

THE ROLE OF THE NUCLEOLUS APPARATUS OF HEPATOCYTES IN REPARATIVE REGENERATION OF RABBIT LIVER

Isayeva Nilufar Zubidullayevna

Phd, Senior Lecturer

Alfraganus University, Department of Medicine.

<https://doi.org/10.5281/zenodo.14555154>

ARTICLE INFO

Received: 19th December 2024

Accepted: 24th December 2024

Online: 25th December 2024

KEYWORDS

Liver, hepatocyte, granular component of the nucleolus, migration, Tuglysid.

ABSTRACT

Morphological and morphometric indices of rabbit liver after administration of Tuglysid for 30 days showed a significant increase in the average area of hepatocytes and nuclei compared to the control group. The average area of hepatocytes was increased 1,10 times, the average area of nuclei was increased 1,08 times, the average area of nuclei was increased 1,20 times, the number of dinuclear cells was increased 1,16 times. hypertrophy of hepatocytes and an increase in the number of dinuclear hepatocytes indicates an increase in regenerative processes in the liver. The increase in the number of multinucleated hepatocytes, according to literature data, indicates the activation of protein-synthetic function of the liver cell.

РОЛЬ ЯДРЫШКОВОГО АППАРАТА ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ КРОЛИКОВ

Исаева Нилуфар Зубидуллаевна

Phd, старший преподаватель

Университет Альфраганус, кафедра «Медицина»

<https://doi.org/10.5281/zenodo.14555154>

ARTICLE INFO

Received: 19th December 2024

Accepted: 24th December 2024

Online: 25th December 2024

KEYWORDS

Печень, гепатоцит, гранулярный компонент ядрышка, миграция, Туглизид.

ABSTRACT

Морфологические и морфометрические показатели печени кроликов после введения препарата Туглизид в течение 30 дней, показали достоверное увеличение средней площади гепатоцитов и ядер по сравнению с группой контроля. Средняя площадь гепатоцитов увеличена 1,10 раза, средняя площадь ядер увеличено 1,08 раза, средняя площадь ядрышек увеличено 1,20 раза, количество двуядерных клеток увеличено 1,16 раза. гипертрофия гепатоцитов и увеличение количество двуядерных гепатоцитов говорит о усилении регенеративных процессов в



печени. Увеличение числа многоядрышковых гепатоцитов, согласно литературным данным, свидетельствует об активации белок-синтетической функции клетки печени.

QUYON JIGARINI REPARTIV REGENERATSIYADA GEPATOTSITLAR YADROCHA APPARATINING O'RNI

Isaeva Nilufar Zubidullaevna

Phd, katta o'qituvchi

Alfraganus universiteti, "Tibbiyot" kafedrası

<https://doi.org/10.5281/zenodo.14555154>

ARTICLE INFO

Received: 19th December 2024

Accepted: 24th December 2024

Online: 25th December 2024

KEYWORDS

*Jigar, gepatotsit, yadrochani
donador komponenti,
migratsiya, Tuglisid.*

ABSTRACT

30 kun davomida Tuglizid preparatini parenteral quyonlarğa jo'natgandan keyin jigaring morfologik va morfometrik ko'rsatkichlari nazorat guruhiga nisbatan gepatotsitlar va yadrolarning o'rtacha maydoni sezilarli darajada oshganini ko'rsatdi. Gepatotsitlarning o'rtacha maydoni 1,10 marta, yadrolarning o'rtacha maydoni 1,08 marta, yadrochalarning o'rtacha maydoni 1,20 marta, ikki yadroli hujayralar soni 1,16 marta ko'payadi. Gepatotsitlar gipertrofiyasi va ikki yadroli gepatotsitlar sonining ko'payishi jigarda regenerativ jarayonlarning kuchayishini ko'rsatadi. Ko'p yadroli gepatotsitlar sonining ko'payishi, adabiyot ma'lumotlariga ko'ra, jigar hujayralarining oqsil-sintetik funktsiyasi faollashishini ko'rsatadi.

Актуальность. Печень является уникальным органом, поддерживающим гомеостаз. Она осуществляет трансформацию экзогенных аминокислот, углеводов, липидов и витаминов, синтез сывороточных белков, образование желчи, детоксикацию и экскрецию в желчь эндогенных продуктов обмена и ксенобиотиков. Среди элементов ядерного аппарата гепатоцитов важное значение имеет очень маленькое тельце - ядрышко. Наши исследования показали, что при необходимости синтеза большого количества белка для нужд самой печени или организма, ядрышко гепатоцитов кроликов может мигрировать в цитоплазму и участвовать в синтетических процессах.[1, 2, 8]

Для изучения механизма регенерации применялись различные экспериментальные подходы, в основу которых было положено оценка регенерации печени, после её химического повреждения, хирургической резекции *in vivo*, а также исследования пролиферации гепатоцитов в первичной культуре в присутствии факторов риска *in vitro*.

Цель исследования. Изучить влияние Туглизида на ядрышковый аппарат гепатоцитов печени и её роль в регенеративных процессах печени у кроликов.



Материалы и методы. При выполнении данной работы, использована ткань печени. Из лабораторных животных использованы половозрелые кролики, обеих полов, породы Шиншилла, массой 2,5-3,0 кг ($n=22$), из них 8 - контрольных, они получали *per os* - физиологический раствор, 14 – опытных, которым в течение месяца вводили внутри желудочно 10 мг/кг «Туглизид». Все опыты на животных проводились с соблюдением принципов гуманного обращения с животными, изложенными в Хельсинской декларации и Европейской конвенций по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [2]. Животных содержали на стандартном рационе вивария со свободным доступом к корму и воде. На 30 сутки после применения Туглизид, животные подвергались декапитации под этаминаловым наркозом (40 мг/кг массы тела животного). Для морфометрического и светооптического исследований (микроскоп LEICA GALEN III) гистологические препараты фиксировали в 10%-м забуференном водном растворе формальдегида и проводили исследование по общепринятой методике. Морфометрическое исследование препаратов печени проводили при увеличении в 1000 раз на срезах толщиной 5 мкм, окрашенных гематоксилин-эозином, используя метод наложения точечных морфометрических сеток [1]. Определяли количество одноядерных и двоядерных гепатоцитов, диаметр гепатоцитов, ядер и ядрышек [10]. Статистическую обработку результатов исследования проводили методом вариационной статистики при помощи пакета программ «Statistica 10» с использованием параметрического *t*-критерия Стьюдента [3]. Различия сравниваемых величин считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Все экспериментальные работы выполнены с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для лабораторных или иных целей. Срезы для гистологических исследований окрашивали гематоксилин - эозином, а фотографирование препаратов производили при помощи микроскопа модели N-800M, под иммерсионным объективом ($\times 100$).

Результаты и обсуждения исследования: Печень кроликов исследовали на 30-ые сутки после введения препарата Туглизид. Светооптически печень кроликов, как многих других млекопитающих, представлена многочисленными дольками, границы которых отчетливо не выражены, а сами дольки состоят ориентированных к центральной вене печеночных пластинок и синусоидных капилляров. Стенки капилляров состоят из эндотелиальных и звездчатых клеток (клетки Купфера) Гепатоциты расположены в 2-3 ряда и имеют полигональную форму. Оксифильно окрашенная цитоплазма в центре содержит одно или два ядра.

Сопоставление всех этих явлений указывают, что они представляют собой мигрировавшие ГК. В тех случаях, когда тельце находится на некотором расстоянии от ядра и приобретает четкие контуры, что вероятно оно связано с обволакиванием уего кариолеммой. Кроме того, при миграции тельца уего объем несколько увеличивается, а нуклеолоплазма просветляется. Следует отметить, что миграция ГК из ядра в цитоплазму подобно митозу весьма редкое явление, тем не менее, при введении препарата Туглизид миграция ГК значительно чаще встречается, чем митоз.

Важно отметить, что мигрировавшие ГК оказываются вблизи ядра или же на некотором расстоянии от ядра, а иногда свободно располагается в цитоплазме вне связи с ядром. Во всяком случае после миграции ГК в цитоплазму происходит увеличение его объема с округлением контура, что вероятно связано с обволакиванием его ядерной оболочкой. Под действием Туглизид, чаще всего из ядра мигрирует один ГК, но в редких случаях нами были обнаружены одномоментный выход двух ядрышек из одноядерного или двуядерного гепатоцита (Рис. 1.А). При окраске срезов печени на ДНК по Фельгену отмечено, что фельгенположительные вещества в цитоплазме гепатоцита не обнаруживаются (Рис. 1.Б). В любом случае выделившееся ядрышко из небольшого плотного тельца превращается в округлое более крупное тело, значение которого остается неизвестной. Кроме того, при миграции ГК мы обращали внимание на состояние цитоплазмы, границы клеток, а также взаимоотношения с соседними клетками. Наши наблюдения показали, что границы существенно не меняются, т.е. отделение клетки от соседних гепатоцитов, или разделение цитоплазмы в виде цитотомии тоже не наблюдали.

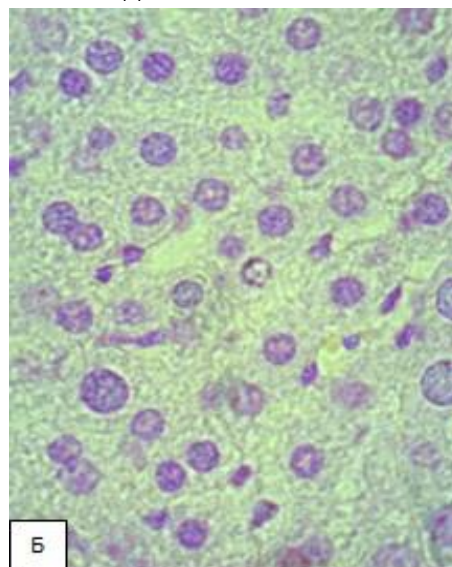
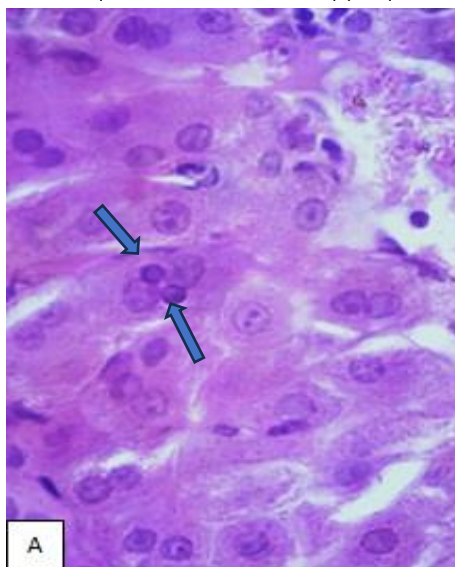


Рис. 1. Печень кролика после введения препарата Туглизид.

А. Окраска гематоксилин-эозином. Периферический участок дольки. В центре рисунка двуядерный гепатоцит с двумя выделившимися ГК, структура которых отличаются от структуры ядер. Ув.10 х10.

Б. Тот же случай. Окраска ДНК по Фельгену. Содержимое ядра окрашено в розовый цвет. Выделение части ядерного материала не заметно. Ув.10х10

В целом, исследование печени при введении препарата Туглизид показало, что печеночные пластинки хорошо сохранены, и гепатоциты имеют обычное строение, состояние синусоидов, портальных трактов, эпителия желчных протоков без существенных изменений, явлений дистрофии или деструкции паренхиматозных элементов не замечены.

Таким образом, наши исследования показали, что новое лекарственное средство Туглизид не проявляет побочные действия на структурные элементы печени, наоборот улучшает состояние печеночных клеток, специфически оказывая на активность ядрышек гепатоцитов, стимулирует миграцию ГК из ядра в цитоплазму.

Сопоставление топографии различных ядрышек, а также гистохимические реакции на РНК (Рис. 2.А.Б) убедительно доказали, что они являются мигрирующими ГК, которые проникают через ядерную оболочку, вероятно, обволакиваются ею, а в цитоплазме приобретают гладкие контуры и несколько увеличивается в объеме, однако дальнейшая судьба этих ядрышек остается неясной.

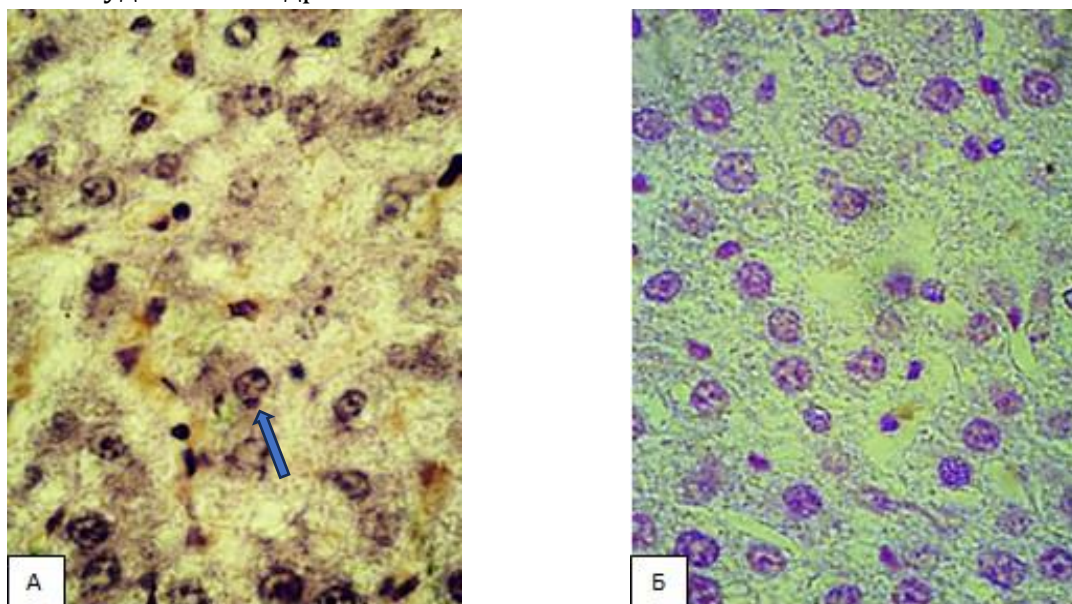


Рис. 2. Печень кролика при введении препарата Туглизид..

А. Стадия пенетрации ГК через ядерную оболочку. Окраска по Браше

Б. Тот же случай. Окраска по Фельгену, в цитоплазме гепатоцитов отсутствуют фельгенположительные вещества. Ув.10 x10 (иммерсия).

Полученные данные при введении Туглизид, подлежало проверке, ибо данное явление могло быть специфическим, т.е. характерным для кроликов, или же действительно могло быть результатом действия нового препарата. Для проверки этих предположений нами было проведено дополнительное экспериментальное исследование у 5-ти кроликов с исходным весом 2,5 – 3,0 кг было решено провести анализ гистологической картины печеночных клеток нормальных здоровых кроликов. Из полученных кусочков ткани печени были приготовлены гистологические препараты, которые после окраски были подвергнуты морфологическому анализу. Диаметр гепатоцитов составляет $228,6 \pm 3,7$ мкм, а ядра равно $874 \pm 1,3$ мкм. Гепатоциты содержат от одного до 3-4-х ядрышек. Количество двуядерных гепатоцитов составляют- $3,6 \pm 0,1$ мкм. Однако имея в виду, что чаще всего миграцию совершают ядрышки гепатоцитов локализованных вблизи портальных трактов, начали тщательно анализировать эти зоны.

Гистохимическое исследование печени кроликов показал, что ядрышки гепатоцитов при окраске пиронином по Браше выявляется в виде округлых телец малинового цвета. При окраске на РНК, как обычно, гепатоциты содержат от одного до 3-4-х ядрышек. Поиск мигрирующих ядрышек показал, что некоторые из них перемещаются из ядра в цитоплазму гепатоцита (см.рис.3).

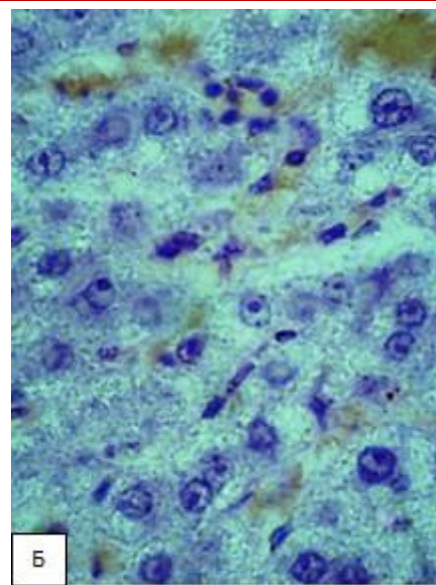
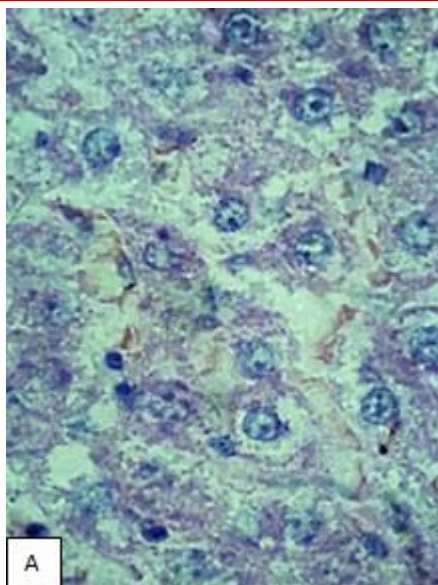


Рис 3. Печень кролика. Оркраска по Браше. РНК в ядрышке гепатоцита выявляется в виде округлых телец малинового цвета.

А. В двух центрально расположенных гепатоцитах отчетливо выделяются ядрышки, в одном находится в кариоплазме, в другом в плотном контакте с ядерной оболочкой.

Б. В центре рисунка несколько гепатоцитов содержат по ядрышку, различной локализации в кариоплазме, в одном из них отмечается выбухание ядрышка из ядра в цитоплазму. Ув. Об. х 100 (иммерсия).

Таким образом, хотя конкретно выходящих ГКЯ из ядра через ядерную оболочку в цитоплазму гепатоцитов среди клеток перипортальной зоны не обнаружено, однако они выявлены вдали от ядра, свободно локализованными тельцами в цитоплазме гепатоцитов. Схожесть этих телец, на обнаруженные тельца у кроликов при введении препарата Туглизид указывают, что у кроликов в этой зоне, по-видимому, имеется камбиальная зона, где, наряду с митозом, ГКЯ мигрируют из ядра в цитоплазму гепатоцита, что можно рассматривать как один из механизмов регенерации печени.

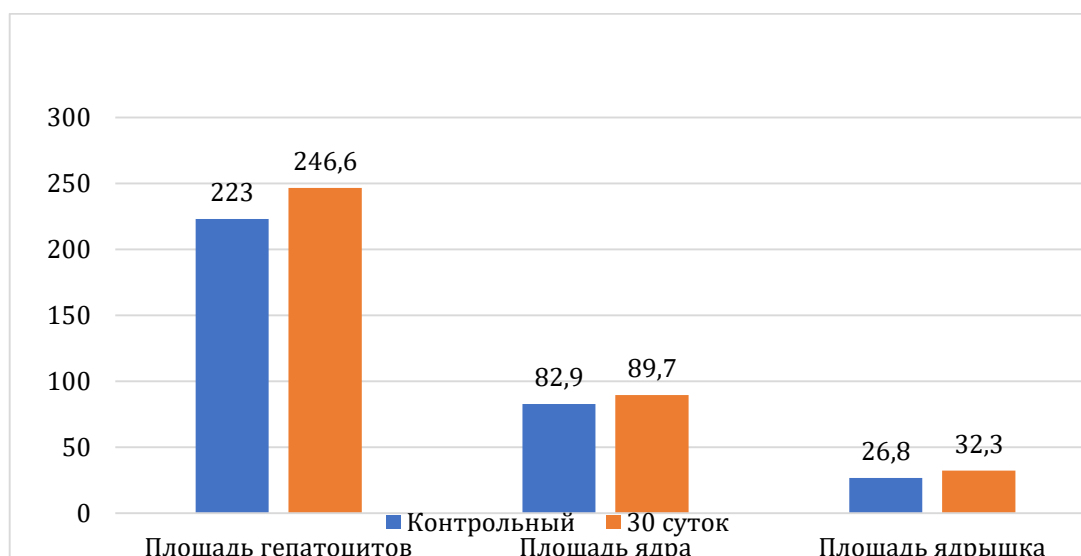
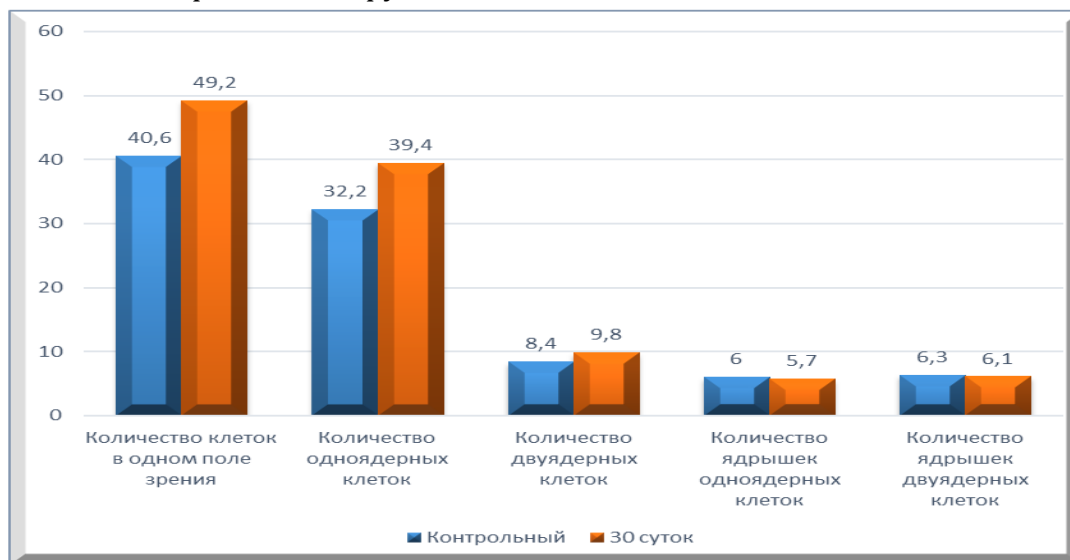
Данные морфометрического анализа гистологических срезов печени кроликов опытной и контрольной групп. Таблица 1

Показатели	Контрольный	30 кунлик
Количество клеток в одном поле зрения	$40,6 \pm 0,6$	$49,2 \pm 1,1^{***}$
Количество одноклеточных клеток	$32,2 \pm 0,3$	$39,4 \pm 0,8^{***}$
Количество двуклеточных клеток	$8,4 \pm 0,5$	$9,8 \pm 0,5^{**}$
Количество ядрышек одноклеточных клеток	$6,0 \pm 0,1$	$5,7 \pm 0,1$



Количество ядрышек двухъядерных клеток	$6,3 \pm 0,1$	$6,1 \pm 0,1$
Площадь гепатоцитов мкм ²	$223,0 \pm 2,4$	$246,6 \pm 3,7^{**}$
Площадь ядра мкм ²	$82,9 \pm 1,0$	$89,7 \pm 1,1^*$
Площадь ядрышка мкм ²	$26,8 \pm 0,4$	$32,3 \pm 0,6^{***}$
Выход гранулярного компонента ядрышка	$0,6 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1^{***}$ $P=0,0003$

Примечание: : * $p < 0,01$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,0001$; достоверность различий между интактными и контрольными группами.



Выводы: Результаты наших исследований показали, что, морфометрические показатели печени кроликов после введения препарата Туглизида в течении 30 дней,



резко изменились по сравнению с контрольными (интактными). У кроликов установлено достоверное увеличение средней площади гепатоцитов и ядер по сравнению с группой контроля. Средняя площадь гепатоцитов увеличена 1,10 раза ($246,6 \pm 3,7$), средняя площадь ядер увеличена 1,08 раза ($89,7 \pm 1,1$), средняя площадь ядрышек увеличена 1,20 раза ($32,3 \pm 0,6$), количество двуядерных клеток увеличено 1,16 раза ($9,8 \pm 0,5$) (таб. 4.1).

Таким образом, результаты морфометрических и статистических анализов показали достоверность наших исследований, гипертрафия гепатоцитов и увеличение количество двуядерных гепатоцитов говорит о усилении регенеративных процессов в печени [2, 51, 62, 64, 67, 68.] Уменьшение количества ядрышек связано с выходом уго фрагментов (ГК). Увеличение площади ядра говорит о возможной полиплоидизации, а увеличение площади ядрышек указывает на набухание перед миграцией его фрагментов. Выход фрагментов ядрышка (ГК) 2,3 раза больше по сравнению с контрольным, $p=0,0003$ ($1,4 \pm 0,1$), что является доказательством стимуляции Туглизида миграции ГК.

References:

1. Садриддинов А. Ф., Исаева Н. З., Муротов О. У. Новый механизм возникновения двуядерных клеток в печени //Морфология. – 2014. – Т. 145. – №. 3. – С. 168-168а.
2. Исаева Н. З. Экспериментал токсик гепатитда жигар ядро аппаратининг морфофункционал хусусиятлари //Eurasian Journal of Medical and Natural Sciences. – 2024. – Т. 4. – №. 6. – С. 213-220.
3. Исаева Н. З., Мухамеджанов А. Х. Сравнительный анализ ядерного аппарата гепатоцитов млекопитающих при различных видах репаративной регенерации //Eurasian Journal of Medical and Natural Sciences. – 2024. – Т. 4. – №. 9. – С. 84-91.
4. Садриддинов А. Ф., Исаева Н. З., Бахромова Н. А. Реальна ли миграция ядрышка из ядра в цитоплазму гепатоцита? //Морфология. – 2020. – Т. 157. – №. 2-3. – С. 182-182.
5. Садриддинов А. Ф. и др. Цитоархитектоника и микроциркуляторное русло классической печеночной доли в период реканализации желчного протока //морфология. – 2016. – т. 149. – №. 3. – с. 176-176а.
6. Хельсинская декларация всемирной медицинской ассоциации: этические принципы медицинских исследований с участием человека в качестве объекта исследования (Сеул,2008). Морфология. 2010;2(4):69-72
7. Зацепина О.В. Локализация ДНК в ядрышках клеток млекопитающих. «Цитология». 1992. т. 34. № 5. С.34-39.
8. Бабаева А.Г. Регенерация: факты и перспективы / Бабаева А.Г. – М.: Издательство РАМН, 2009. – 336 с.
9. Романова ЛП, Малышев ИИ. Роль двуядерных гепатоцитов в регенерации печени после механической травмы в раннем онтогенезе у крыс. Вестн Чувашского Ун-та. 2011; 3:398-402.
10. Скуратов АГ, Лызилов АН, Зиновкин ДА, Чешик ИА, Петренев ДР. Морфометрические параметры регенерации печени при частичной гепатэктомии и



трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте. Весті Нац Акад Навук Беларусі. Сер Мед Навук. 2016; 4:57-65.

11. St. Mironescu and C. Dragomir, Nucleolar Behavior in Regenerating Liver of Normal and Whole-bodyirradiated Rats. Cancer Res. 1967;27:1819-1830.

12. Boisvert F.M., van Koningsbruggen S., Navascues J., Lamond A.I. The multifunctional nucleolus. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2007, 8:574–585

13. Hernandez-Verdun D The nucleolus: a model for the organization of nuclear functions. Histochem Cell Biol. 2006, 126:135–148

14. Sadriddinov A. F., Isaeva N. Z. Stages Of Migration Of Nucleolus Of Hepatocytes In Some Mammalian Species //Solid State Technology. – 2020. – T. 63. – №. 6. – С. 15275-15283.