

УДК 611.36:616-089.843:[618.46+613.166.9]

В.І. Шепітько

РЕАКЦІЇ СТРУКТУРНИХ ЕЛЕМЕНТІВ ПЕЧІНКИ НА ТРАНСПЛАНТАЦІЮ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ ТА ЕКЗОГЕННИЙ ПОДРАЗНИК (РОЗРІЗ)

Українська медична стоматологічна академія (м. Полтава)

Вступ. Проблема трансплантації органів, тканин і клітин є актуальною [1, 6]. В цій проблемі окреме місце займає трансплантація тканин і клітин, як альтернатива трансплантації органів, та вивчення ефективності їх використання в медицині. На сьогоднішній час фетальні і плацентарні тканини активно застосовуються при різних патологічних процесах у випадку неефективності стандартних методів лікування [2,7]. Як показують попередні експериментальні дослідження, трансплантація фетальних тканин робить виражений стимулюючий вплив на різні органи і системи, що пояснюється наявністю в них великої кількості фетальних білків, факторів росту, цитокінів, інтерлейкінів [3, 8, 9]. Тканина печінки однієї з перших реагує на введення різних екзогенних факторів. Ступінь гепатотропного впливу може бути різним і варіювати від різко вираженої репаративної регенерації у відповідь на альтерацію клітин, до неспецифічної стимуляції фізіологічної регенерації на підпорогові подразники [4, 5, 11]. В той же час в літературі відсутні дані про вплив кріоконсервованої плаценти на структурні елементи печінки в порівнянні з дією екзогенних подразників.

Метою роботи було дослідження реакції структурних елементів печінки на трансплантацію кріоконсервованого фрагмента аlogenної плаценти в порівнянні з екзогенним подразником (розріз).

Об'єкт і методи дослідження. Робота є фрагментом НДР „Розробка нових кріобіологічних технологій, використання кріоконсервованих ембріональних клітин, тканин людини та тварини в медицині”, № державної реєстрації 0199U000323. Експеримент

проведено на статевозрілих кроликах-самках, породи „Шиншила” в кількості 25 тварин, У експериментальній групі (n=20) проводилась трансплантація кріоконсервованої плаценти (ТКП) по методу, розробленому в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини ВАН України (м. Харків), Контролем служила печінка інтактних тварин, та тварин (n=5) яким проводився розріз шкіри, без трансплантації. У терміни 2, 7, 14, 30, 60 діб після ТКП тварин піддавали евтоназії. Для гістологічного дослідження шматочки печінки фіксували в 10% розчині формаліну, Целлоїдин-парафінові зрізи, фарбували гематоксиліном Ерліха і еозином, глікопротеїни в клітинах виявляли реактивом Шиффа. Оцінювалась інтенсивність реакції на глікоген по чотирьох-бальній системі (0 до 3 бали). Підрахунок двоядерних і купферових клітин у кожному варіанті досліду проводився в 20 полях зору. Результати дослідження опрацьовані методом варіаційної статистики, Робота виконана на базі відділу кріоморфолопії інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАНУ (Харків).

Результати дослідження. У групі інтактних тварин (без розрізу) (рис. 1) мікроскопічно на препаратах, виявляються ділянки печінкової сполучнотканинної стромы, При малому збільшенні чітко помітні печінкові часточки з центральною веною і печінкова триада, до складу якої входять печінкова артерія, вени, жовчна протока, а в окремих часточках і лімфатична судина. Уся триада оточена сполучнотканинною стромою. У самій часточці визначаються звиті трабекули, на поверхні яких розташовані печінкові клітини в 1-2 шари, між трабекулами проходять синусоїди, які відкри-

ваються в центральну вену. Мікросудини нормального кровонаповнення. Трабекули добре структуровані. Гепатоцити, в основному, містять великі округлі ядра з ніжно-сітчастим хроматином. В цитоплазмі при фарбуванні Шифф-реактивом виявляються пурпурно пофарбовані глибки глікогену. Сполучна тканина в зоні триад слабо розвинена. Купферові клітини невеликі і мають овальну форму з гіперхромним серпоподібним ядром і світлою цитоплазмою. Зустрічаються двоядерні клітини (16%) та поодинокі з пікнотичними ядрами. У 2-й групі тварин (контроль з розрізом) в усіх термінах

спостереження печінкові часточки зберігають свою структуру, у трабекулах гепатоцити розташовані в 1-2 шари. Сполучна тканина в зоні триад слабо розвинена. Гепатоцити в основному світлі, містять гіперхромні ядра середнього розміру, які займають центральне положення. Цитоплазма містить грубозернисті і еозинопофарбовані гранули. Купферові клітини великі і мають зірчасту форму. Кількість двоядерних гепатоцитів у всіх термінах спостереження, та в порівнянні з контролем достовірно не відрізняється. У цілому структура печінки не відрізняється від контролю. Через 2-і доби після ТКП паренхіма печінки добре структурована. Виражена судинна реакція відсутня. Поблизу портальної вени гепатоцити в основному двоядерні з гомогенною пофарбованою цитоплазмою. Число їх досягає 18%, що свідчить про розвиток явищ фізіологічної регенерації. Збільшення кількості двоядерних клітин статистично недостовірне при порівнянні з контролем. Ядра з ніжно-сітчастим хроматином, Купферові клітини нечисленні, невеликі, мітози не виявлені. На 7 добу (рис. 2) після ТКП мікроскопічно визначається добре структурована паренхіма печінки. Судини нормального кровонаповнення. Гепатоцити невеликі з мілко



Рис. 1 Гістоструктура печінки. Контроль. (Пояснення по тексту) Гематоксилін-еозин. Об. 20, ок. 10

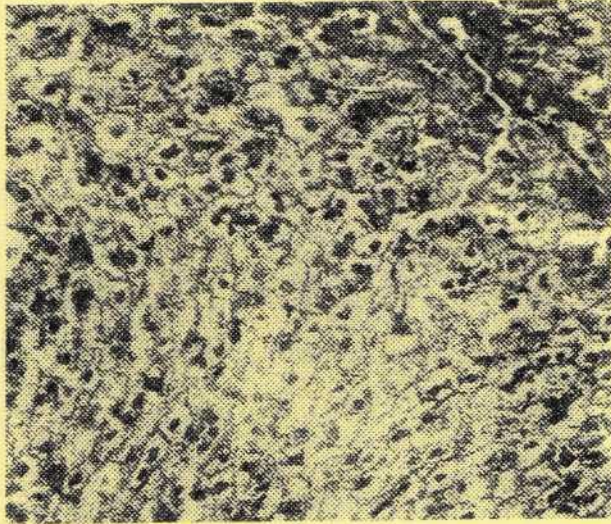


Рис. 2 Гістоструктура печінки. 7-а доба. Невеликі з мілко дисперсною, гомогенно пофарбованою цитоплазмою гепатоцити, ядра середнього розміру, гіперхромні. Купферові клітини нечисленні, невеликі (Пояснення по тексту) Гематоксилін-еозин. Об. 20, ок. 10

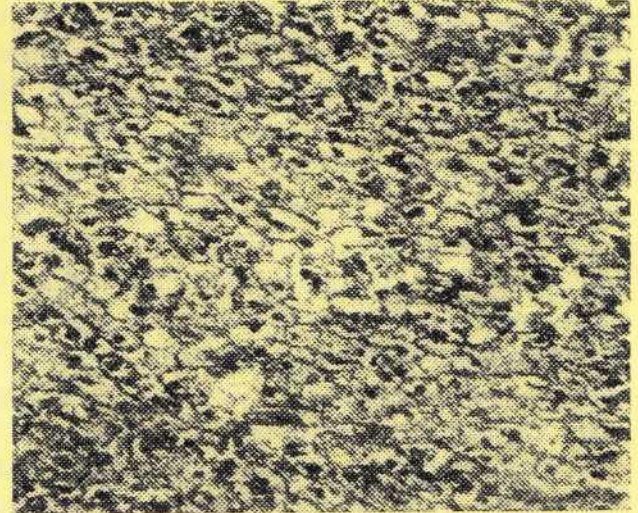


Рис. 3 Гістоструктура печінки. 14-доба. Посилене нагромадження глікогену. Купферові клітини з невеликими гіперхромними ядрами, мають зірчасту форму (Пояснення по тексту). Гематоксилін-еозин. Об. 20, ок. 10

дисперсною, гомогенно пофарбованою цитоплазмою, ядра середнього розміру, гіперхромні. Кількість двоядерних гепатоцитів збільшується в 3 рази при порівнянні з контролем ($P < 0,01$). Купферові клітини нечисленні (до 6%), невеликі. Зустрічаються клітини з поліплоїдними, великими гіперхромними ядрами. Кількість глікогену в клітинах оцінена нами в 2+ бали. На 14-у добу після ТКП (Рис. 3) спостерігалось посилене нагромадження глікогену (3+ бали) у гепатоцитах. На препаратах, пофарбованих гематоксиліном і еозином гепатоцити великі з незабарвленою порожньою цитоплазмою, із круглими, невеликими, гіперхромними ядрами. Відзначаються одиничні двоядерні клітини. При порівнянні з контролем кількість їх зменшилась в 2,5 рази ($P < 0,05$), Купферові клітини з невеликими гіперхромними ядрами, мають зірчасту форму. Судини звичайного кровонаповнення. Орган знаходиться в нормальному, фізіологічно активному, стані. Через 30 діб в структурі печінки при ТКП мікроскопічно виявляється повнокров'я синусоїдів, гепатоцити знаходяться в активному стані: ядра великі з ниткоподібним хроматином. Відзначаються поодинокі двоядерні гепатоцити, цитоплазма яких мілко дисперсна, гомогенно пофарбована. Відзначається зменшення їх кількості в порівнянні з контролем при $P < 0,1$. Стан паренхіми печінки в цей строк спостереження відповідає такому на 2-у добу даного впливу. Через 60 діб спостереження після ТКП на препаратах сполучна тканина печінкових часточок слабко розвинена, переважають темні гепатоцити, кількість двоядерних клітин складає 18,8% (їх збільшення кількості в порівнянні з контролем статистично недостовірне), зустрічаються поодинокі мітози. У цитоплазмі гепатоцитів печінки кількість глікогену складає 3+ бали.

Обговорення. Розглядаючи отримані результати, з погляду можливих ушкоджень і проявів репаративної чи фізіологічної регенерації [2, 7], при трансплантації фрагмента кріоконсервованої плаценти і дії екзогенного подразника (розріз) [5, 8] виявлено, що у групі тварин (контроль з

розрізом), протягом усього терміну спостереження, гістоструктура печінки не відрізняється від контролю. При трансплантації кріоконсервованої плаценти в ранній термін спостереження (до 14 доби) виявлена виражена реакція паренхіми у виді збільшення кількості двоядерних клітин. Це свідчить, що в органі відбувається фізіологічна перебудова з регенераційними процесами, без збільшення маси печінкових клітин. Морфологічний стан паренхіми печінки, характеризується великими, активно функціонуючими гепатоцитами з округлими світлими ядрами і рівномірно розташованим хроматином. Ознак репаративної регенерації не спостерігається, оскільки низький індекс мітозів гепатоцитів не відрізняється від контролю. У комплексі з іншими показниками, відсутністю ушкоджень структур можна говорити про функціональну повноцінність препаратів плаценти і про стимуляцію функціонального стану гепатоцитів. У пізній термін дослідження (30-60 діб) у печінці переважають, оптично щільні темні гепатоцити, які містять велику (3+ бали) кількість глікогену. Виявлене нами достовірне збільшення (14 доба) двоядерних гепатоцитів, а потім їх достовірне зменшення (60 доба) свідчить про активізацію адаптаційних та фізіологічних процесів в печінці. Алотрансплантація кріоконсервованої плаценти стимулює структурні елементи печінки, які відповідають за трофічну, захисну та інші функції органа не викликаючи їхніх ушкоджень. Морфологічна характеристика препаратів дозволила також зробити висновок, що кількість „темних” і „світлих” клітин на протязі експерименту варіює. У літературі „темні” і „світлі” клітини печінки розглядаються як клітини, що знаходяться в різному функціональному стані [5, 8]. У „світлих” клітинах відбувається інтенсивна секреторна діяльність, яка супроводжується зростанням їхньої фосфорильної функції [10]. Завершується процес просвітлення цитоплазми набряканням і редукцією крист в мітохондріях. „Темні” клітини - це молоді часточки, які

знаходяться у стані відносного спокою, але системі алотрансплантації відбувається по мірі наростання метаболічних процесів - інтенсифікація фізіологічної регенерації клітини просвітляються [4,12]. Таким чином, структурних елементів печінки, що від- у тканині печінки, збільшення кількості повідають за трофічну захисну й інші функції „темних” гепатоцитів свідчить про по-органа не викликаючи їхніх ушкоджень, мірний плин процесів фізіологічної ре-Перспективи: генерації. До кінцевого терміну спо- упродовження, та клінічна

апробація стереження гістоструктура печінки прий- результатів дослідження; має свій звичайний морфофункціональний-перспективним являється оцінка стан. Морфо функціонального стану других органів

Висновок. У відповідь на введення в і систем організму при алотрансплантації організм експериментальних тварин крі-кріоконсервованої плаценти, зокрема ооконсервованого фрагмента плаценти в наднирників, тимуса і других.

Список літератури:

1. Грищенко В.И. Фундаментальные и прикладные исследования в области криобиологии и криомедицины и перспективы основных направлений отрасли // Пробл. криобиологии. - 1993. - № 4. - С. 3-6. - 2. Грищенко В.И., Гольцев А.Н. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения // Пробл. криобиологии. - 2002. - № 1. - С. 54-85. - 3. Грищенко В.И., Юрченко Т.Н., Прокопюк О.С., Строна В.И., Снурников А.С. Низкотемпературное хранение эмбриональных и фетоплацентарных тканей в Украинском банке биологических объектов // Международный медицинский журнал. - 1999. - Т. 5, № 5. - С. 113-115. Кузнецова Э.Э., Никифоров С.Б., Кузнецов Н.П. и соавт. Функциональное состояние печени у больных коронарным атеросклерозом после проведения трансплантации комплекса фетальных тканей // Бюлл. exper. биол. и мед. - 1998. - Т. 126, - Прилож. 1. - С. 154-156. - 5. Лепехова С.А., Гладышев Ю.В., Гольдберг О.А., Рунович А.А. Влияние ксенотрансплантации фетальных тканей на ультраструктуру гепатоцитов при остром токсическом гепатите // Бюлл. exper. биол. и мед. - 1998. - Т. 126, - Прилож. 1. - С. 169-170. - 6. Репин В.С. Трансплантация клеток: новые реальности в медицине // Бюлл. exper. биол. и мед. - 1998. - Т. 126. - Прилож. 1. - С. 14-28. - 7. Хлыстова З.С. Закономерности превращения тканей в условиях их трансплантации // Бюлл. exper. биол. и мед. - 1994. - Т. 117. - № 4. - С. 341-349. - 8. Хлыстова З.С., Шмелева С.П., Минина Т.А. и соавт. Реакция печени мыши на введение фетальных тканей печени и плаценты человека // Бюлл. exper. биол. и мед. - 1998. - Т. 126. - Прилож. 1. - С. 176-178. - 9. Шепітько В.І., Козлова В.П., Юрченко Т.М., Строна В.І. Морфологічні аспекти механізму дії нативних і кріоконсервованих трансплантатів плаценти в експерименті // Трансплантологія. - 2000. - Т. 1, № 1. - С. 294-295. -(To) Dye J.F., Leach L, Clark P., Firth J.A. Cyclic AMP and acidic fibroblast growth factor have opposing effects on tight and adherents junctions in microvascular endothelial cells // Microvasc. Res, - 2001. - V. 62, № 2. - P. 94-113^£711. Lash G.E., Cartwright J.E., Whitley G.S. et all. The effects of angiogenic growth factors on extravillous trophoblast invasion and motility // Placenta. - 1999. - V. 20, № 8. - P. 661-667. - 12. Sakakura S., Saito S., Morikawa H. Stimulation of DNA synthesis in trophoblasts and human umbilical vein endothelial cells by hepatocyte growth factor bound to extracellular matrix // Placenta. -- 1999. - V. 20, № 8. - P. 683-693.

УДК 611.36:616-089.843:[618.46+613.166.9]

РЕАКЦИЯ СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПЕЧЕНИ НА
ТРАНСПЛАНТАЦИЮ КРИОКОНСЕРВОВАННОЙ ПЛАЦЕНТЫ И
ЭКЗОГЕННЫЙ РАЗДРАЖИТЕЛЬ (РАЗРЕЗ)

Шепитько В.И.

Резюме. В группе животных (контроль с разрезом), на протяжении всего срока наблюдения, ткань печени не отличается от контроля. При аллотрансплантации криоконсервированной плаценты в ранний срок наблюдения (14 сут) выявленная выраженная реакция паренхимы в виде увеличения количества двудерных клеток (физиологическая перестройка с регенерационными процессами, без увеличения массы печеночных клеток). Выявлены большие, активно функционирующие, гепатоциты с округлыми светлыми ядрами и равномерно расположенным хроматином. Стимулируются структурные элементы печени, которые отвечают за трофическую, защитную и прочие функции органа не вызывая их повреждений. Увеличения количества „темных” клеток свидетельствует о состоянии покоя в течении процессов физиологической регенерации. К конечному сроку наблюдения ткань печени принимает свое обычное структурнофункциональное состояние.

Ключевые слова: Трансплантация плаценты, морфология печени, гепатоциты.

UDK 611.36:616-089.843:[618.46+613.166.9]

REACTION OF STRUCTURAL ELEMENTS OF LIVER ON
TRANSPLANTATION OF KRIOKONSERVOVANNOY PLACENTA
AND EXOGENOUS IRRITANT (CUT)

Shepitko V.I.

Summary. In the group of animals (control with a cut), during all term of supervision, fabric of liver does not differ from the control. At allotransplantatsii kriokonservirovannoy placentas in the early term of supervision (14 sut) the exposed expressed reaction of parenhimi as an increase of amount of dvuyaaernih mews (physiological alteration with regeneration processes, without the increase of mass of hepatic mews). The large are exposed, is active functioning, gepatotsiti with the rounded light kernels and evenly located hromatinom. The structural elements of liver, which are responsible for trophic, protective and not causing other functions of organ their damages, are stimulated. Increases of amount „dark” mews testifies to the state of rest in the flow of processes of physiological regeneration. To the dead-line of supervision fabric of liver adopts the ordinary structural-functional state.

Keywords: Transplantation of placenta, morphology of liver, gepatotsiti.

Стаття надійшла 9.06.2003.