



COMPARATIVE ANALYSIS OF THE NUCLEAR APPARATUS OF MAMMALIAN HEPATOCYTES DURING VARIOUS TYPES OF REPARATIVE REGENERATION

Isaeva Nilufar Zubidullaevna

Senior teacher of the Department of Medicine, University Alfraganus
Ph.D

Mukhamedjanov Alisher Khakimjanovich

Associate professor of the Department of Medicine, University
Alfraganus candidate of medical science
<https://doi.org/10.5281/zenodo.13777700>

ARTICLE INFO

Received: 12th September 2024

Accepted: 17th September 2024

Online: 18th September 2024

KEYWORDS

Liver, hepatocyte, nucleolus,
extrusion, Togliside, granular
component.

ABSTRACT

A new phenomenon has been discovered in the liver of mammals: extrusion of the granular component of the nucleolus into the cytoplasm of hepatocytes, which is stimulated both by drugs for experimental toxic hepatitis and by partial resection of the liver. It is assumed that extrusion of GC from the nucleolus promotes enhanced protein synthesis by liver cells and, therefore, may have a significant role in the regenerative processes of the liver, and possibly the whole organism.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЯДЕРНОГО АППАРАТА ГЕПАТОЦИТОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ

Исаева Нилуфар Зубидуллаевна

Университет Альфраганус, Кафедра медицины, PhD, старший преподаватель

Мухамеджанов Алишер Хакимжанович

Университет Альфраганус, Кафедра медицины, к.м.н. доцент

<https://doi.org/10.5281/zenodo.13777700>

ARTICLE INFO

Received: 12th September 2024

Accepted: 17th September 2024

Online: 18th September 2024

KEYWORDS

Печень, гепатоцит,
экструзия, ядрышко,
Туглизид, гранулярный
компонент.

ABSTRACT

В печени млекопитающих обнаружен новый феномен – экструзия гранулярного компонента ядрышка в цитоплазму гепатоцитов, которое стимулируется как лекарственными препаратами при экспериментальном токсическом гепатите, так и частичной резекцией печени. Предполагается, что экструзия ГК ядрышка способствует усиленному синтезу белка печеночными клетками, следовательно, может оказать существенную роль в регенеративных процессах печени, а возможно и целого организма.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. В последние годы многие исследователи выявили многофункциональность ядрышка [2, 11-13]. Помимо своей классической функции



синтез рибосом, ядрышко участвует в регуляции клеточного цикла, пролиферации клеток, стрессовых ситуациях, онкологических процессах, вирусных заболеваниях, естественной гибели клеток, старении организма и некоторых патологических состояниях (синдром Вернера, Даймонда-анемия Блэктона, синдром Тричера Коллинза, синдром Ротмунда-Томсона) и др. [11-13]. В 1960-е годы горячо обсуждалась еще одна особенность ядрышка — его экструзия в цитоплазму [6]. Но поскольку доказательств в поддержку этого не было достаточно, вопрос остался открытым. В наших исследованиях при изучении действия противовоспалительного препарата «Туглизид» на клетки печени кроликов установлено, что ядро гепатоцита значительно отделяется от ядра в цитоплазму. Для дальнейшего подтверждения этой информации мы провели дополнительные исследования на крысах, удалили у них 25% печени и обследовали их в разное время. В результате было подтверждено, что и в этом эксперименте гранулярный компонент ядрышка мигрировало в цитоплазму.

После проведения нескольких экспериментов, связанных с изучением ядерного аппарата печени перед нами, стояла новая задача - выяснить роль ядрышко в репаративной регенерации при патологии печени [1].

Цель: Изучить миграцию ядрышка гепатоцитов из ядра в цитоплазму у млекопитающих при коррекции противовоспалительным препаратом Туглизидом и при резекции печени у крыс.

Материалы и методы исследования:

В опытах всего использованы 22 кроликов и 82 белые беспородные крысы. Для проведения научного экспериментального исследования на лабораторных животных было получено разрешение Этического комитета при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан, протокол 8-го заседания от 2 декабря 2021 года. Экспериментальные исследования проводились согласно этическим нормам по гуманному обращению с экспериментальными животными, с соблюдением критериев мирового сообщества и Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных целей [8].

Результаты. 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 из 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. (рис.1-3). Площадь гепатоцитов составляет $246,6 \pm 3,7$ мкм², а площадь ядра равно $89,7 \pm 1,1$ мкм². Больше встречаются одноядерные гепатоциты, реже двуядерные гепатоциты. В одном поле зрения можно увидеть до 8,0 двуядерных гепатоцитов. Чаще встречаются гепатоциты с средним размером ядер. В ядре выявляются одно или два, изредка 3-4 ядрышка. Обычно ядрышки имеют небольшие размеры, только в некоторых ядрах выявляются более крупные ядрышки, и они расположены в центре кариоплазмы (рис 1б).

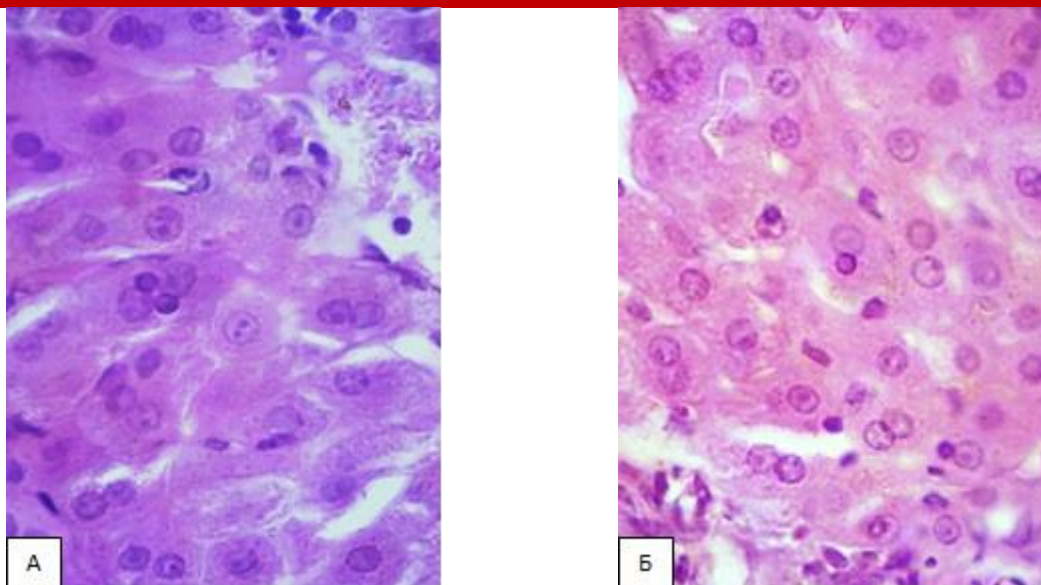


Рис. 1. Печень кролика после введения препарата Туглизид. Окраска: Гематоксилин-эозин.
А. Окраска гематоксилин-эозином. Периферический участок дольки. В центре рисунка двуядерный гепатоцит с двумя выделившимися ГК, структура которых отличаются от структуры ядер. Ув.10 x10.
Б. Тот же случай, выход трех ГК, объяснение в тексте. Ув об.10x10 (иммерсия).

В некоторых случаях ядрышки в виде плотного клубка обнаруживаются непосредственно под ядерной мембраной. Важно отметить, что в этих случаях контуры ядрышек не четкие, и сливаются с кариоплазмой. На рис 1А на обзорном снимке хорошо видны два плотных тельца, находящиеся рядом с ядром. При больших увеличениях микроскопа (для точного уточнения использовали максимальное увеличение современного цифрового микроскопа, ок.10 и об. 100, что составляет 1000 кратное увеличение объекта). На рисунке1Б темное тельце находится снаружи от ядерной мембраны (крупное и темное), в тоже время внутри ядра подобное образование имеет малые размеры, светлую окраску с не четкими контурами. Две другие тельца находятся вне ядра, однако имеют округлые очертания и плотный вид, но отличаются разными объемом. Как указывалось, выше, темные тельца чаще появляются на периферии печеночной дольки, что подтверждается данным рисунком.

Морфологические аспекты миграции гранулярного компонента ядрышек из ядра в цитоплазму гепатоцита у белых беспородных крыс после частичной резекции печени

Учитывая тот факт, что миграция ГК усиливается под действием внешних факторов, нами было принято решение проследить данный процесс при частичной резекции печени. Частичную резекцию печени производили под общим этиминаловым наркозом. После вскрытия брюшной полости иссекали левую латеральную долю печени, соответствующую удалению 25% из общего объема печени. Подопытные животные исследовали на 5, 7, 10,15 и 30 сутки после операционного периода.

Морфологический анализ состояние гепатоцитов показал, что паренхима печени построено также как у контрольных крыс. Однако гепатоциты белых крыс, отличаются

от гепатоцитов кроликов тем, что гепатоциты крыс имеют более крупные размеры и соответственно их ядра также крупнее. Диаметр гепатоцитов составляет $160,1 \pm 3,7$ мкм, а ядра равно- $70,1 \pm 0,2$ мкм. Гепатоциты содержат от одного до трёх-четырёх ядрышек. Количество двуядерных гепатоцитов составляют - $4,6 \pm 0,2$. У крыс количество ядрышек такое же, однако чаще встречается одно крупное ядрышко, причем вокруг него выявляются глыбки хроматина. После резекции печени увеличивается число мигрирующих ГК, особенно на 5-7 дни эксперимента. Печеночные дольки не выражены, дольки состоят из печеночных пластинок и синусоидных капилляров. Печеночные пластинки и синусоидные капилляры имеют радиальное направление по отношению к центральной вене. Просветы синусоидных капилляров и центральной вены умеренно расширены, иногда содержат форменные элементы крови.

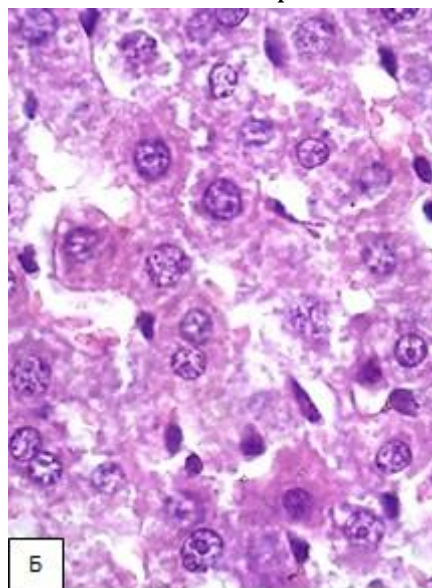
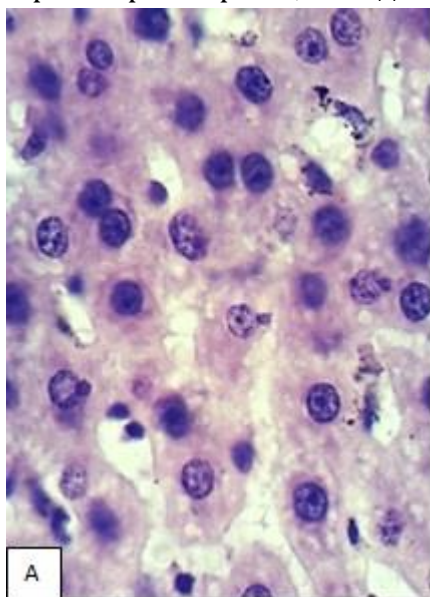


Рис. 2. Печень крысы на 3-ие сутки при частичной ее резекции. Окраска гематоксилин-эозином. Цитоплазма печеночной клетки окрашено оксифильно, а крупное барофильное ядро чаще содержат одно большое ядрышко.

А. Выход сразу трех ГК в гепатоцитах, находящиеся на одинаковой стадии миграции. на 7-ие и 10-ие сутки опыта

Б. Одноядерный гепатоцит в центре рисунка со светлой кариоплазмой, ГК частично выступает из ядра, находится на стадии пенетрации ядерной оболочки. Ув. об. 10x10

Гепатоциты имеют полигональную форму, цитоплазма их окрашена оксифильно, ядра содержат 2- 3 мелкие ядрышки, иногда одно крупное. На рис 2. над двуядерным гепатоцитом находится одноядерный, в котором имеются две ядрышки: одно мелкое, другое более крупное и последнее находится на краю кариоплазмы, частично выступает в цитоплазму (рис.2). На следующем рисунке, в центре находится двуядерный гепатоцит, каждое ядро которого содержат по одному ядрышку, а над этим другой гепатоцит, в котором хорошо заметно как крупный ГК выбухает в сторону цитоплазмы, очевидно, находится на стадии пенетрации ядерной оболочки(2б). Следует отметить, что миграцию ГК в начальные сроки сложно выявить, потому что редко встречается. Однако их количество резко возрастает на 7 сутки после операции.

В связи с этим на 7-е сутки эксперимента на небольшом поле зрения обнаружено синхронный выход 3-х ГК, причем все они находятся на стадии выхода из ядра в цитоплазму, однако с незначительными вариациями. В предыдущих экспериментальных исследованиях, судьба мигрировавшего ГК оставался неизвестной. При резекции печени на 7-е сутки эксперимента среди многочисленных мигрирующих ГК обнаруживались такие, в которых ядрышки приобретали желтоватый оттенок, очевидно, в связи с их израсходованием для каких-то нужд. В случаях резкого возрастания числа мигрирующих ГК, в небольшом поле зрения обнаруживаются несколько ГК, находящиеся на различной стадии перемещения из ядра в цитоплазму или и их исчезновения.

Таким образом, можно заключить, что при резекции печени, наряду с митотическим делением печеночных клеток также происходит миграция ядрышек гепатоцитов, более того данный процесс стимулируется, особенно на 7 сутки после операционного периода, что может свидетельствовать о регенераторном значении миграции ГКЯ в целях усиленного синтеза белка для новообразующих клеток.

Морфологическая картина печени при хроническом отравлении печени гелиотрином

На 60-ие сутки затравки белых подопытных крыс гелиотрином в печени развивался хронический гепатит с явлениями жировой дистрофии. В целом, структурные элементы паренхимы печени, а именно печеночные пластинки и синсоидные капилляры сохранены, однако они значительно изменены. Отмечается диффузная жировая инфильтрация в виде средне- и мелкокапельной инфильтрации гепатоцитов, с некоторыми топографическими вариациями. Большинство гепатоцитов содержат от 2 до 5 мелких капель, редко одну большую жировую каплю. Большинство гепатоциты в связи жировой дистрофией имеют округлую форму, цитоплазма их окрашена оксифильна и в центре содержат одно крупное ядро. Однако, в паренхиме встречаются многочисленные участки, где гепатоциты находятся в состоянии некроза.

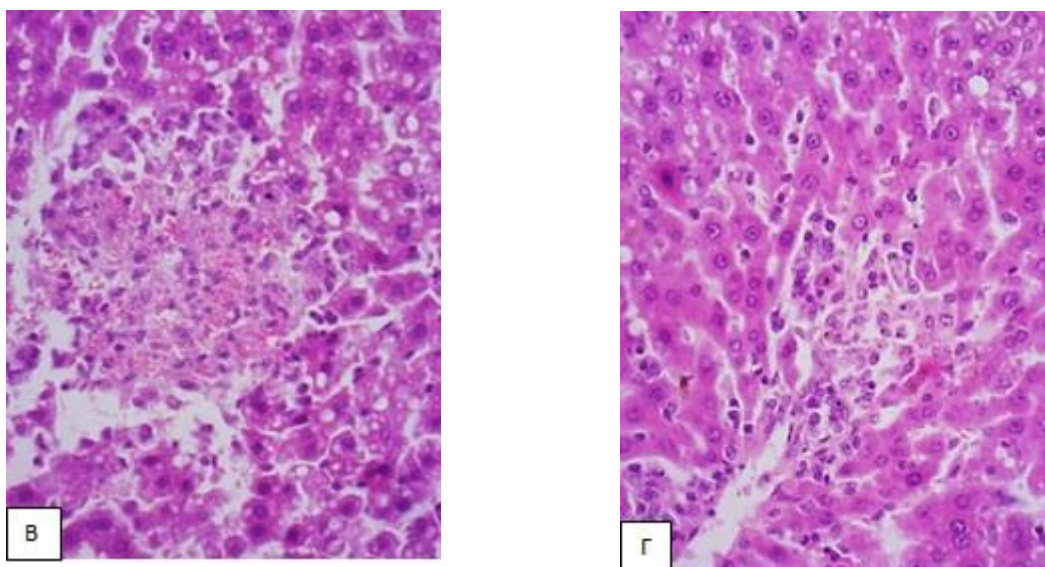


Рис. 3. Печень крысы на 60-сутки введения гелиотрина. Морфологически обнаруживается картина токсического гепатита с умеренной жировой дистрофией гепатоцитов. Различная



степень выраженности некроза в паренхимы печени (В,Г).

В. Крупный очаговый некроз в центролобулярной зоне дольки.

Г. Обширный очаг некроза на стадии рубцевания, слегка заметна грануляционная ткань с многочисленными соединительнотканными клетками и сосудами. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 10x 10 (иммерсия).

Очаги некроза варьируют от мелких очаговых до крупных обширных участков. Очевидно, некроз начинается с повреждения клетки патогенным фактором, а патологически измененная клетка становится мишенью для взаимодействия с лимфоцитами. На рис.3 А рядом с поврежденным гепатоцитом находится небольшая клетка с очень плотным ядром, но с длинным цитоплазматическим выростом, который контактирует с его поверхностью. Данная клетка может быть клеткой Купфера, либо Т-лимфоцитом, которые оба обычно уничтожают чужеродные элементы. Встречались также участки, где некрозу подверглись группа клеток, соответствующие очаговому некрозу, однако границы пораженного участка не отграничены, т.е. сливается с окружающими клетками. В очаге некроза вместе с клеточным детритом выявляется инфильтрированные клеточные элементы (рис.3 Б). Дифференцировать эти клетки при окраске гематоксилин-эозином не представляется возможным. Однако учитывая формы ядер заселенных клеток, можно предположить, что они могут быть фибробластами, макрофагами, клетки Купфера, в общем мононуклеарными клетками. Более крупные участки некроза локализовались вокруг центральной вены. Границы очага расплывчаты, центр очага замещен клетками инфильтрата, тогда как по периферии очага погибающие клетки чередуются с менее измененными клетками. Наконец, встречались обширные участки паренхимы, где пораженный очаг замещался не только клетками, но также соединительнотканными элементами. Таким образом, при гелиотринном поражении в печени развивается токсический гепатит, характерными признаками которого явились жировая дистрофия и некроз паренхимы, выраженный в различной степени, от очаговой до обширных, локализованных, преимущественно во-второй или третьей зоны ацинуса

Нас интересовал главный вопрос, каково реакция ядрышек на введение чужеродного агента и происходит ли его миграция при такой патологии. Тщательный анализ состояния ядер и цитоплазмы гепатоцитов показал, что и в этих случаях совершается выход ГКЯ из ядра в цитоплазму гепатоцита. При этом, внутриклеточный механизм миграции ГКЯ такое же, как у животных. Не повторяясь в деталях, отметим, что общий вид этого процесса, а также некоторые этапы его перемещения из кариоплазмы в цитоплазму.

Наряду с некрозом, в хорошо сохранившимся гепатоцитах обнаруживаются многочисленные ГК, находящиеся на стадии выхода из ядра.

Таким образом, как показывают наши экспериментальные исследования длительное введение гелиотрина вызывает хронический гепатит, основными проявлениями которого являются жировая дистрофия и некроз гепатоцитов. В патологически измененной печени также совершают миграцию ГКЯ из ядра в цитоплазму, однако ядра потерявшие ядрышки изменяются в структуре и



подвергаются деструкции. Следовательно, в отличие от контрольных животных, при гелиотриновом поражении печени миграция ГКЯ сопровождается дезорганизацией структуры ядра, приводящая к гибели клеток. В целом, даже при наличии патологических процессов внутриклеточные механизмы миграции ГКЯ из ядра в цитоплазму такой же как у животных.

Заключение: Доказано, что у интактных животных (кроликов и крыс) миграция ГКЯ происходит даже в физиологических условиях, причем миграция ГК ядер в большей степени наблюдалась при введении препарата Туглизид с целью гепатопротекции. Мигрировавший гранулярный компонент расположен на расстоянии от ядра, набухший, увеличенный и округлый. Площадь гепатоцитов интактных крыс больше, чем у кроликов. Экструзия ядрышковых ГК в 2,3 раза выше, чем у интактных животных, что доказывает, что препарат Туглизид усиливает миграцию ГК. В результате сравнительного морфологического и морфометрического анализа количество двуядерных гепатоцитов увеличивалось на 5-7-е сутки в эксперименте с резекцией печени, а количество двуядерных гепатоцитов - на 3-7-е сутки при токсическом гепатите. Миграция ЯГК наблюдалась в большей степени на 7-й день после резекции, что позволяет предположить, что миграция ГКЯ играет роль в регенеративном процессе, усиливая синтез белка для вновь образованных клеток. При экспериментальном токсическом гепатите после коррекции препаратом Туглизид наряду с митотическим делением клеток печени происходит стимуляция миграции ГКЯ, причем этот процесс особенно наблюдается на 3, 5 и 7 дни. Это означает, что мигровавшие ГКЯ в цитоплазму усиливает биосинтез белка в печени, что доказывает его участие в регенеративных процессах.

Вывод: в печени млекопитающих обнаружен новый феномен –экструзия ГКЯ из ядра в цитоплазму гепатоцита, который стимулируется как лекарственными препаратами, так и частичной резекцией органа. Предполагается, что экструзия ГКЯ способствует усиленному синтезу белка печеночными клетками, следовательно, может оказать существенную роль в регенераторных процессах печени, а возможно и целого организма при его гипотрофии или кахексии.

References:

1. Абдуллаев Н.Х., Каримов Х.Я., Печень при интоксикации гепатотропными ядами – Т.: Медицина, 1989-96 с.ил. Библиогр; с.93-95.
2. Sadriddinov A. F., Isaeva N. Z. Stages of Migration of Nucleolus of Hepatocytes in Some Mammalian Species //Solid State Technology. – 2020. – Т. 63. – №. 6. – С. 15275-15283.
3. 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.
4. Fayazovich S. A. et al. Morphological aspects of natural death for hepatic cells //European journal of biomedical and life sciences. – 2015. – №. 2. – С. 69-75.
5. Назарова М., Адилбекова Д., Исаева Н. Морфологическое состояние печени у потомства, в условиях хронического токсического гепатита у матери //Журнал биомедицины и практики. – 2021. – Т. 1. – №. 1. – С. 52-57.



6. Sadriddinov, A., Cheraliev, K., Isaeva, N., & Murotov, O. (2015). The Wonderful Multifunctional Nucleolus of Hepatic Cell. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3, 268-277.
7. Sadriddinov A. F., Isaeva N. Z. Stages Of Migration Of Nucleolus Of Hepatocytes In Some Mammalian Species // *Solid State Technology*. – 2020. – Т. 63. – №. 6. – С. 15275-15283.
8. Керимова Р.Д., Гараев Г.Ш. Изменение некоторых показателей белкового обмена в условиях хронической интоксикации в зависимости от длительности ишемии печени // *Украинский журнал клинической и лабораторной медицины*. – 2013. – Т. 8. – № 4. – С. 139–144.
9. Лебедева Е.И. Морфометрические показатели гепатоцитов белых крыс и человека при токсическом циррозе печени // *Universum: Медицина и фармакология: электрон. научн.журн.* 2015. № 7-8 (19). URL: <http://7universum.com./ru/med/archive/item/2547>
10. Солопаев Б.П. Регенерация нормальной и патологически измененной печени. Горький: Волго-Вятки.изд-во, 1980.239с.
11. Туманишвили Г.Д., Козлов Н.В., Саламатина Н.В. О теории внутритканевой регуляции скорости размножения клеток // *Журн. общей биол.* 1968. № 6. С. 711-718.
12. Хельсинская декларация всемирной медицинской ассоциации: этические принципы медицинских исследований с участием человека в качестве объекта исследования (Сеул, 2008). *Морфология*. 2010;2(4):69-72
13. Багмут И.Ю. Подострое воздействие олигоэфиров на показатели нуклеинового и белкового обмена в печени экспериментальных животных//*Світ медицини та біології*. -2014.-Т.10.-№4(47). -С. 83-86
14. Романова Л.П., Малышев И.И. Особенности заживления механической травмы печени у молодых крысят в условиях стимуляции биологически активными веществами // *Аллергология и иммунология*.2009. №1. С.114-11
15. Малыгина Н.А. Старение клеток и возрастзависимые заболевания // *Клиническая геронтология*. -- Т. 20; с. 33, №3–4. 2014. – С. 30–34.
16. Olson M. O. J. *The Nucleolus* // Springer Science+Business Media— New York 2011.—P. 414.
17. Woo, L. L., Futami, K., Shimamoto, A., Furuichi, Y. & Frank, and K. M. The Rothmund-Thomson gene product RECQL4 localizes to the nucleolus in response to oxidative stress. *Exp. Cell Res.* 312, 2006. 3443–3457.