterburg: ELBI-SPb; 2014. 208 s. [in Russian].
8. Grishchenko VI, Yurchenko TN, redaktory. Platsenta: kriokonservirovaniye, struktura, svoystva I perspektivy klinicheskogo primeneniya. Khar'kov: SPD FL Brovin A.V.; 2011. 268 s. [in Russian].
9. Murphy SV, Kidyoor A, Reid T, Atala A, Wallace EM, Lim R. Isolation, Cryopreservation and Culture of Human Amnion Epithelial Cells for Clinical Applications. J Vis Exp. 2014;94:52085.
10. Shablyi VA, Kuchma MD, Kirik VM, Onishchenko AN, Lukash LL, Lobyntseva GS. Kriokonservirovaniye tkani platsenty cheloveka – istochnik gemopoeticheskikh progenitornykh kletok i mul'tipotentnykh mezenkhimnykh stromal'nykh kletok. Kletochnaya transplantologiya I tkanevaya inzheneriya. 2012;VII:54-62. [in Russian].
11. Park HJ, Shim HS, Lee S, Hahm DH, Lee H, Oh CT, et al. Anti-stress effects of human placenta extract: possible involvement of the oxidative stress system in rats. BMC Complement Altern Med. 2018 May 8;18(1):149.
12. Garg R, Zahra F, Chandra JA, Vatsal P. A comparative study of injection placentrex and conventional therapy in treatment of pelvic inflammatory disease. J Indian Med Assoc. 2008 Jul;106(7):463-7.
13. Kebkalo AB, Lobyntseva HS, Seminoh VI, Shablyi VA. Vykorystannya pupovynnoyi krovii ta pupovynnoho kanatyka v kompleksnomu likuvanni khvorykh na nekrotichnyy pankreatyt. Ukrayins'kyi zhurnal ekstremal'noyi medytsyny imeni H.O. Mozhayeva. 2012;1:77-85. [in Ukrainian].

14. Stetsuk O.O. Morfofunktsional'nyy stan sitkivky shchuriv pry pidshkirniy transplantatsiyi kriokonservovanoi platsenty na tli aseptychnoho retynit. Svit medytsyny ta biolohiyi. 2010;1(24):58-62. [in Ukrainian].
15. Stetsuk O.O., Shepitko V.I., Lysachenko O.D. Porivnyal'na kharakterystyka morfofunktsional'noho stanu sitkivky shchuriv pry hostromu aseptychnomu retynitі ta odnorazovoyi pidshkirnoyi transplantatsiyi platsenty na tli hostroho retynit. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny. 2010;1(29):96-101. [in Ukrainian].
16. Bilash S.M. Vuhlevodna spetsyfichnist' elementiv fundal'noyi chastyny shlunkovoyi stinky pry vvedenni kriokonservovanoi platsenty na tli hostroho eksperymental'noho hastrytu. Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2014;3(112):258-62. [in Ukrainian].
17. Bilash S.M. Osoblyvosti lektynospetsyfichnosti strukturnykh komponentiv kardial'noyi chastyny shlunku pislya vvedennya kriokonservovanoi platsenty na tli hostroho eksperymental'noho zapalennya. Svit medytsyny ta biolohiyi. 2014;2(44):97-100. [in Ukrainian].
18. Hel'sins'ka deklaratsiya Vsesvitn'oyi Medychnoyi Asotsiatsiyi «Etychni pryntsyipy medychnykh doslidzhen' za uchastyu lyudyny u yakosti ob'yekta doslidzhennya». Morfolohiya. 2010;IV(1):65-8. [in Ukrainian].
19. Verkhovna Rada Ukrainy. Zakon Ukrainy (redaktsiya vid 04.08.2017) Pro zakhyt tvaryn vid zhorstokoho povodzhennya [Internet]. Kyiv: Verkhovna Rada Ukrainy; 2006. Available from: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>. [in Ukrainian].
20. Reznikov O.H. Zahal'ni etychni pryntsyipy eksperymentiv na tvarynakh. Pershyy natsional'nyy konhres z bioetyky. Endokrynolohiya. 2003;8(1):142-5. [in Ukrainian].
21. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispol'zovaniyem Excel. Kiyev: Morion; 2000. 320 s. [in Russian].
22. Yunkerov V.I., Grigor'yev S.G., Rezvantsev M.V. Matematiko-statisticheskaya obrabotka dannykh meditsynskikh issledovaniy. Sankt-Peterburg: VmedA; 2011. 318 s. [in Russian].
23. Voloshyna O.V. Morfofunktsionalna kharakterystyka hepatotsytiv pechinky pry vvedenni kriokonservovanoi platsenty na tli aseptychnoho zapalennya [dysertatsiya]. Poltava: UMMA; 2020. 171 s. [in Ukrainian].

МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕПАТОЦИТІВ ІНТАКТНИХ ЩУРІВ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ

Волошина О. В., Шепітько В. І., Пелипенко Л. Б.

Резюме. В роботі представлений аналіз морфо метричної характеристики гепатоцитів інтактних щурів та при введенні кріоконсервованої плаценти. Дослідження проводилось на 50 статевозрілих щурах, масою 180-200 г. Об'єктом дослідження була печінка щурів, де вимірювались кількісні показники гепатоцитів. Експериментальні тварини були поділені на дві групи: I – інтактна група (5), II – тварини, яким біла введена підшкірно одноразово кріоконсервована плацента (45). Виведення тварин відбувалося в наступні терміни: на 1-у, 2-у, 3-ю, 5-у, 7-у, 10-у, 14-у, 21-у та 30-у доби. Парафінові зрізи виготовлялись згідно загальноприйнятим методикам.

Аналіз морфометричних досліджень структурних компонентів печінки тварин був проведений згідно з загальноприйнятими статистичними методами за допомогою програми Microsoft Office Excel 2007.

Аналіз метричних показників розміру діаметрів і площі гепатоцитів, розміру ядер гепатоцитів та кількості багатоядерних гепатоцитів дозволив зробити висновки, що у щурів інтактної групи структурна організація печінки принципово не відрізняється від людини. Середній показник площі гепатоцитів складає у тварин інтактної групи $1364,226 \pm 35,982$ мкм², ядерно-цитоплазматичне співвідношення – $0,196 \pm 0,006$, середня площа ядер дорівнює $249,304 \pm 5,861$ мкм². Введення кріоконсервованої плаценти впливає на стан гепатоцитів, що проявляється появою клітин з великими ядрами, збільшенням кількості двоядерних гепатоцитів. Зміни метричних показників гепатоцитів проявляються в збільшенні середньої площі клітин і ядер з 1-ої до 10-ої доби. До 30-ої доби спостерігалась тенденція до зменшення параметрів. Значення ядерно-цитоплазматичного індексу збільшувалось на 2-у і відновлювалось на 3-ю добу. Отримані данні можуть бути використані для обґрунтування та розробки ефективних методів терапії печінки за допомогою препаратів кріоконсервованої плаценти.

Ключові слова: морфометричні дослідження, гепатоцити, кріоконсервована плацента.

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF HEPATOCYTES OF INTAKT RATS AND WITH THE INJECTION OF CRYOCONSERVED PLACENTA

Voloshina O. V., Shepitko V. I., Pelypenko L. B.

Abstract. Introduction. One of the body's large digestive glands is the liver, which has about 300 billion cells, 80% – hepatocytes. The shape of hepatocytes is polygonal, they contain one or two large nuclei. In the cytoplasm, organelles have a zonal location, there are well-developed granular and smooth endoplasmic reticulum, numerous mitochondria, lysosomes, peroxisomes, elements of the Golgi apparatus, inclusions – glycogen and lipids.

The role of the liver is quite different: participation in metabolism, neutralization of toxins, regulation of homeostasis, as well as absorption, transformation and secretion of blood components.

Many mammalian tissues, in particular placental tissue, contain a large number of biologically active substances, which reveals their significant therapeutic effect on various body systems, as well as enzyme systems of energy, protein and other types of metabolism.

During the using of cryopreserved placenta in various pathological conditions, significant positive clinical results were observed, in particular on the influence of cryopreserved placenta on the course of inflammatory processes in the body.

Despite the large amount of experimental and clinical data, many aspects of the mechanisms of action of tissue therapy remain poorly understood, so there is a need for further research in this area.

The aim of the research. Compare the quantitative parameters of hepatocytes in intact rats and with the injection of cryopreserved placenta.

Object and methods of research. The research was performed on 50 adult rats weighing 180-200 g. Experimental researches were performed according to the European Convection for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.

The object of the research was the liver of rats, where were measured the quantitative indicators of hepatocytes. Distribution of experimental animals: Group I – intact (5), II – animals, which were injected subcutaneously with disposable cryopreserved placenta (45). The animals were out from the researching at the following times: (1-3, 5, 7, 10, 14, 21 and 30 days). Paraffin sections were made according to generally accepted methods.

Analysis of morphometric research of structural components of animal liver was performed according to generally accepted statistical methods using Microsoft Office Excel 2007.

The probability of differences in quantitative results was determined using Student's t-test. The differences were considered statistically significant in the generally accepted in medical and biological examinations error probability $p < 0.05$.

Research results and their discussion. According to the research, the average diameter of hepatocytes of the intact group was $26.412 \pm 0.324 \mu\text{m}$ (large diameter) and $16.355 \pm 0.325 \mu\text{m}$ (small diameter), their area was $1364.225 \pm 35 \mu\text{m}^2$, nuclear cytoplasmic index (IG_S) 0.196 ± 0.006 . The average values of the nuclei of hepatocytes of this group: large diameter – $9.976 \pm 0.094 \mu\text{m}$, small diameter – $7.881 \pm 0.134 \mu\text{m}$, area – $249.304 \pm 5.861 \mu\text{m}^2$. The number of mononuclear hepatocytes ranged from 91.43 ± 0.55 , multinucleated – 8.57 ± 0.55 .

The obtained results of qualitative and quantitative indicators of the liver of intact animals are control and necessary for comparison with the results of experimental researches.

With the injection of cryopreserved placenta to experimental animals in the early stages of the experiment (1st, 3rd day) in the liver revealed reactive changes in the ultrastructure of hepatocytes. The average hepatocyte diameter was $25.531 \mu\text{m}$ (large diameter) and $17.564 \mu\text{m}$ (small diameter), their area was $1423.065 \mu\text{m}^2$, nuclear cytoplasmic index (IG_S) 0.217 ± 0.005 . The average hepatocyte nuclei were: large diameter – $10.215 \mu\text{m}$, small diameter – $8.772 \mu\text{m}$, plane – $284.405 \mu\text{m}^2$. The number of mononuclear hepatocytes ranged from 89.17 ± 0.65 , multinucleated – 10.83 ± 0.65 $p < 0.05$.

Gradually there was a physiological reaction of hepatocyte structures, where on the 5-7-10th day of the experiment there were moderate changes of qualitative and quantitative nature. On the 7th and 10th day of the experiment, the following increased: large hepatocyte diameter $27.959 \pm 0.363 \mu\text{m}$ (at $p < 0.001$), small diameter $21.205 \pm 0.257 \mu\text{m}$ (at $p < 0.001$), hepatocyte area and nuclear cytoplasmic index $1872.067 \pm 40.188 \mu\text{m}^2$ (at $p < 0.001$).

The diameters of hepatocyte nuclei (large and small) and the area of the nucleus also tended to increase on the 7th and 10th day of the experiment ($11.289 \pm 0.149 \mu\text{m}$ at $p < 0.001$ – large, $9.836 \pm 0.140 \mu\text{m}$ at $p < 0.001$ – small, area $353.966 \pm 9.270 \mu\text{m}^2$ at $p < 0.001$). The number of multinucleated hepatocytes on the 10th day reached a maximum and was 13.09 ± 1.1 (at $p < 0.005$).

In the later stages of the study (14, 21, 30 days), most hepatocytes have no differences in ultrastructural organization from the liver of animals of the intact group.

Correlation analysis between the area of hepatocytes and large diameter of hepatocytes showed a direct correlation between them, which comparing with intact ($r = 0.53$ $p < 0.001$) began to increase from the 1st day of the experiment and gradually decreased on the 30th day ($r = 0.59$ at $p < 0.001$).

Correlation analysis between hepatocyte area and small diameter was not performed, as the data were not very informative.

Correlation analysis between the area and diameter of the nuclei showed a direct correlation and the greatest results were found on the 7th and 10th day ($r = 0.94$ at $p < 0.001$).

Conclusions. It is proved that in rats of the intact group the structural organization of the liver is not fundamentally different from humans. The average area of hepatocytes in animals of the intact group is $1364.226 \pm 35.982 \mu\text{m}^2$, the nuclear-cytoplasmic ratio is 0.196 ± 0.006 , the average area of nuclei is $249.304 \pm 5.861 \mu\text{m}^2$. The injection of cryopreserved placenta affects the state of hepatocytes, which is manifested by the appearance of cells with large nuclei, an increase in the number of dinuclear hepatocytes. Changes in the metric parameters of hepatocytes are manifested in an increase in the average area of cells and nuclei from the 1st to the 10th day by 37% and 42%, respectively ($p < 0.001$). By the 30th day, there was a tendency to decrease the parameters. The value of the nuclear cytoplasmic index increased by 24.9% on the 2nd day and resumed on the 3rd.

Prospects for further research is to develop methods for correcting some pathological conditions of the liver with the help of cryopreserved placenta.

Keywords: morphometric researches, hepatocytes, cryopreserved placenta.

*Рецензент – проф. Проніна О. М.
Стаття надійшла 03.01.2021 року*