

cell under the influence of surrounding cells. The effect of prolonged central deprivation of testosterone synthesis on morphological changes in hematopoietic organs is still not enough described in the scientific literature. The aim of this study is to evaluate the microscopic structure of hematopoietic cells in rats during the central deprivation of testosterone synthesis by diferelin injection on the 30 day of the experiment. Materials and methods. The experiment was performed on 20 adult male white rats divided into 2 groups of 10 animals in each group: control and test group. The animals in the experimental group were injected with diferelin (Triptorelin embonate) subcutaneously in a dose of 0.3 mg of active substance per kg / body wt. The rats in the control group received a saline injection. The experiment lasted 30 days. Results. The morphological study of the red bone marrow in the test group of animals on the 30 day of the experiment has demonstrated the structure of the organ is represented by two components: stromal and parenchymal. The stroma consists of reticular cells forming a network of reticular fibers, most of which are threaded with sinusoidal capillaries. In the middle of the capillaries there is a dense arrangement of erythrocytes in the form of a "column of coins". The pericapillary space is filled with hematopoietic cells at different stages of differentiation. The monoblastic clone is represented by monocyte cells, promonocytes, monoblasts, and progenitor cells that are of the same morphological structure and structure under light microscopy.

DOI 10.31718/2077-1096.21.2.146

УДК 616.36 - 002:599.323.4

Мустафіна Г. М.

СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ ГЕПАТОЦИТІВ БІЛИХ ЩУРІВ

Полтавський державний медичний університет

В даний час відомо, що печінка є поліфункціональним органом з надскладною структурною організацією, в якому, більше 80% клітинної популяції складають гепатоцити - органоспецифічні клітини, які беруть участь в поглинанні, синтезі, накопиченні різних речовин, що виділяються згодом в кров або в жовч. Метою дослідження було отримання на світлооптичному рівні сукупності морфологічних даних, що характеризують особливості будови гепатоцитів білих щурів. Дослідження виконано на 10 безпородних білих щурах обох статей, масою $204 \pm 0,67$ г. Всі дослідження були проведені відповідно до норм біоетики та етичних принципів роботи з експериментальними тваринами. З препаратів печінки виготовлялися традиційні парафінові блоки і напівтонкі зрізи, які вивчалися за допомогою світлового мікроскопа. Проведеними дослідженнями встановлено, що в тканині печінки інтактних білих щурів в кількісному відношенні переважають гепатоцити. Розмірні характеристики останніх досить варіабельні і коливаються в межах: поперечний розмір $15,38 - 19,41$ мкм., поздовжній $21,98 - 26,46$ мкм., а середній показник площі гепатоцитів відповідно $432,50 \pm 40,93$ мкм². Середній діаметр ядер склав $7,61 \pm 0,25$ мкм, площа ядер $45,46 \pm 3,06$ мкм². Враховуюче виявлене, середне-арифметично площа цитоплазми складає $387,03 \pm 41,03$ мкм², а ядерно-цитоплазматичне співвідношення гепатоцитів відповідно в середньому становить $0,119 \pm 0,01$. Переважна кількість гепатоцитів мали одне ядро, відносна кількість таких клітин склала 79,41%. Відповідно 20,59% гепатоцитів містили два ядра, трьохядерних клітин виявлено не було. Виявлено, що тканина печінки білих щурів контрольної групи представлена переважно гепатоцитами з помірною кількістю рівномірно розподілених гранул глікогену, що займають переважно проміжні відділи печінкових часточок. Дослідженням напівтонких зрізів встановлена поліморфність популяції гепатоцитів, серед яких на підставі тінкторіальних властивостей ядра та цитоплазми можливо виділити чотири типи гепатоцитів, при цьому кількісно переважають гепатоцити з помірною базофілією цитоплазми та темним ядром. Висловлюється припущення, що на класичних гістологічних препаратах морфологічна картина гепатоцитів обумовлена, в першу чергу, кількістю глікогену в цитоплазмі, а на напівтонких зрізах, вочевидь знаходять відображення й інші функціональні особливості окремих печінкових клітин, такі як ступінь продукції жовчі, секреції білків, жирів та інших речовин. Таким чином особливості структурної організації різних типів гепатоцитів необхідно враховувати при диференціальній діагностиці нормального функціонального стану клітин і розвитку в останніх дистрофічних процесів.

Ключові слова: печінка, гепатоцити, білі щури, глікоген, ядра.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження є фрагментом планової науково-дослідної роботи "Закономірності морфогенезу органів, тканин та судинно-нервових утворів у нормі, при патології та під впливом екзогенних чинників", № держреєстрації 0118U004457.

Структурна організація печінки, зміни що виникають в ній під дією різних патогенних ендотаксогенних факторів є об'єктом численних експериментальних і клінічних досліджень [1]. В даний час відомо, що печінка є складноорганізованим поліфункціональним органом, в якому, бі-

льше 80% клітинної популяції складають гепатоцити - органоспецифічні клітини, які беруть участь в поглинанні, синтезі, накопиченні різних речовин, що виділяються згодом в кров або в жовч [2,3].

Значна частина робіт останніх років присвя-

чена вивченню структурних і функціональних змін печінки, за умови розвитку в умовах експериментальної патології, що обумовлює необхідність детального вивчення окремих структурних компонентів печінки основних лабораторних тварин [1].

Мета дослідження

Отримання на світлооптичному рівні сукупності морфологічних даних, що характеризують особливості будови гепатоцитів білих щурів.

Матеріали та методи

Робота виконана на 10 безпородних білих щурах обох статей, масою $204 \pm 0,67$ гр. Всі дослідження були проведені згідно Закону України про захист тварин від жорстокого поводження [4] та відповідно до принципів прийнятих Європейською конвенцією про захист тварин (Страсбург, 2005) та Гельсінською декларацією Всесвітньої медичної асоціації, переглянутої 59-ю Генеральною асамблеєю ВМА (Сеул, 2008), що востаннє розглядалися в Україні VII-м Національним конгресом з біоетики в 2019 році [5,6].

Після етаназії шляхом введення тварин у глибокий тіопенталовий наркоз (з розрахунку 200 мг/кг маси) проводилось вилучення печінки. З різних відділів печінки лезом бритви вирізали фрагменти паренхіми розмірами $9 \times 5 \times 5$ мм., які фіксувалися протягом 1 доби в нейтральному 10% формаліні, та фрагменти $5 \times 3 \times 3$ мм, які фіксували в 2,5% розчині глютарового альдегіду. Фіксований в формаліні матеріал після зневоднення за стандартною методикою заливали рідким парафіном за допомогою станції для заливки парафінових блоків «Microt». З парафінових блоків на ротаційному мікротомі фірми «Leica» виготовляли зрізи товщиною 5-7 мкм, які фарбували гематоксиліном-еозином і карміном Беста. Матеріал, фіксований в глютаровому альдегіді, після зневоднення в спиртах і ацетоні заливали в ЕПОН-812, за правилами, прийнятим в електронній мікроскопії, з подальшим виготовленням напівтонких зрізів [7,8].

Вивчення мікропрепаратів і визначення морфометричних параметрів проводили за допомогою мікроскопа Olympus BX 41, з цифровою мікрофотонасадкою і пакетом доданих ліцензійних програм. Обробку отриманого матеріалу проводили за загальноприйнятими правилами варіаційної статистики [9].

Результати та обговорення

Проведеними дослідженнями встановлено, що в інтактній печінці білих щурів гепатоцити є домінуючими клітинами, помітно переважаючими в кількісному відношенні над іншими клітинними елементами (Рис.1.). На класичних гістологічних препаратах більшість гепатоцитів мали чіткі контури, полігональну форму, при цьому середні їх розміри становили: поперечний $17,42 \pm 1,11$ мкм., поздовжній $24,79 \pm 1,67$ мкм. Дані по-

казники були досить варіабельні і коливалися в межах: поперечний розмір 15,38 - 19,41 мкм., поздовжній 21,98 - 26,46 мкм. Отже, середній показник площі гепатоцитів склав $432,50 \pm 40,93$ мкм².

Цитоплазма гепатоцитів характеризувалася амфотильністю і в ряді випадків помірною гранулярністю, що, очевидно, обумовлено функціональним станом кожної окремої клітини (Рис.1.). У перинуклеарній зоні мали місце незначні агрегації базотильного матеріалу, які відповідають локалізації гранулярної ендоплазматичної мережі і добре вирізняються на тлі порівняно блідо забарвленої цитоплазми.

Ядра мали правильну округлу, дещо рідше еліпсоїдну форму, розташовувалися в центрі клітин і містили від одного до чотирьох ядерць. Середній діаметр ядер гепатоцитів, згідно з проведеними морфометричними дослідженнями склав $7,61 \pm 0,25$ мкм, площа ядра $45,46 \pm 3,06$ мкм²., відповідно ядерно-цитоплазматичне співвідношення в печінкових клітинах білих щурів складало, в середньому $0,119 \pm 0,01$.

Слід зазначити, що більшість гепатоцитів мали одне ядро, відносна кількість таких клітин складала 79,41%. Відповідно 20,59% гепатоцитів містили два ядра, трьохядерних клітин виявлено не було (Рис.1.).

У деяких гепатоцитів цитоплазма, на препаратах забарвлених гематоксиліном і еозином мала сітчастий характер. Останнє, побічно свідчило про наявність в таких клітинах значної кількості глікогену. Дане припущення підтверджується при фарбуванні гістологічних препаратів карміном Беста. Після проведення описаної гістохімічної реакції, глікоген у вигляді яскраво-червоних дрібних гранул було виявлено практично у всіх печінкових клітинах (Рис.2.).

При цьому кількість і характер розподілу гранул глікогену в цитоплазмі помітно відрізняється в окремих досліджуваних клітинах. На підставі даної ознаки, гепатоцити з певною часткою умовності можна розділити на три типи.

Так, найбільш часто зустрічаються гепатоцити з помірною кількістю гранул глікогену, розподіл яких в цитоплазмі має дифузний, відносно рівномірний характер. До другого типу відносяться печінкові клітини з нечисленними, а інколи й поодинокими гранулами глікогену, що зустрічаються дещо рідше.

Очевидно, цитоплазма цих клітин на препаратах забарвлених гематоксиліном-еозином має більш інтенсивне забарвлення. Найбільш рідко виявлено гепатоцити третього типу, в яких гранули глікогену займають практично всю цитоплазму і зливаючись між собою, утворюють в ряді випадків досить великі неправильної форми включення (Рис.2.). Подібні клітини при фарбуванні гематоксиліном і еозином, швидше за все, будуть характеризуватись слабкою інтенсивністю фарбування цитоплазми.

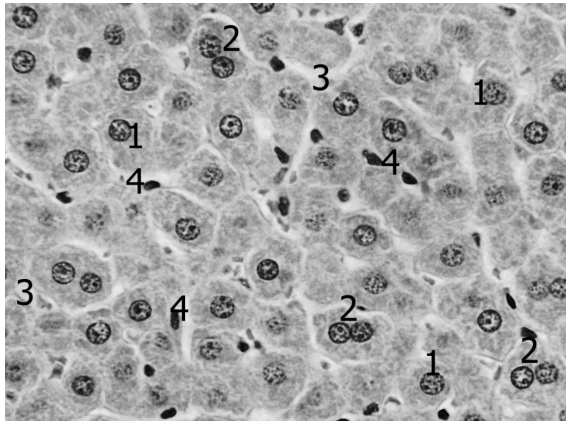


Рис. 1 Будова печінки білих щурів. Забарвлення гематоксилином і еозином. Об. 40^х, ок. 10^х.

- 1 - одноподібні гепатоцити; 2 - двоядерні гепатоцити;
3 - внутрішньодолькові синусоїди;
4 - клітинні елементи синусоїдів.

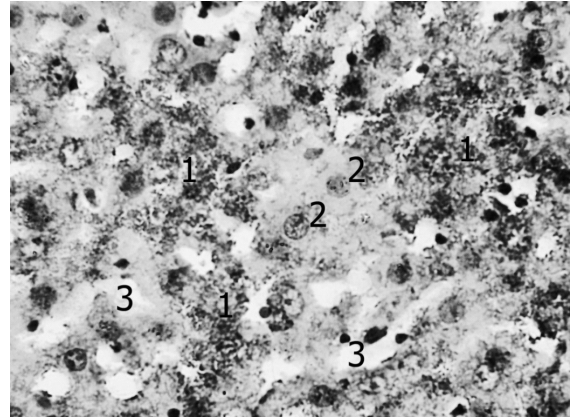


Рис. 2 Будова печінки інтактних білих щурів. Забарвлення карміном Беста. Об. 40^х, ок. 10^х.

- 1 - гепатоцити зі значною кількістю глікогену в цитоплазмі;
2 - гепатоцити з помірною кількістю глікогену в цитоплазмі; 3 - внутрішньодолькові синусоїдні капіляри.

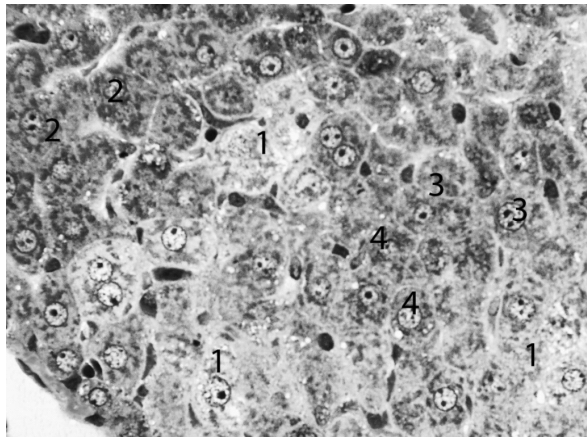


Рис. 3. Гепатоцити білих щурів. Напівтонкий зріз. Забарвлення поліхромним методом. Об. 40^х, ок. 10^х.

- 1 - гепатоцити зі світлою цитоплазмою; 2 - гепатоцити з темною цитоплазмою;
3 - гепатоцити з помірно базофільною цитоплазмою; 4 - гепатоцити з фуксинофільними включеннями цитоплазми.

Також, слід відзначити наявність закономірності в локалізації описаних вище різновидів гепатоцитів. Так, гепатоцити третього типу зазвичай розташовувалися в центрі печінкових часточок, поблизу центральних вен, маючи тенденцію до групового розташування. Гепатоцити з незначним вмістом глікогену частіше зустрічалися в периферичних відділах часточок. Печінкові клітини з помірним вмістом гранул глікогену, займали переважно проміжні частини печінкових часточок, при цьому серед них в кластерному порядку виявлялися гепатоцити другого і третього типів.

Виявлене відповідає даним літератури, згідно з якими відкладення глікогену в печінці людини і ряду тварин відбувається від центру печінкових часточок до периферії [3,10,11]. Отже, найбільшу кількість глікогену містять гепатоцити центральних відділів часточок, найменшу - периферичних, що й обумовлює їх морфологічні особливості описані вище.

На напівтонких зрізах гепатоцити є ще більш поліморфною популяцією, що в повній мірі не

можливо пояснити виключно кількістю глікогену що міститься в цитоплазмі. Так, на підставі тинкторіальних властивостей цитоплазми представляється можливим розрізнити як мінімум чотири типи гепатоцитів.

До першого, найбільш поширеного типу, відносяться гепатоцити, для яких характерна помірна базофільність цитоплазми (Рис.3). При цьому остання, може мати як відносно рівномірне забарвлення, так і виражену глибоку структуру. Для описаних клітин частіше характерне темне ядро.

До другого типу слід віднести печінкові клітини зі світлою, практично «оптично порожньою» цитоплазмою. Для таких клітин частіше характерне світле ядро з чітко візуалізованим ядерцем. Дані гепатоцити зустрічаються досить рідко, характеризуються солітарним розташуванням, і будь-якої закономірності в їх топографії щодо структур печінкової часточки виявити не представляється можливим (Рис.3.).

Гепатоцити третього типу зустрічаються вкрай рідко, розташовуються у вигляді дрібних

груп поблизу порталних трактів і характеризуються інтенсивним рівномірним фарбуванням цитоплазми і темним ядром.

До четвертого типу належать клітини, як зі світлою, так і з інтенсивно забарвленою цитоплазмою. Основною відмінною рисою даних клітин слід вважати наявність в цитоплазмі червоних, фуксинофільних, глибчатих включень, що чітко проявляються при фарбуванні напівтонких зрізів поліхромним методом (Рис.3.).

Кількість останніх, гепатоцитів, коливається в досить широкі межі, в зв'язку з чим, зустрічаються гепатоцити, як з поодинокими включеннями, так і з численними, що займають більшу частину цитоплазми. Даний тип печінкових клітин може мати як світлі так і темні ядра. Слід зазначити, що на напівтонких зрізах двоядерні клітини найчастіше зустрічалися серед гепатоцитів першого і третього типів.

Таким чином, якщо на класичних гістологічних препаратах морфологічна картина гепатоцитів обумовлена, в першу чергу, кількістю глікогену в цитоплазмі, то на напівтонких зрізах, вочевидь знаходять відображення й інші функціональні особливості окремих печінкових клітин, такі як ступінь продукції жовчі, секреції білків, жирів та інших речовин.

Висновки

Гепатоцити білих щурів за загальними характеристиками будови на світлооптичному рівні принципово подібні таким у людини.

Гепатоцити інтактних білих щурів являють собою відносно поліморфну клітинну популяцію, яка виявляється при використанні різних гістологічних методик на світлооптичному рівні дослідження, що може бути пов'язано з функціональним станом даних клітинних елементів.

Особливості структурної організації різних типів гепатоцитів необхідно враховувати при диференціальній діагностиці нормального функціонального стану клітин і розвитку в останніх

дистрофічних процесів.

Перспективи подальших досліджень

Надалі планується детальне вивчення морфологічних особливостей клітинних елементів внутрішньодолькових кровоносних синусоїдних капілярів печінки білих щурів.

Література

1. Mustafina HM, Starchenko II, Koka VM [ta in.] Suchasni pohliady na funktsionalnu morfolohiiu ta reparatyvni vlastyvoli pechinky [Modern views on the functional morphology and reparative properties of the liver]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*. 2020; 2 (156): 43–48. (Ukrainian)
2. Maleev VV, Sitnikov IG, Bohonov MS. *Voprosy gepatologii* [Hepatology issues]. Sankt-Peterburg: Spets.Lit, 2016. 367 s. (Russian)
3. Miliukov VE, Murshudova KhM. Suchasni kliniko-anatomichni uiavlennia pro budovu i funktsii pechinky [Modern clinical and anatomical ideas about the structure and functions of the liver]. *Zhurn. anatomii i histopatol.* 2014; 1 (19): 64–70. (Ukrainian)
4. Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia: Zakon Ukrainy [On the protection of animals from cruelty: Law of Ukraine] (redaktsiia vid 13.02.2020). [Internet] Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy [cit. 01 Ber. 2021]. Dostupno: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15> (Ukrainian)
5. Helsinska deklaratsiia Vsesvitnoi medychnoi asotsiatsii "Etychni pryntsypy medychnykh doslidzhen za uchastiu liudyny u yakosti obiekta doslidzhennia" [Declaration of Helsinki by the World medical association "Ethical principles for medical research with human participation as an object of research"] (redaktsiia vid 01.10.2008). [Internet] Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy [cit. 01 Ber. 2021]. Dostupno: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/990_005 (Ukrainian)
7. VII Natsionalnyi konhres z bioetyky [VII National Congress on Bioethics] [Internet] Natsionalna akademiia medychnykh nauk Ukrainy [onovleno 09 Zhov. 2019; cit. 01 Ber. 2021]. Dostupno: <http://amnu.gov.ua/vii-nacionalnyj-kongres-z-bioetyky/> (Ukrainian)
8. Korzhevskiy DE, Gilyarov AV. *Osnovy gistologicheskoy tehniky* [Basics of histological technique]. SPb.: SpetsLit. 2010. 95s. (Russian)
9. Bahrii MM, Dibrova VA, Popadynets OH, Hryshchuk MI. *Metodyky morfologichnykh doslidzhen* [Methods of morphological research]. Vinnytsia: Nova knyha. 2016. 328 s. (Ukrainian)
10. Avtandilov GG. *Osnovy kolichestvennoy patologicheskoy anatomii* [Fundamentals of quantitative pathological anatomy]. M.: Meditsina. 2002. 239 s. (Russian)
11. Afanasev Yul, Yurina NA, Kotovskiy EF, i dr.; pod red. Afanaseva Yul, Yurinoi NA. *Gistologiya, embriologiya, tsitologiya: uchebnik* [Histology, embryology, cytology: textbook]. 6-e izd., pererab. i dop. M.: GEOTAR-Media. 2016. 800s. (Russian)
12. Voloshyna OV. *Morfologichna struktura hepatotsytiv pry aseptychnomu zapalenni ocherevyyny shchuriv* [Morphological structure of hepatocytes at aseptic inflammation of peritoneum in rats]. *Svit medytsyny ta biolohii*. 2018; 4 (66): 149–151. (Ukrainian)

Реферат

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕПАТОЦИТОВ БЕЛЫХ КРЫС

Мустафина Г.М.

Ключевые слова: печень, гепатоциты, белые крысы, гликоген, ядра.

В настоящее время известно, что печень является полифункциональным органом со сверхсложной структурной организацией, в котором, более 80% клеточной популяции составляют гепатоциты - органоспецифические клетки, которые участвуют в поглощении, синтезе, накоплении различных веществ, выделяемых впоследствии в кровь или в желчь. Целью исследования было получение на светооптическом уровне совокупности морфологических данных, характеризующих особенности строения гепатоцитов белых крыс. Исследование выполнено на 10 беспородных белых крысах обоих полов массой $204 \pm 0,67$ г. Все исследования были проведены в соответствии с нормами биоэтики и этических принципов работы с экспериментальными животными. Из препаратов печени изготавливались традиционные парафиновые блоки и полутонкие срезы, которые изучались с помощью светового микроскопа. Проведенными исследованиями установлено, что в ткани печени интактных белых крыс в количественном отношении преобладают гепатоциты. Размерные характеристики последних достаточно вариабельны и колеблются в пределах: поперечный размер $15,38 - 19,41$ мкм., продольный $21,98 - 26,46$ мкм., а средний показатель площади гепатоцитов соответственно $432,50 \pm 40,93$ мкм². Средний диаметр ядер составил $7,61 \pm 0,25$ мкм, площадь ядер $45,46 \pm 3,06$ мкм². Учитывая обнаруженное, средне-арифметически площадь цитоплазмы составляет $387,03 \pm 41,03$ мкм², а ядерно-цитоплазматического соотношения гепатоцитов соответственно в среднем составляет $0,119 \pm 0,01$.

Подавляющее количество гепатоцитов имели одно ядро, относительное количество таких клеток составила 79,41%. Соответственно, 20,59% гепатоцитов содержали два ядра, трех-ядерных клеток обнаружено не было.

Выявлено, что ткань печени белых крыс контрольной группы представлена преимущественно гепатоцитами с умеренным количеством равномерно распределенных гранул гликогена, занимающие преимущественно промежуточные отделы печеночных долек. Исследованием полутонких срезов установлена полиморфность популяции гепатоцитов, среди которых на основании тинкториальных свойств ядра и цитоплазмы можно выделить четыре типа гепатоцитов, при этом количественно преобладают гепатоциты с умеренной базофилией цитоплазмы и темным ядром. Высказывается предположение, что на классических гистологических препаратах морфологическая картина гепатоцитов обусловлена, в первую очередь, количеством гликогена в цитоплазме, а на полутонких срезах, очевидно находят отражение и другие функциональные особенности отдельных печеночных клеток, такие как степень продукции желчи, секреции белков, жиров и других веществ. Таким образом, особенности структурной организации различных типов гепатоцитов необходимо учитывать при дифференциальной диагностике нормального функционального состояния клеток и развития в последних дистрофических процессов.

Summary

STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF HEPATOCYTES IN WHITE RATS

Mustafina H.M.

Key words: liver, hepatocytes, white rats, glycogen, nucleus.

At present the liver is known as a polyfunctional organ of a highly complex structure, and more than 80% of the liver cell population is hepatocytes, organ-specific cells involved in the absorption, synthesis and accumulation of various substances subsequently secreted into the blood or bile. The aim of the study is to obtain at the light-optical level a set of morphological data characterizing the structural features of hepatocytes in white rats. The study was carried out on 10 outbred white rats of both sexes weighing 204 ± 0.67 g. All studies were carried out within the bioethical and ethical framework when using experimental animals. Traditional paraffin blocks and semi-thin sections were made from liver preparations and then studied using a light microscope. The studies have demonstrated that in the liver tissue of intact white rats, hepatocytes predominate in quantitative terms. The dimensional characteristics of the latter are quite variable and range within transverse size from $15.38 - 19.41 \mu\text{m}$, longitudinal size from $21.98 - 26.46 \mu\text{m}$, and the average area of hepatocytes, respectively varies from $432.50 \pm 40.93 \mu\text{m}^2$. The average diameter of the nuclei is $7.61 \pm 0.25 \mu\text{m}$, and the area of the nucleus is $45.46 \pm 3.06 \mu\text{m}^2$. Considering the findings, the arithmetic mean of the area of the cytoplasm is $387.03 \pm 41.03 \mu\text{m}^2$, and the nuclear – cytoplasmic ratio of hepatocytes, respectively, averages 0.119 ± 0.01 . The overwhelming number of hepatocytes has one nucleus, and the relative number of such cells makes up 79.41%. Accordingly, to 20.59% of hepatocytes contain two nuclei; tri-nuclear cells have not been found. The study has revealed that the liver tissue of the white rats of the control group is represented mainly by hepatocytes with the moderate number of evenly distributed glycogen granules, occupying mainly the intermediate parts of the hepatic lobules. The study of semi-thin sections has shown the polymorphism of the of hepatocytes, among which, on the basis of tinctorial properties of the nucleus and cytoplasm, four types can be distinguished, while hepatocytes with moderate basophilia of the cytoplasm and a dark nucleus predominate quantitatively. It is suggested that the morphological picture of hepatocytes on classical histological preparations is primarily due to the amount of glycogen in the cytoplasm, while on semi-thin sections, other functional features of individual liver cells are observed including the intensity of bile production, secretion of proteins, fats and others substances. Thus, the features of the structure of various types of hepatocytes must be considered in the differential diagnosis of the functional state of liver cells.