

**ВПЛИВ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН  
НА МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ**

***А.Й. Мазуркевич, доктор ветеринарних наук, професор***

***Н.І. Золтан, аспірант\****

***Я.К. Сердюков, асистент***

***В.В. Ковпак, кандидат ветеринарних наук***

***Ю.О. Харкевич, кандидат ветеринарних наук***

*Наведено результати дослідження впливу алогенних мезенхімальних стовбурових клітин на зміну гістологічної структури печінки щурів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті (ХТГ). Встановлено, що застосування мезенхімальних стовбурових клітин щурам з експериментальним хронічним токсичним гепатитом сприяє пригніченню фібротизації паренхіми печінки, відновленню гістологічної будови пошкодженого органа та зменшенню дистрофічних змін гепатоцитів.*

***Печінка, щури, хронічний токсичний гепатит, мезенхімальні стовбурові клітини.***

Стимуляція регенераторних процесів у ушкоджених органах та тканинах через клітинну трансплантацію – один з найперспективніших напрямів дослідження сучасної медицини. Літературні дані свідчать про позитивний вплив на перебіг хронічного запалення печінки мезенхімальних стовбурових клітин (МСК), які сприяють стимуляції репаративних процесів, відновленню структури і функцій ушкодженого органа [5, 4, 5]. Однак, незважаючи на чималу кількість робіт, присвячених вивченню терапевтичного потенціалу МСК, багато питань щодо клітиннозаміщувальної терапії залишаються невирішеними, що потребує подальших експериментальних досліджень.

**Мета дослідження** – дослідити вплив алогенних мезенхімальних стовбурових клітин на морфологічні зміни печінки щурів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті.

Експерименти на тваринах проведено з дотриманням вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Загальних етичних принципів експериментів над тваринами», схвалених Національним конгресом з біоетики та положень „Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях”.

---

\* Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор А.Й. Мазуркевич

**Матеріали і методи дослідження.** Експериментальні дослідження проведені в умовах кафедри фізіології, патофізіології та імунології тварин НУБіП України, її проблемної науково-дослідної лабораторії фізіології та експериментальної патології тварин.

Експериментальний ХТГ у щурів моделювали підшкірними введеннями 50 %-го розчину карбону тетраклориду ( $CCl_4$ ) на оливковій олії з розрахунку 0,5 мл/100 г маси тіла через кожні 3 дні протягом 12 тижнів (84 діб) [1]. У інтактну групу увійшло 15 тварин.

На 3-ю добу після останнього введення  $CCl_4$  (87 доба дослідження) з метою контролю розвитку ХТГ у тварин відбирали тканини печінки для гістологічного дослідження.

Після цього тваринам контрольної групи (26 гол.) вводили фізіологічний розчин у кількості 100 мкл; тваринам дослідної групи (18 гол.) у порожнину серця вводили по 2 млн мезенхімальних стовбурових клітин, іммобілізованих у 100 мкл фізіологічного розчину. Протягом усього післяопераційного періоду спостерігали за станом здоров'я дослідних тварин.

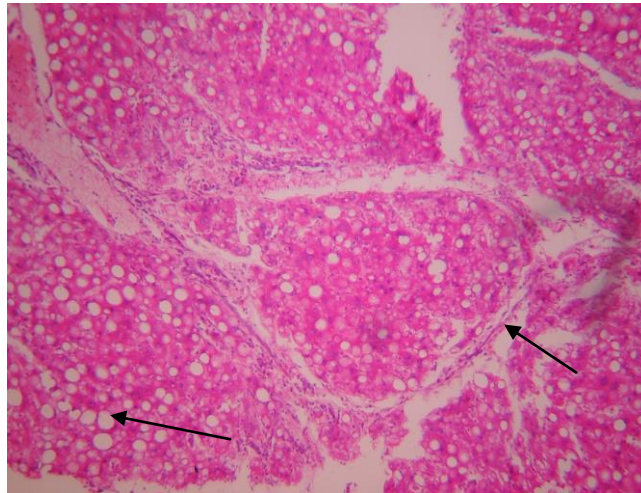
На 30- та 60-у доби після формування ХТГ тварин контрольної і дослідної груп методом евтаназії виводили із дослідження та у ході розтину відбирали проби печінки. Для гістологічного дослідження зразки печінки фіксували у 10 %-му розчині формаліну, заливали у парафін, виготовляли гістологічні зрізи завтовшки 4–5 мкм, зафарбовували їх гематоксиліном Караці та еозином і проводили їх світлову мікроскопію та фотографування [2].

**Результати дослідження й обговорення.** У групи інтактних щурів при мікроскопічному дослідженні гістологічних зрізів печінки спостерігали типову будову печінкових часточок: гепатоцити округлої форми з еозинофільною цитоплазмою і досить великим базофільним ядром. Іноді виявлялися гепатоцити, у яких було 2 ядра. У центрі кожної часточки розміщена центральна вена, від якої радіально розходяться печінкові балки, між якими знаходяться синусоїдні капіляри. У міжчасточковій сполучній тканині у кутах часточок розташовуються триади. Кожна триада утворена міжчасточковою артерією, веною і жовчною протокою. Судини – помірно кровонаповнені.

При гістологічному дослідженні печінки щурів з експериментальним ХТГ виявлено порушення цитоархітекτονіки органа із втратою радіальної будови печінкових балок. Паренхіма печінки фрагментована сполучнотканинними тяжами, у окремих ділянках – з утворенням хибних часточок. Чимала кількість гепатоцитів перебувала у стані жирової інфільтрації, вони були збільшені за розміром, із зміщеними до периферії ядрами. Цитоплазма клітин була прозорою, оскільки містила відкладення жиру (рис 1).

Міжчасточкова сполучна тканина інфільтрована лімфоцитами. Внутрішньочасточкові та міжчасточкові судини гіперемійовані, що свідчить про розвиток портальної гіпертензії. Окремі гепатоцити були у стані жирової декомпозиції, у їх цитоплазмі спостерігали прозорі включення, які

розміщені на місці відкладень ендogenous жиру. Деякі гепатоцити знаходилися у стані зернистої дистрофії: вони були збільшені, з погано профарбованими ядрами, та зернистого вигляду цитоплазмою. У окремих зразках спостерігали вузлові розростання сполучної тканини із впорядкованим ходом волокон.



**Рис. 1. Мікроскопічна будова печінки щурів з експериментальним ХТГ:** потовщення міжчасточкових сполучнотканинних перегородок з утворенням псевдочасточок (стрілка зліва); гепатоцити у стані жирової інфільтрації (стрілка справа). Фарбування гематоксилином і еозином,  $\times 100$

На 30-ту добу після формування ХТГ при мікроскопічному дослідженні гістологічних зрізів печінки щурів контрольної групи виявлено наявність жирової та зернистої дистрофій. Балкова будова часточок не виявлялася. Фібозна тканина, що створювала хибні часточки, була розвиненою, у ній спостерігали фіброцити і фібробласти, що свідчило про подальше фіброзоутворення. Ознаки портальної гіпертензії характеризувалися гіперемією внутрішньочасточкових та міжчасточкових судин (рис. 2, а).

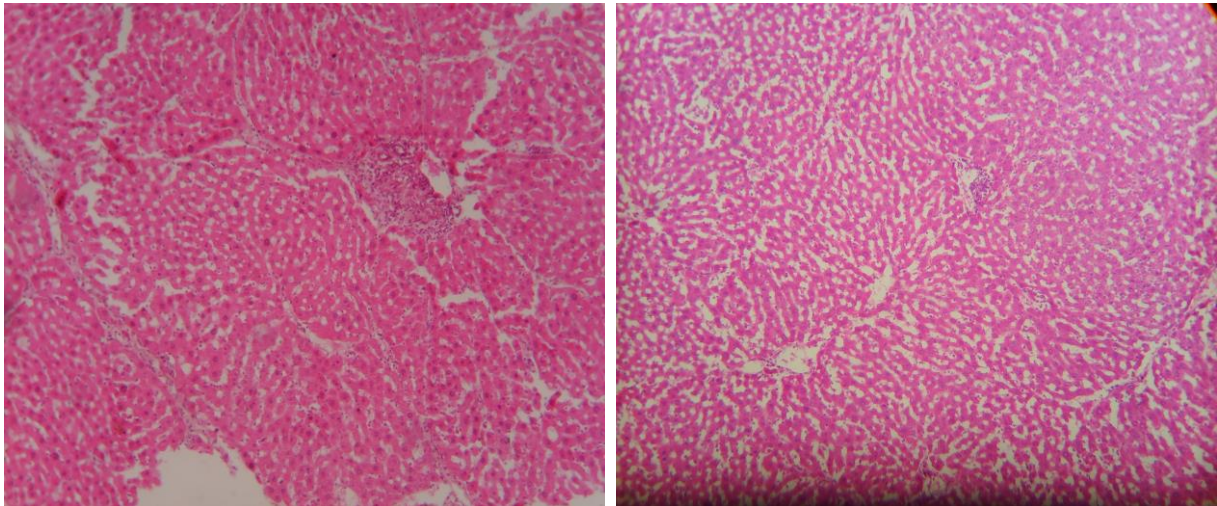
У контрольної групи щурів, яким не проводили лікування, через 60 діб після формування ХТГ спостерігалася незначна позитивна динаміка. Дистрофічні зміни дещо зменшилися порівняно з вихідним станом, меншою мірою спостерігалася жирова та зерниста дистрофії. Однак балкова будова печінки не відновилася, залишилися потовщеними тяжі сполучної тканини, у полі зору спостерігали псевдочасточки. Внутрішньочасточкові та міжчасточкові судини були гіперемійовані.

Аналіз результатів гістологічного дослідження печінки щурів з експериментальним ХТГ на 30- та 60-ту добу після формування ХТГ і введення МСК свідчи, що алогенні мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку при їх застосуванні прискорюють перебіг репаративних процесів у печінці порівняно з контролем.

Так, при мікроскопічному дослідженні гістологічних зрізів печінки щурів дослідної групи на 30-ту добу після формування ХТГ і введення МСК спостерігали відновлення паренхіми та балкової будови печінки (рис. 2, б).

Фіксували помірну гіперемію внутрішньочасточкових судин. Жирова та зерниста дистрофії не спостерігалася. Сполучна тканина, яка оточувала триади, була слабо інфільтрована лімфоцитами, складалася переважно з фіброцитів – зрілих клітин сполучної тканини, що свідчило про закінчення фіброзоутворення. Сполучнотканинних тяжів, що йшли вглиб паренхіми і створювали хибні часточки, виявлялося значно менше ніж у контролі.

На 60-ту добу після введення МСК при гістологічному дослідженні була виявлена подальша нормалізація будови печінки щурів дослідної групи. Ознак жирової і білкової дистрофій не виявлено.



а

б

**Рис. 2. Мікроскопічна будова печінки щурів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті на 30-ту добу після введення МСК: а – контрольна група; б – дослідна група. Фарбування гематоксилином і еозином, ×100**

### **Висновки**

1. Експериментальне моделювання хронічного токсичного гепатиту із застосуванням розчину карбону тетрахлориду призводить до порушення гістологічної структури печінки та розвитку фіброзу.

2. Застосування аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин щурам з експериментальним хронічним токсичним гепатитом сприяє зниженню процесу фібротизації паренхіми печінки, відновленню гістологічної будови пошкодженого органа та зменшенню кількості гепатоцитів із дистрофічними змінами.

### **Список літератури**

1. Активность ферментов в сыворотке крови и печени при экспериментальном циррозе печени на разных этапах его развития / Л.Л.Громашевская, З.П.Гетте, Я.М.Гусовский [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1968. – № 11. – С. 42–46.

2. Потоцький М.К. Основи гістопатологічної техніки: методичні вказівки для студентів та лікарів ветеринарної медицини-патоморфологів / Потоцький М.К. – К, 2006. –101 с.

3. Kuo T. Stem cell therapy for liver disease: parameters governing the success for using bone marrow mesenchymal stem cells / T. Kuo, S. Hung // Gastroenterology. – 2008. – Vol. 134. – P. 2111–2121.

4. Long-Jun Dai. The therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on hepatic cirrhosis / L.-J. Dai, H.Y. Li, L.-X. Guan, G.Ritchie, J.X. Zhou // Stem Cell Research. – 2009. – Vol. 2. – P. 16–25.

5. Sakaida I. Transplantation of bone marrow cells reduces CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis in mice / I. Sakaida, S. Terai, N. Yamamoto et al. // Hepatology. – 2004. – Vol.40. – P. 1304–1311.

*Приведены результаты исследования влияния аллогенных мезенхимальных стволовых клеток на изменение гистологического строения печени крыс при экспериментальном хроническом токсичном гепатите(ХТГ). Установлено, что применение мезенхимальных стволовых клеток крысам с экспериментальным хроническим токсическим гепатитом способствует снижению процессов фибротизации паренхимы печени, возобновлению гистологической структуры поврежденного органа и уменьшению дистрофических изменений гепатоцитов.*

***Печень, крысы, хронический токсический гепатит, мезенхимальные стволовые клетки***

*The results of the morphological changes of liver of rats after administration of allogeneic mesenchymal stem cells in experimental chronic toxic hepatitis are presented. Using of mesenchymal stem cells promotes the reducing of fibrosis and repairing of histological structure of liver in rats with experimental chronic toxic hepatitis.*

***Liver, rats, chronic toxic hepatitis, mesenchymal stem cells***