

Реакция паренхимы печени на подкожное введение фрагментов тканей щитовидной железы и плаценты при экспериментальном гипотиреозе

UDC 1.616.441-002:615.361.36.014.41

V.I. CHUYKOVA, T.N. YURCHENKO, T.M. SHARLAY, V.I. STRONA, E.P. ZHULIKOVA,
L.N. MARCHENKO, T.P. GOVORUKHA, N.V. REPIN*, A.S. KOVALEV, I.I. KONDAKOV

Liver Parenchyma Response to Subcutaneous Introduction of Thyroid and Placenta Tissue Fragments During Experimental Hypothyroidism

Исследовали морфологическую и морфометрическую характеристики паренхимы печени крыс при гипотиреозе и его коррекции подкожным введением фрагментов криоконсервированной ксеногенной фетальной щитовидной железы (ККФЩЖ), фрагментов криоконсервированной аллогенной плаценты (КАП) и их сочетанном введении. Показано, что моделирование медикаментозного гипотиреоза сопровождается выраженной белковой дистрофией паренхимы печени. Введение ККФЩЖ стимулирует внутриклеточную пролиферацию гепатоцитов, что проявляется в увеличении количества двуядерных гепатоцитов на 14-е сутки. В то же время при комбинированном введении ККФЩЖ и КАП этот эффект наблюдался уже на 7-е сутки после введения.

Ключевые слова: гипотиреоз, паренхима печени, ксенотрансплантация, аллотрансплантация.

Досліджували морфологічну і морфометричну характеристики паренхіми печінки щурів при гіпотиреозі і його корекції підшкірним введенням фрагментів криоконсервованої ксеногенної фетальної щитоподібної залози (ККФЩЗ), фрагментів криоконсервованої алогенної плаценти (КАП) і їх комбінованому введенні. Показано, що моделювання медикаментозного гіпотиреозу супроводжується виразною білковою дистрофією паренхіми печінки. Введення ККФЩЗ стимулює регенерацію паренхіми печінки, що проявляється у збільшенні кількості двоядерних гепатоцитів на 14 добу. У той же час при комбінованому введенні ККФЩЗ та КАП цей ефект спостерігався вже на 7 добу після введення.

Ключові слова: гіпотиреоз, паренхіма печінки, ксенотрансплантація, алотрансплантація.

There were investigated the morphological and morphometric characteristics of rat liver parenchyma during hypothyroidism and after its correction by subcutaneous introduction of the fragments of cryopreserved xenogenic fetal thyroid gland (CXFTG), fragments of cryopreserved allogenic placenta (CAP) and their combined introduction. The modelling of medicamentous hypothyroidism has been shown to be accompanied by evident liver parenchyma proteinosis. Introduction of CXFTG stimulates intracellular hepatocyte proliferation revealed in the increased binuclear hepatocyte number to the 14th day. At the same time during combined introduction of CXFTG and CAP this effect has been already observed to the 7th day after introduction.

Key words: hypothyroidism, liver parenchyma, xenotransplantation, allotransplantation.

По данным литературы общая распространенность манифестного гипотиреоза в популяции составляет 0,2–2%, субклинического гипотиреоза – 4–10% [11, 26]. Гормоны, синтезируемые щитовидной железой (тироксин и трийодтиронин), влияют на широкий спектр метаболических и физиологических процессов, а именно: усиление всех видов обмена (белкового, липидного, углеводного), стимуляция процессов роста, физического и умственного развития, обеспечение нормального ритма сердечных сокращений, активация деятельности пищеварительного тракта, гомеостатическое воздействие на температуру тела и др. Рецепторы к тиреоидным гормонам обнаруживаются практи-

According to the literature data the general prevalence of manifested hypothyroidism in population makes 0.2–2%, subclinical hypothyroidism does 4–10% [11, 26]. Hormones synthesized by thyroid gland (thyroxin, tri-iodothyronine) affect the wide spectrum of metabolic and physiological processes, in particular strengthening of all metabolism types (of proteins, lipids and carbohydrates), stimulation of growth, physical and mental development, providing the normal heartbeat rhythm, activation of digestive tract action, homeostatic influence on body temperature *etc.* Receptors to thyroid hormones are found almost in all the viscera and their stimulation leads to the change of gene expression and as a result to the stimulation of general me-

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Перяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: (+38 057) 373-30-34, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта: nvrepin@mail.ru

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373 3034, fax: +380 57 373 3084, e-mail: nvrepin@mail.ru

чески во всех внутренних органах, а их стимуляция приводит к изменению экспрессии генов и, как следствие, стимуляции основного обмена. Нарушение функциональной активности щитовидной железы сопровождается изменением структуры и функциональной активности ряда тиреоидзависимых органов, в том числе и печени.

В настоящее время накоплен опыт применения ауто-, алло- и ксеногенной щитовидной железы для коррекции гипотиреоза, подтверждающий эффективность такой терапии [1, 7, 14–17]. В то же время существуют многочисленные экспериментальные и клинические данные, свидетельствующие о высоком потенциале использования плацентарной ткани при лечении заболеваний различного генеза [9, 20, 21], в том числе и эндокринопатий [5, 6, 29], однако результаты ее применения при лечении дисфункции щитовидной железы в литературе отсутствуют. Криоконсервированная ткань плаценты среди других биообъектов занимает особое место по высокому содержанию биологически активных веществ и ростовых факторов [10]. Кроме того, плацентарная ткань – наиболее доступный аллогенный материал, применение которого в клинической практике не вызывает серьезных этических проблем.

Цель работы – изучение морфологических и морфометрических показателей клеток печени экспериментальных животных при моделировании гипотиреоза и его коррекции подкожным введением фрагментов криоконсервированной ксеногенной фетальной щитовидной железы (ККФЩЖ), криоконсервированной аллогенной плаценты (КАП) и их сочетанным введением (ККФЩЖ + КАП).

Материалы и методы

Работу выполняли на 70 беспородных 4-месячных крысах-самцах. В качестве трансплантатов использовали криоконсервированные фрагменты ксеногенной фетальной щитовидной железы массой 150 мг и аллогенной плаценты массой 180 мг.

Фетальные щитовидные железы человека 18–22 недель гестации получены в период с 1999 по 2000 г, образцы замораживали с криопротектором ДМСО по программе, разработанной в ИПКиК НАН Украины [17], и хранили при –196°C в течение 5 лет. Аллогенную плаценту получали на 15-е сутки беременности, замораживали с криопротектором ДМСО по программе, разработанной в ИПКиК НАН Украины [4].

Для моделирования дисфункции щитовидной железы животным в течение 2-х месяцев вводили с питьевой водой 0,005%-й раствор фармацевтического препарата "Мерказолит" (ООО "Фармацевтическая компания "Здоровье", Украина) [24, 30].

Животные были разделены на экспериментальные группы: 1 – интактная; 2 – животные с моде-

tabolism. The changes in structure and functional activity of some thyroid-dependent organs including the liver accompanies the disorder of thyroid functional activity.

Nowadays the experience in auto-, allo- and xenogenic thyroid application for hypothyroidism correction has been accumulated to allow the confirmation of the efficiency of this therapy [1, 7, 14–17]. At the same time there are multiple experimental and clinical data testifying to a high potential of placental tissue application during treatment of diseases of different genesis [9, 20, 21] including endocrinopathies [5, 6, 29], however, the results of its application during the treatment of thyroid dysfunction are absent in the literature. Cryopreserved placenta tissue takes a specific place among other bioobjects due to a high content of biologically active substances and growth factors [10]. Moreover, the placental tissue is the most available allogenic material, the application of which in clinical practice does not cause the serious ethical problems.

The research aim was to study the morphological and morphometric indices of liver cells of experimental animals during experimental hypothyroidism and after its correction by subcutaneous introduction of fragments of cryopreserved xenogenic fetal thyroid gland (CXFTG), fragments of cryopreserved allogenic placenta (CAP) and their combined introduction (CXFTG + CAP).

Materials and methods

The experiments were performed in 70 breedless 4-month-old male rats. Cryopreserved fragments of xenogenic fetal thyroid gland of 150 mg mass and allogenic placenta of 180 mg mass were used as the grafts.

Human fetal thyroid glands of 18–22 gestation weeks were collected since 1999 to 2000, the samples were frozen with DMSO cryoprotectant by the program developed at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine [17] and were stored at –196°C during 5 years. The allogenic placenta was obtained from the breedless rats in the 15th gestation day, was frozen with DMSO cryoprotectant by the program developed at the IPC&C of the NAS of Ukraine [4].

Experimental thyroid dysfunction was induced by injection of 0.005% solution of pharmaceutical preparation Merkazolil (LLC Pharmaceutical company Zdorovie, Ukraine) to animals during 2 months [24, 30].

The animals were divided into following experimental groups: 1 – intact animals, 2 – the animals with experimental hypothyroidism; 3 – introduction of CXFTG; 4 – introduction of CAP; 5 – introduction of CXFTG + CAP; 6 – control (cancellation of thyrostatic without introduction of biological material).

Biological material was introduced into subdermal pocket of the shoulder under slight ether anaesthesia.

лированным гипотиреозом; 3 – введение ККФЩЖ; 4 – введение КАП; 5 – введение ККФЩЖ + КАП; 6 – контроль (отмена тиреостатика без введения биологического материала).

Биологический материал вводили в подкожный карман в области холки под легким эфирным наркозом. Животных выводили из эксперимента декапитацией на 3, 7 и 14-е сутки после введения биологического материала и отмены тиреостатика. Фрагменты печени фиксировали в формалине, подвергали стандартной гистологической проводке, полутонкие срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Все виды манипуляций над животными выполняли в соответствии с "Общими принципами экспериментов на животных", одобренными III Национальным конгрессом по биоэтике (2007, Киев) и согласованными с положениями "Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей" (Страсбург, 1985).

Морфометрические исследования (площадь гепатоцитов и их ядер) проводили с помощью программы "Biovision 3.0". Цифровые данные обрабатывали непараметрическим методом Mann-Whitney, используя программу "StatGraphics 2.1".

Результаты и обсуждение

Гистологическое исследование срезов печени крыс показало, что у интактных 4-месячных животных структура паренхимы типична для нормального органа. Снаружи орган покрыт тонкой соединительно-тканной глиссоновой капсулой, от которой вглубь органа отходят перегородки, разделяющие орган на дольки; для паренхимы печени характерны радиально расположенные трабекулы гепатоцитов вокруг центральных сосудов, границы портальных сосудов и желчных протоков четко обозначены. В ткани органа преобладали одноядерные гепатоциты с крупными гиперхромными ядрами, реже встречались двуядерные (1–2 в поле зрения), митотическая активность не выражена (рис. 1, а).

Введение тиреостатика в течение 2-х месяцев (группа 2) сопровождалось потерей балочной структуры и белковой дистрофией паренхимы, эозинофилией и вакуолизацией цитоплазмы гепатоцитов вплоть до лизиса отдельных ядер (рис. 1, б). Границы клеток размыты, ядра гепатоцитов небольшие, гиперхромные. Клетки Купфера, выстилающие синусоиды, имели округлую форму. Площадь гепатоцитов уменьшалась недостоверно, а площадь их ядер – достоверно (рис. 2, а, б). Отмечались единичные двуядерные гепатоциты.

Морфологическое исследование паренхимы печени животных на 3-и сутки после введения биологического материала и в контроле показало

The animals were sacrificed by decapitation in the 3rd, 7th and 14th days after introduction of biological material and cancellation of thyrostatic. The liver fragments were fixed in formalin, and treated by standard histological preparation protocols, the semi-thin sections were stained with hematoxylin and eosin.

All types of injections in animals were performed according to the General Principles of Experiments in Animals approved by the 3rd National Congress for Bioethics (2007, Kiev) and agreed with the regulations of European Convention on the Protection of Vertebrates Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1985).

Morphometric investigations (area of hepatocytes and their nuclei) were carried-out by means of the Biovision 3.0 software. Digital data were processed by non-parametric Mann-Whitney method using the Statgraphics 2.1 software.

Results and discussion

Histologic investigation of rat liver sections showed that the liver parenchyma structure of intact 4-month-old animals was typical to normal organ. The outer surface of the organ was consisted of thin connective tissue glyssonic capsule with septa extended into the organ, which divide the organ into the segments; liver parenchyma was characterized by presence of hepatocyte trabecules radially located around central vessels, the borders of hepatoportal vessels and bile-ducts were clearly visible. In the organ tissue prevailed the mononuclear hepatocytes with large hyperchromatic nuclei, more rarely occurred the binuclear ones (1–2 in the vision field), mitotic activity was not significant (Fig. 1, a).

The introduction of thyrostatics during 2 months (group 2) was accompanied with the loss of tubular structure and parenchyma proteinosis, eosinophilia and vacuolization of hepatocyte cytoplasm even with lysis of several nuclei (Fig. 1, b). The cell borders were indistinct, hepatocyte nuclei were small and hyperchromic. Kupffer cells, lining sinusoids, had a round shape. The area of hepatocytes decreased insignificantly, and the area of nuclei was significantly diminished (Fig. 2, a, b). Single binuclear hepatocytes were noted.

Morphological investigation of animal liver parenchyma to the 3rd day after introduction of biological material and the control sections showed the formation of tubular structure in all the variants of experiment (Fig. 3). Vacuolization of hepatocyte cytoplasm was the least obvious in the group of animals with introduction of thyroid tissue (Fig. 3, a). Morphometrical indices in this group did not significantly differ from those at the peak of hypothyroidism model. Single binuclear hepatocytes were noted. At the same time during combined introduction of thyroid and placenta tissue fragments there were observed vacuolization and

формирование балочной структуры во всех вариантах эксперимента (рис. 3). Вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов была наименее выражена в группе животных с введением ткани щитовидной железы (рис. 3, а). Морфометрические показатели в этой группе достоверно не отличались от таковых на пике модели гипотиреоза. Встречались единичные двуядерные гепатоциты. В то же время при комбинированном введении фрагментов тканей щитовидной железы и плаценты наблюдались вакуолизация и зернистость цитоплазмы гепатоцитов (рис. 3, б). Вакуоли располагались главным образом по периферии клеток. Внеклеточные вакуоли встречались в единичном количестве. Площадь гепатоцитов не отличалась от таковой на пике модели, а площадь ядер достоверно увеличивалась. Наблюдалось увеличение количества двуядерных гепатоцитов до 2–3-х в поле зрения. У животных контрольной группы (рис. 3, в) и в группе с введением плаценты (рис. 3, г) морфологические изменения в этот срок исследования были наименее выражены. При этом в обеих исследуемых группах площадь гепатоцитов не изменялась, а площадь ядер уменьшалась недостоверно. Границы клеток были размыты. Отмечены единичные двуядерные гепатоциты.

На 7-е сутки после введения ткани щитовидной железы структура цитоплазмы гепатоцитов была зернистой, по периферии клеток располагались вакуоли, ядра гепатоцитов гиперхромные, наблюдались двуядерные клетки (рис. 4, а). Морфометрические показатели достоверно не отличались от показателей в предыдущем сроке наблюдения. При комбинированном введении тканей в этом сроке исследования цитоплазма гепатоцитов не содержала вакуолей, зернистость была выражена слабо, количество двуядерных гепатоцитов увеличивалось до 10–12 в поле зрения (рис. 4, б). Морфометрический анализ показал уменьшение площади гепатоцитов и их ядер относительно значений в предыдущем сроке исследования (см. рис. 2). У контрольных животных вакуолизация цитоплазмы была слабо выражена, вакуоли главным образом располагались по периферии клеток (рис. 4, в), границы клеток четко очерчены. Двуядерные гепатоциты выявлялись в количестве 1–2 в поле зрения, при этом их площадь не изменялась, а площадь их ядер увеличивалась по сравнению с предыдущим сроком исследования. У животных после введения ткани плаценты образования вакуолей не наблюдалось (рис. 4, г), а границы клеток были выражены слабо. Появлялось небольшое количество двуядерных гепатоцитов (1–2 в поле зрения), морфометрические показатели (площадь гепатоцитов и их ядер) соответствовали intactным животным.

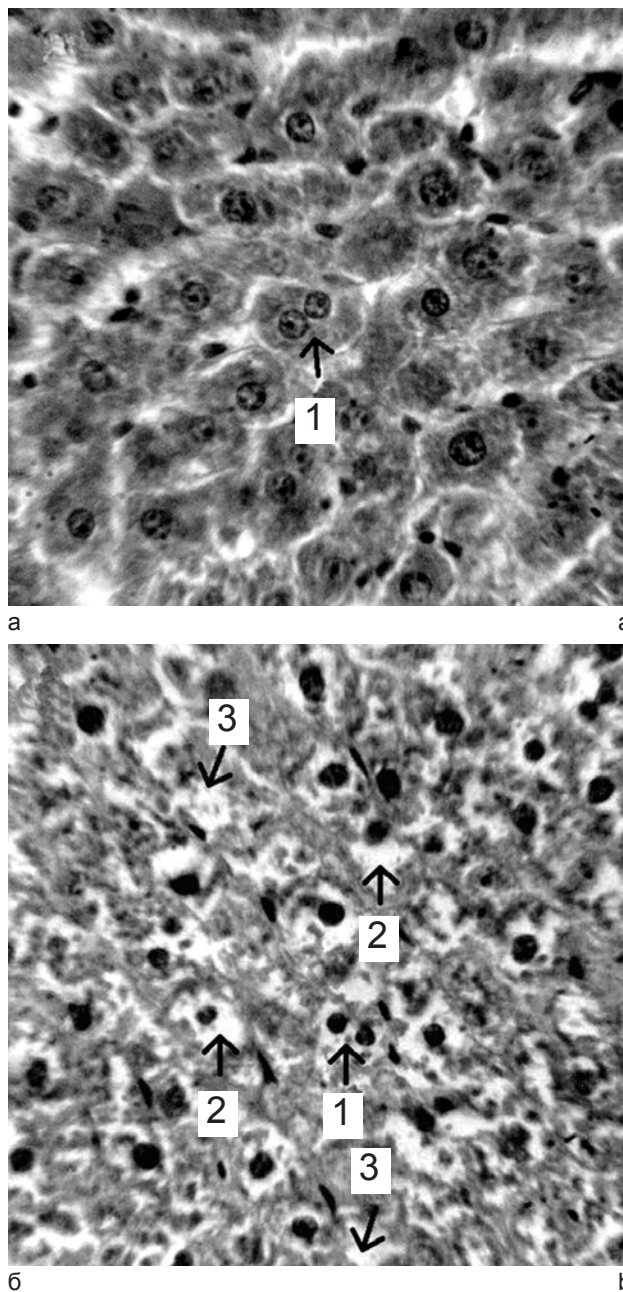


Рис. 1. Паренхима печени intactных животных (а) и после 2-х месяцев приема тиреостатика (б): 1 – двуядерный гепатоцит; 2 – вакуоль; 3 – лизис ядра. Окрашивание гематоксилином и эозином, об. 12, ок. 60.

Fig. 1. Liver parenchyma of intact animals (a) and 2 months later of thyrostatic receiving (b): 1 – binuclear hepatocyte; 2 – vacuole; 3 – nuclear lysis. Staining with hematoxylin and eosin, objective $\times 12$, ocular $\times 60$.

granulation of hepatocyte cytoplasm (Fig. 3, b). Vacuoles were located mainly in cell periphery. Single extracellular vacuoles were observed. The area of hepatocytes did not differ from the values in the peak of model, and the area of nuclei increased significantly. The increase of binuclear hepatocyte number was observed up to 2–3 ones in the vision field. Morphological changes in this period of investigation were the least

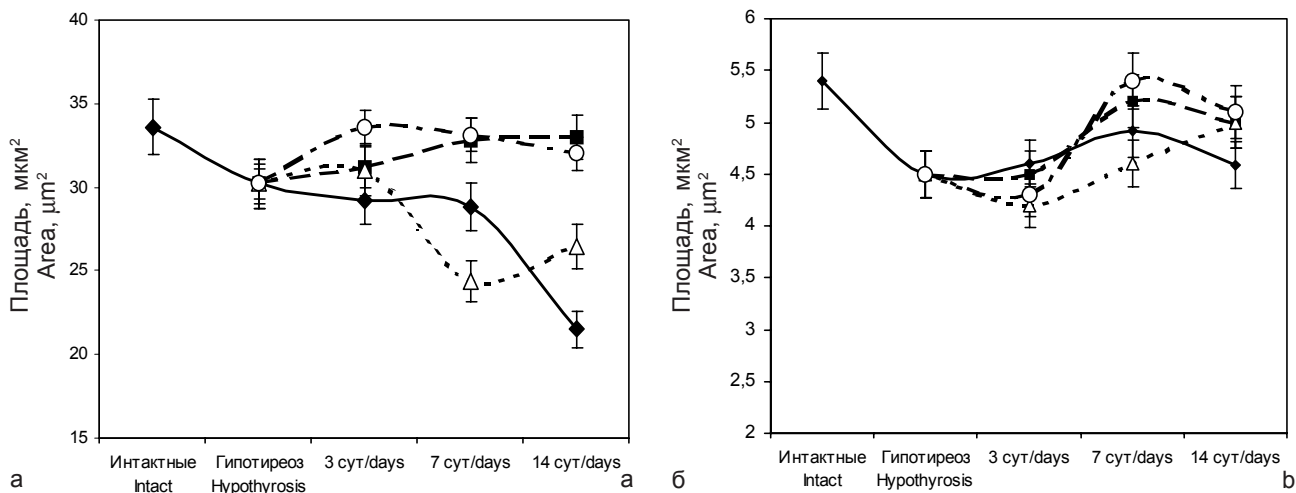


Рис. 2. Площадь гепатоцитов (а) и их ядер (б): ○ – контроль; ◆ – ККФЩЖ; ■ – КАП; △ – ККФЩЖ + КАП.
Fig. 2. Areas of hepatocytes (a) and their nuclei (b): ○ – control; ◆ – CXFTG; ■ – CAP; △ – CXFTG + CAP.

На 14-е сутки эксперимента в группе с введением щитовидной железы цитоплазма гепатоцитов зернистая, вакуолизации не наблюдалось. Количество двуядерных гепатоцитов было больше, чем в предыдущем сроке наблюдения (до 10–12 в поле зрения) (рис. 5, а). Морфометрический анализ показал достоверное уменьшение площади гепатоцитов по сравнению с предыдущими сроками исследования, при этом площадь ядер практически не изменялась. При комбинированном введении криоконсервированного биологического материала зернистость цитоплазмы гепатоцитов была выражена слабо, вакуолизация отсутствовала (рис. 5, б). Выявлено большое количество небольших двуядерных гепатоцитов с небольшими ядрами (до 10-ти в поле зрения) и единичные гепатоциты с тремя ядрами, при этом наблюдалась тенденция к увеличению как площади гепатоцитов, так и их ядер. У животных контрольной группы в этом сроке наблюдения цитоплазма клеток была зернистой, вакуолизация отсутствовала (рис. 5, в). Ядра в основном крупные, гиперхромные. Двуядерные гепатоциты присутствовали в небольшом количестве (1–3 в поле зрения). Морфометрические параметры достоверно не изменялись относительно предыдущего срока эксперимента. В 4-й группе животных морфометрические показатели также не отличались от 7-х суток исследования. Вакуолизация цитоплазмы не наблюдалась, ядра были крупными, гиперхромными, количество двуядерных гепатоцитов – до 5 в поле зрения (рис. 5, г).

Известно, что белковая дистрофия паренхимы печени является проявлением колликвационного очагового некроза, спровоцированного нарушением водно-электролитного обмена при токсическом или вызванном воздействием ксенобиотиков гепатите

noted in animals of the control group (Fig. 3, c) and in the group with placenta introduction (Fig. 3, d). Moreover, in both investigated groups the area of hepatocytes did not altered, and the one of nuclei decreased insignificantly. The cell borders were indistinct. Single binuclear hepatocytes were noted.

In the 7th day after thyroid tissue introduction the structure of hepatocyte cytoplasm was granulated, vacuoles were located in the cell periphery, hepatocyte nuclei were hyperchromic, binuclear cells were observed (Fig. 4, a). Morphometrical indices did not significantly differ from those in the previous period of investigation. After the combined introduction of tissues, the observations in this period of investigation showed, that hepatocyte cytoplasm did not contain vacuoles, the granulation was slightly expressed, the number of binuclear hepatocytes increased to 10–12 ones in the vision field (Fig. 4, b). Morphometrical analysis showed the decrease of hepatocyte and their nuclei areas comparing to the indices in the previous period of investigation (see Fig. 2). Cytoplasm vacuolization of the control animals was slightly expressed, the vacuoles mainly were located in the cell periphery (Fig. 4, c), the cell borders were well-defined. Binuclear hepatocytes were detected in the number of 1–2 in the vision field, furthermore their areas were not changed, and the areas of their nuclei increased comparing with the previous period of investigation. After placenta tissue introduction in animals the vacuole formation was not observed (Fig. 4, d), and the cell borders were poorly visible. Little binuclear hepatocytes appeared (1–2 in the vision field), morphometrical indices (the areas of hepatocytes and their nuclei) corresponded to the values of intact animals.

To the 14th day of experiment in the group with thyroid tissue introduction the hepatocyte cytoplasm

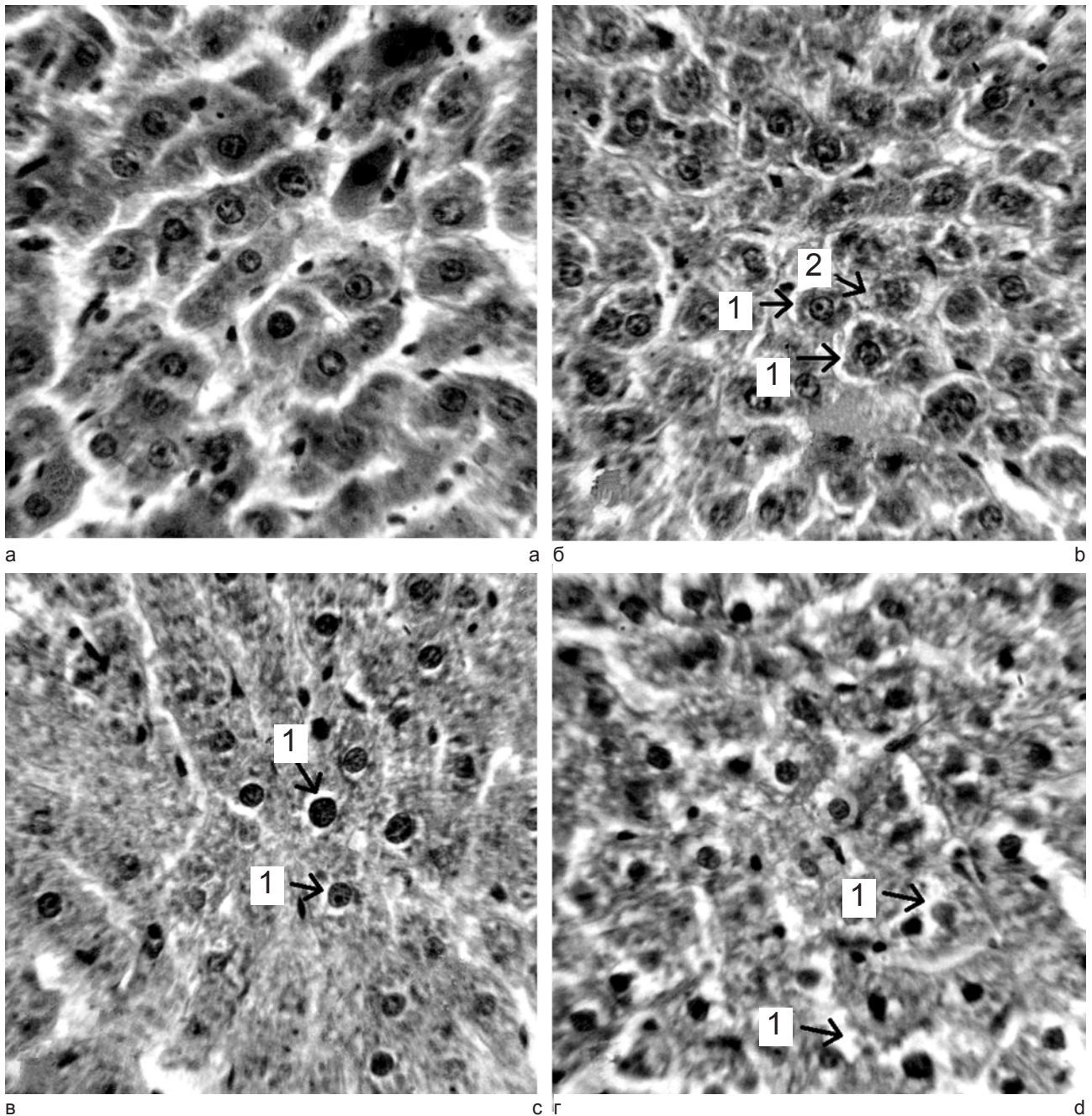


Рис. 3. Печень животных на 3-и сутки исследования: а – введение ККФЦЖ; б – введение ККФЦЖ+КАП; в – контрольная группа; г – введение КАП; 1 – внутриклеточные вакуоли; 2 – внеклеточные вакуоли. Окрашивание гематоксилином и эозином, об. 12, ок. 60.

Fig. 3. Liver of animals to the 3rd day of investigation: a – introduction of CXFTG; b – introduction of CXFTG + CAP; c – control group; d – introduction of CAP; 1 – intracellular vacuoles; 2 – extracellular vacuoles. Staining with hematoxylin and eosin, objective $\times 12$, ocular $\times 60$.

[2, 3, 8, 12, 13]. Таким образом, наблюдаемые изменения могут быть как следствием токсического воздействия "Мерказолила", так и длительного недостатка тиреоидных гормонов [19, 22, 27, 28].

При введении ККФЦЖ и ККФЦЖ + КАП на 7-е сутки после комбинированной трансплантации мы наблюдали возросшую митотическую активность и появление в большом количестве двуядерных гепатоцитов (до 10–12 в поле зрения) и на 14-е

was granulated, vacuolization was not observed. The number of binuclear hepatocytes was higher than in the previous period of investigation (to 10–12 in the vision field) (Fig. 5, a). Morphometrical analysis showed a significant decrease of hepatocyte areas comparing with the previous periods of investigation, moreover, the nuclei areas were almost not changed. In the group of combined introduction of cryopreserved biological material the hepatocyte cytoplasm granulation was

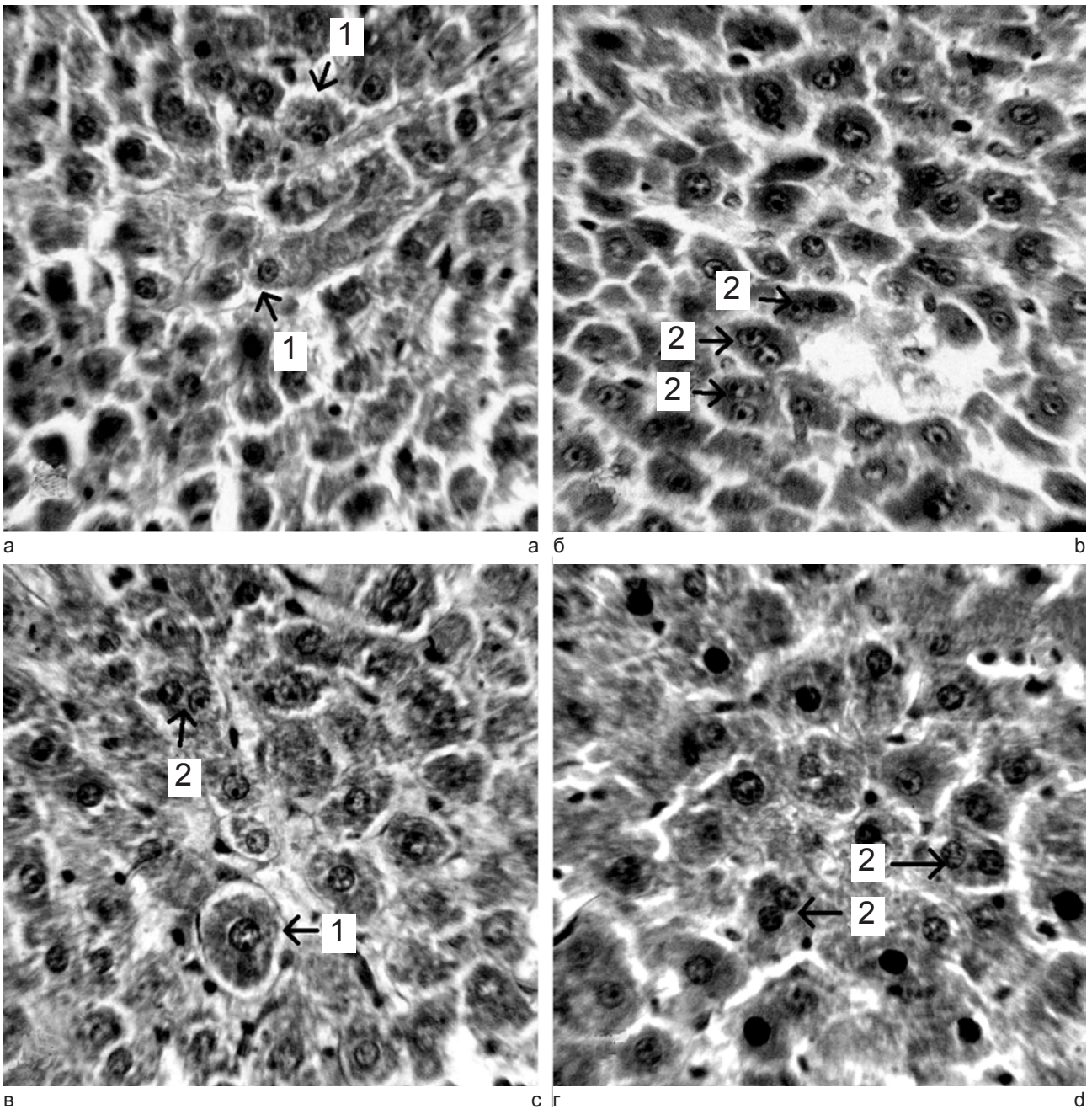


Рис. 4. Печень животных на 7-е сутки эксперимента: а – введение ККФЩЖ; б – введение ККФЩЖ + КАП; в – контрольная группа; г – введение КАП; 1 – внутриклеточные вакуоли; 2 – двуядерные гепатоциты. Окрашивание гематоксилином и эозином, об. 12, ок. 60.

Fig. 4. Liver of animals in the 3rd day of investigation: a – introduction of CXFTG; b – introduction of CXFTG+CAP; c – control group; d – introduction of CAP; 1 – intracellular vacuoles; 2 – binuclear hepatocytes. Staining with hematoxylin and eosin, objective $\times 12$, ocular $\times 60$.

сутки после введения щитовидной железы. Вследствие этого уменьшалась площадь гепатоцитов, что максимально проявлялось на 7-е сутки после сочетанного введения биологического материала и на 14-е сутки после введения ККФЩЖ.

Известно, что тиреоидные гормоны регулируют пролиферацию и полиплоидизацию гепатоцитов [23, 27, 28], а в исследовании [25] отмечены гиперпролиферативные изменения при введении тиреоид-

slightly expressed, vacuolization was absent (Fig. 5, b). There were noted a great number of small binuclear hepatocytes with small nuclei (upto 10 in the vision field) as well as single hepatocytes with three nuclei, herewith, the tendency to the increase of hepatocyte and their nuclei areas was observed. In animals of the control group in this period of investigation the cell cytoplasm was granulated, vacuolization was absent (Fig. 5, c). The nuclei were mostly large, hyperchro-

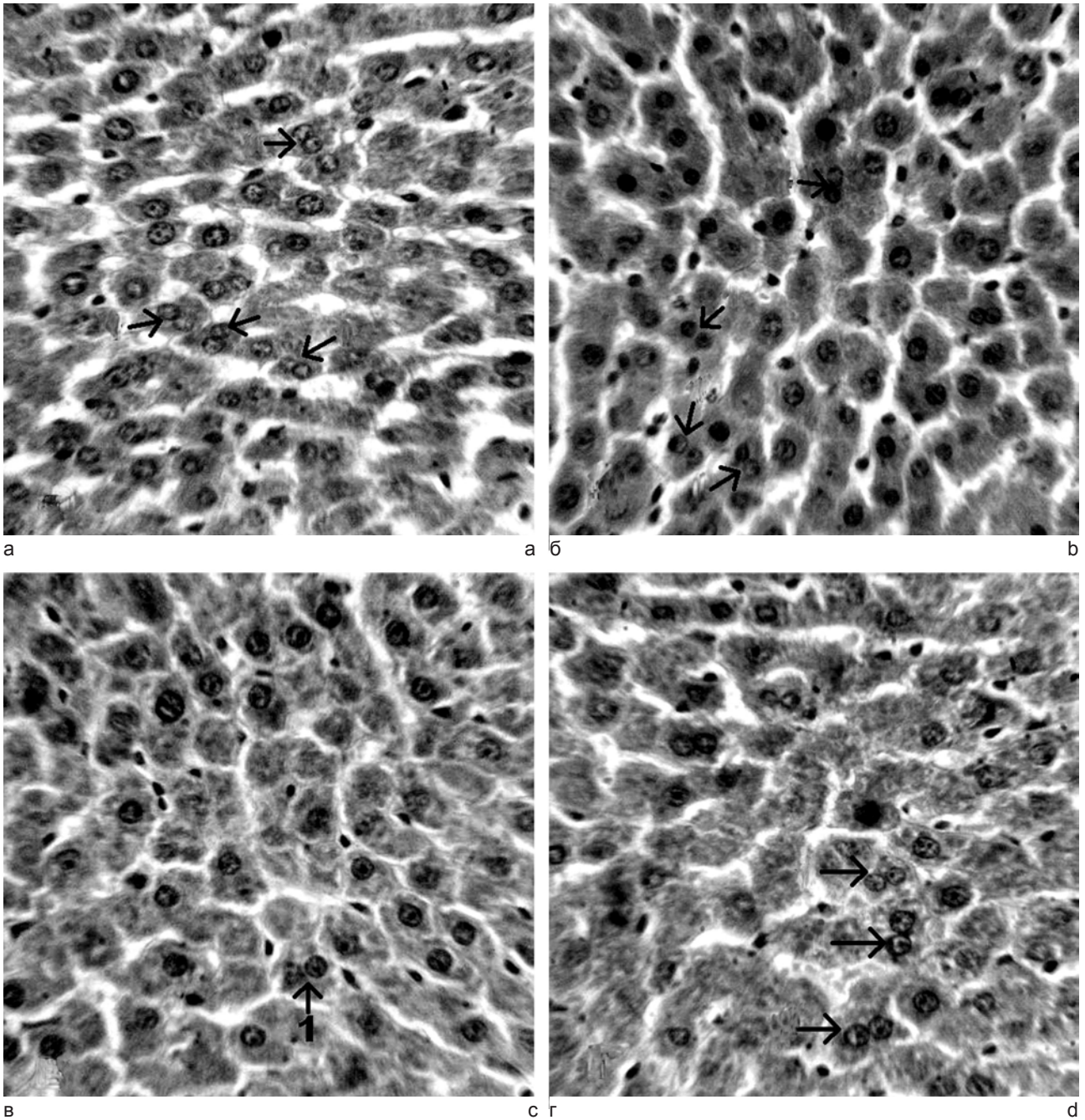


Рис. 5. Печень животных на 14-е сутки эксперимента: а – введение ККФЩЖ; б – введение ККФЩЖ+КАП; в – контроль; г – введение КАП; стрелками указаны двуядерные гепатоциты. Окрашивание гематоксилином и эозином, ок. 12, об. 60.

Fig. 5. Liver of animals to the 3rd day of investigation: a – introduction of CXFTG; b – introduction of CXFTG + CAP; c – control group; d – introduction of CAP; arrows point the binuclear hepatocytes. Staining with hematoxylin and eosin, objective $\times 12$, ocular $\times 60$.

ных фолликулов в ткань печени тиреоидэктомированных животных. Предположительно, этот эффект обусловлен местным действием тиреоидных гормонов. В нашей работе подобное влияние наблюдалось при подкожном введении ткани щитовидной железы. Следовательно, можно допустить, что пролиферативная активность гепатоцитов в большей степени определяется не только прямым действием тиреоидных гормонов, содержащихся

mic. Binuclear hepatocytes were present in a small number (1–3 in the vision field). Morphometrical parameters were not changed significantly comparing to the previous period of experiment. In the 4th group of animals the morphometric indices also did not differ from the values of the 7th day of investigation. Cytoplasm vacuolization was not observed, nuclei were large, hyperchromic, the number of binuclear hepatocytes was up to 5 in the vision field (Fig. 5, d).

во введенной ткани щитовидной железы, а также другими тканеспецифичными биологически активными веществами и этот эффект не зависит от места введения биоматериала.

В 4-й группе животных выраженной митотической активности и образования большого числа двуядерных гепатоцитов не наблюдали, следовательно, можно предположить, что введение плаценты стимулировало иной тип регенерации ткани.

Таким образом, в данном эксперименте наблюдалось два разных механизма восстановления ткани печени. Введение фрагментов щитовидной железы стимулировало внутриклеточную пролиферацию за счет тканеспецифических и тканенеспецифических биологически активных веществ, содержащихся в биоматериале, что проявлялось в увеличении количества двуядерных гепатоцитов практически в 4 раза относительно интактных значений на 14-е сутки эксперимента. Введение плацентарной ткани также сопровождалось регенерацией паренхимы печени, но увеличение количества двуядерных гепатоцитов было менее выражено и, как показало наше предыдущее исследование [18], метаболическая функция у животных этой группы была максимально выражена, что проявлялось в быстрой нормализации показателей липидного спектра. В то же время сочетанное введение ткани щитовидной железы и плаценты усиливало действие щитовидной железы и выраженные морфологические изменения проявлялись на 7-е сутки эксперимента, при этом метаболическая функция печени у животных этой группы была наименее выражена [18].

Выводы

Проведенное исследование показало, что введение тиреостатика в течение 2-х месяцев вызывает дистрофию паренхимы печени, а введение биологического материала стимулирует репаративные процессы. Введение ткани щитовидной железы стимулирует пролиферацию гепатоцитов, которая усиливается при комбинированном введении щитовидной железы и плаценты. При введении плацентарной ткани образование двуядерных гепатоцитов наименее выражено.

Литература

1. Бондаренко Т.П., Волкова Н.А., Луговой С.В. Уровень тиреоидных гормонов в плазме крови кроликов после ксенотрансплантации криоконсервированной органной культуры щитовидной железы новорожденных поросят // Проблемы криобиологии. – 2001. – №3. – С. 41–42.
2. Бродин Ю.И., Мичурина С.В., Вакулин Г.М. и др. Изменение гепатоцитов у взрослых крыс-самцов, подвергнутых

It is known that the proteinosis of liver parenchyma is the manifestation of colliquative local necrosis provoked by the disorder of water-electrolyte metabolism during toxic or xenobiotics caused hepatitis [2, 3, 8, 12, 13]. So the observed changes may be the result of Merkazolil toxic effect as well as of long-term shortage of thyroid hormones [19, 22, 27, 28].

During introduction of CXFTG and CXFTG + CAP to the 7th day after the combined transplantation we observed an increased mitotic activity and appearance of binuclear hepatocytes in a great number (upto 10–12 in the vision field), as well as in the 14th day after introduction of the thyroid tissue. As a consequence the hepatocyte areas decreased, and this fact was maximally manifested to the 7th day after the combined introduction of biological material and to the 14th day after introduction of CXFTG.

It is known that thyroid hormones regulate proliferation and polyploidization of hepatocytes [23, 27, 28], and Dombrowski *et al.* [25] found the signs of hyperproliferation during introduction of thyroid follicles into the liver tissue of thyroid-ectomized animals. This effect is likely stipulated by local effect of thyroid hormones. In our study the similar effects were observed during the subcutaneous introduction of thyroid tissue. Consequently, it is possible to suggest that proliferative activity of hepatocytes is mostly determined not only by a direct action of thyroid hormones contained in introduced thyroid tissue, but also by other tissue-specific biologically active substances and this effect does not depend on the place of biomaterial introduction.

In the 4th group of the animals an obvious mitotic activity and formation of a great number of binuclear hepatocytes was not observed so it is possible to suggest that placenta introduction stimulated another type of tissue regeneration.

Thus, two different mechanisms of liver tissue restoration were observed in this experiment. The introduction of thyroid fragments stimulated intracellular proliferation due to tissue-specific and tissue-nonspecific biologically active substances contained in biomaterial that was revealed in the increase of binuclear hepatocyte number as much as in 4 times comparing with the intact indices in the 14th day of experiment. The introduction of placenta tissue also was accompanied by liver parenchyma regeneration but the increase of binuclear hepatocyte number was less expressed and as our previous investigation showed [18] metabolic function of animals of this group was maximally expressed, revealed in rapid normalization of lipid spectrum indices. At the same time, the combined introduction of thyroid tissue and placenta strengthened the thyroid gland effect and expressed morphological changes appeared in the 7th day of experiment moreover metabolic liver function of animals of this group was less expressed [18].

действию 3,4-бензипрена в различные периоды онтогенеза // Морфология.– 1993.– Т. 105, №7–8.– С. 97–104.

3. Брюхин Т.В., Николина О.В., Барышева С.В. Морфофункциональная характеристика щитовидной железы потомства самок крыс с хроническим экспериментальным поражением печени различной этиологии // Морфология.– 2005.– Т. 128, №5.– С. 56–59.
4. Грищенко В.И., Прокопюк О.С., Кузьміна І.Ю. та ін. Заготівля, кріоконсервування плацентарної тканини та їх клінічне застосування.– Київ, 1996.– 10 с.
5. Грищенко В.И., Бобырева Л.Е., Шепитько В.И. и др. Использование криоконсервированной плацентарной ткани в комплексной терапии сахарного диабета и его осложнений // Материалы симпозиума "Биоимплантология на пороге XXI века".– М., 2001.– С. 143.
6. Дворник І.Л. Вивчення терапевтичної дії кріоконсервованої фетоплацентарної тканини в комплексній терапії цукрового діабету 1 та 2 типів: Автореф. дис.... канд. мед. наук.– Харків, 2004.– 20 с.
7. Долот В.В. Вивчення ефективності клінічного використання трансплантації культури тканин щитоподібної залози новонароджених поросят як метод лікування гіпотиреозу // Трансплантологія.– 2003.– Т. 4, №1.– С. 143–144.
8. Каримов Х.Я., Иноятов Ф.Ш., Дадажанов Ш.Н. и др. Морфологические особенности реакции печени крыс на хроническое воздействие ксенобиотиками // Морфология.– 2002.– Т. 122, №5.– С. 25–27.
9. Кондаков І.І. Антиатерогенна дія кріоконсервованої плаценти при експериментальному атеросклерозі: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.– Харків, 2008.– 18 с.
10. Морозова Р.П., Козулina Е.П., Николенко І.А. и др. Плацента – источник биологически активных веществ // Укр. биохим. журн.– 1999.– Т. 71, №4.– С. 21–29.
11. Погорелов А.В. Распространенность заболеваний щитовидной железы среди населения Украины // Клінічна хірургія.– 1998.– №6.– С. 43–44.
12. Садовникова В.В., Садовникова І.В., Иванова Н.Л. Морфологические изменения в печени крыс при токсическом медикаментозном гепатите и стимуляции репаративных процессов // Морфология.– 2001.– Т. 120, №6.– С. 63–65.
13. Струков А.И., Серов В.В. Патологическая анатомия.– М.: Медицина, 1993.– 688 с.
14. Третьяк С.И., Хрыщанович В.В. Трансплантация культур клеток щитовидной железы и других эндокринных органов – новое направление в хирургической эндокринологии // Медицинские новости.– 2004.– №12.– С. 9–14.
15. Тронько Т.Д., Горбань Є.М., Пастер І.П. та ін. Вплив ксенотрансплантації органної культури щитоподібної залози на стан гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної системи при експериментальному гіпотиреозі // Трансплантологія.– 2000.– Т. 1, №1.– С. 236–238.
16. Турчин І.С., Дроздович І.І., Сидоренко Л.М. Морфофункціональна характеристика трансплантата щитовидної залози щурів з пострадіаційним гіпотиреозом у динаміці функціонування // Трансплантологія.– 2000.– Т. 1, №1.– С. 234–235.
17. Чуйко В.А., Грищенко В.И., Утевский А.М. и др. Трансплантация криоконсервированной щитовидной железы как метод лечения гипотиреоза: Метод. рекомендации.– Харьков, 1986.– 6 с.
18. Чуйкова В.И. Действие фетальных тканей на метаболизм липидов при гипотиреозе в эксперименте // Проблемы криобиологии.– 2008.– Т. 18, №4.– С. 448–452.
19. Чхетия Т.А., Соляник Ф.Т., Пивоварова О.А. и др. Гепатобилиарная патология у больных с гипотиреозом // "Фундаментальні питання експериментальної та клінічної ендокринології": Четверті Данилевські читання.– Харків, 2005.– С. 214–216.

Conclusions

The carried-out investigation showed that introduction of thyrostatics during 2 months caused the dystrophy of liver parenchyma, and the introduction of biological material stimulated the reparative processes. The introduction of thyroid tissue stimulates hepatocyte proliferation which is strengthened during combined introduction of thyroid gland and placenta. During introduction of placenta tissue the formation of binuclear hepatocytes was less expressed.

References

1. Bondarenko T.P., Volkova N.A., Lugovoy S.V. Thyroid hormone level in rabbit's blood plasma at the xenotransplantation of cryopreserved organ culture of neonatal piglets' thyroid gland // Problems of Cryobiology.– 2001.– N3.– P. 41–42.
2. Brodin Yu.I., Michurina S.V., Vakulin G.M. et al. The changes of male rat hepatocytes exposed to the effect of 3,4-benzipren in different periods of ontogenesis // Morphology.– 1993.– Vol. 105, N7–8.– P. 97–104.
3. Bryukhin T.V., Nikolina O.V., Barysheva S.V. Morphofunctional thyroid characteristic of female rat brood with chronic experimental liver lesion of different etiology // Morphologiya.– 2005.– Vol. 128, N5.– P. 56–59.
4. Grischenko V.I., Prokopyuk O.S., Kuzmina I.Yu. et al. Procurement, cryopreservation of placenta tissue and their clinical application.– Kyiv, 1996.– 10 p.
5. Grischenko V.I., Bobyreva L.Ye., Shepitko V.I. et al. Using of cryopreserved placenta tissue in complex therapy of diabetes and its complications // Proceeding of Symposium "Bioimplantology at the beginning of XXI century".– Moscow, 2001.– P. 143.
6. Dvornik I.L. Studying of therapeutical effect of cryopreserved fetoplacental tissue in complex therapy of diabetes of the 1st and 2nd type: Author's Abstract of Thesis ... of the Candidate of Medical Sciences Thesis.– Kharkiv, 2004.– 20 p.
7. Dolot V.V. The studying of clinical using efficiency of new born piglet thyroid tissue culture transplantation as the method of hypothyroidism treatment // Transplantologiya.– 2003.– Vol. 4, N1.– P. 143–144.
8. Karimov Kh.Ya., Inoyatov F.Sh., Dadazhanov Sh.N. et al. Morphological peculiarities of rat liver reaction at chronic influence of xenobiotics // Morphologiya.– 2002.– Vol. 122, N5.– P. 25–27.
9. Kondakov I.I. Antiatherogenic effect of cryopreserved placenta during experimental atherosclerosis: Author's Abstract of Thesis ... of the Candidate of Medical Sciences Thesis.– Kharkov, 2008.– 18 p.
10. Morozova R.P., Kozulina Ye.P., Nikolenko I.A. et al. Placenta is source of biologically active substances // Ukr. Biokhim. Zhurn.– 1999.– Vol. 71, N4.– P. 21–29.
11. Pogorelov A.V. Prevalence of thyroid diseases among Ukrainian population // Klinichna Khirurgiya.– 1998.– N6.– P. 43–44.
12. Sadovnikova V.V., Sadovnikova I.V., Ivanova N.L. Morphological changes in rat liver during toxic medicamental hepatitis and stimulation of reparative processes // Morphologiya.– 2001.– Vol. 120, N6.– P. 63–65.
13. Strukov A.I., Serov V.V. Pathological anatomy.– Moscow: Medicine, 1993.– 688 p.
14. Tretyak S.I., Khryshanovich V.V. Transplantation of thyroid cell cultures and other endocrine organs is new trend in surgical endocrinology // Medical News.– 2004.– N12.– P. 9–14.
15. Tronko T.D., Gorban Ye.M., Paster I.P. et al. Xenotransplantation of thyroid organ culture influence on state of hypo-

20. *Шепітько В.І.* Структурно-функціональні показники кріоконсервованої плаценти і вплив її трансплантації на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів: Автореф. дис.... д-ра. мед. наук.– Харків, 2004.– 40 с.
21. *Шепітько К.В.* Вплив кріоконсервованої фетоплацентарної тканини на перебіг стабільної стенокардії напруги: Автореф. дис.... канд. мед. наук.– Харків, 2004.– 24 с.
22. *Berry M.J., Kates A.L., Larsen P.R.* Thyroid hormone regulates type I deiodinase messenger RNA in rat liver // *Mol. Endocrinol.*– 1990.– Vol. 4, N5.– P. 743–748.
23. *Bianco A.C., Salvatore D., Gereben B. et al.* Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases // *Endocrine Rev.*– 2002.– Vol. 23, N1.– P. 38–89.
24. *Bhargava H.N., Ramarao P., Gulati A. et al.* Brain and pituitary receptors for thyrotropin-releasing hormone in hypothyroid rats // *Pharmacology.*– 1989.– Vol. 38, N4.– P. 243–352.
25. *Dombrowski F., Klotz L., Hacker H.J. et al.* Hyperproliferative hepatocellular alterations after intraportal transplantation of thyroid Follicles // *Am. J. Pathol.*– 2000.– Vol. 156, N1.– P. 99–113.
26. *Krysiak R., Okopien B., Herman Z.S.* Subclinical thyroid disorders // *Pol. Merkur. Lekarski.*– 2006.– Vol. 21, N126.– P. 573–578.
27. *Malik R., Hodgson H.* The relationship between the thyroid gland and the liver // *Q. J. Med.*– 2002.– Vol. 95, N9.– P. 559–569.
28. *Torres S., Diaz B.P., Cabrera J.J. et al.* Thyroid hormone regulation of rat hepatocyte proliferation and polyploidization // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*– 1999.– Vol. 276, N1.– P. 155–163.
29. *Wei J.P., Zhang T.S., Kawa S. et al.* Human amnion-isolated cells normalize blood glucose in streptozotocin-induced diabetic mice // *Cell Transplant.*– 2003.– Vol. 12, N5.– P. 545–552.
30. *Zahedi S., Nabavizadeh F.* A study on the fragility of red blood cells in hypothyroid rats // *Irn. J. Endocrinol. Metab.*– 2002.– Vol. 4, N2.– P. 134–138.
- thalamus-hypophyseal-thyroid system during experimental hypothyroidism // *Transplantologia.*– 2000.– Vol. 1, N1.– P. 236–238.
16. *Turchin I.S., Drozdovich I.I., Sidorenko L.M.* Morphofunctional characteristics of rat thyroid transplantant with post-radiation in functioning dynamics // *Transplantologia.*– 2000.– Vol. 1, N1.– P. 234–235.
17. *Chuyko V.A., Grischenko V.I., Utevskiy A.M. et al.* Transplantation of cryopreserved thyroid gland as the method of hypothyroidism treatment: Methodical recommendations.– Kharkov, 1986.– 6 p.
18. *Chuykova V.I.* Fetal tissue effect on lipid metabolism during hypothyroidism in the experiment // *Problems of Cryobiology.*– 2008.– Vol. 18, N4.– P. 448–452.
19. *Chkhetiya T.A., Solyanik F.T., Pivovarova O.A. et al.* Hepatobiliary pathology of patients with hypothyroidism // *Fundamental questions of experimental and clinical endocrinology: 4th Danilevsky' Chteniya.*– Kharkiv, 2005.– P. 214–216.
20. *Shepitko V.I.* Structural-functional indices of cryopreserved placenta and its transplantation influence on morphofunctional state of some internals: Author's Abstract of Thesis ... of the Doctor of Medical Sciences Thesis.– Kharkiv, 2004.– 40 p.
21. *Shepitko K.V.* Influence of cryopreserved fetoplacental tissue on the course of stable tension stenocardia: Author's Abstract of Thesis ... of the Candidate of Medical Sciences Thesis.– Kharkiv, 2004.– 24 p.
22. *Berry M.J., Kates A.L., Larsen P.R.* Thyroid hormone regulates type I deiodinase messenger RNA in rat liver // *Mol. Endocrinol.*– 1990.– Vol. 4, N5.– P. 743–748.
23. *Bianco A.C., Salvatore D., Gereben B. et al.* Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases // *Endocrine Rev.*– 2002.– Vol. 23, N1.– P. 38–89.
24. *Bhargava H.N., Ramarao P., Gulati A. et al.* Brain and pituitary receptors for thyrotropin-releasing hormone in hypothyroid rats // *Pharmacology.*– 1989.– Vol. 38, N4.– P. 243–352.
25. *Dombrowski F., Klotz L., Hacker H.J. et al.* Hyperproliferative hepatocellular alterations after intraportal transplantation of thyroid Follicles // *Am. J. Pathol.*– 2000.– Vol. 156, N1.– P. 99–113.
26. *Krysiak R., Okopien B., Herman Z.S.* Subclinical thyroid disorders // *Pol. Merkur. Lekarski.*– 2006.– Vol. 21, N126.– P. 573–578.
27. *Malik R., Hodgson H.* The relationship between the thyroid gland and the liver // *Q. J. Med.*– 2002.– Vol. 95, N9.– P. 559–569.
28. *Torres S., Diaz B.P., Cabrera J.J. et al.* Thyroid hormone regulation of rat hepatocyte proliferation and polyploidization // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*– 1999.– Vol. 276, N1.– P. 155–163.
29. *Wei J.P., Zhang T.S., Kawa S. et al.* Human amnion-isolated cells normalize blood glucose in streptozotocin-induced diabetic mice // *Cell Transplant.*– 2003.– Vol. 12, N5.– P. 545–552.
30. *Zahedi S., Nabavizadeh F.* A study on the fragility of red blood cells in hypothyroid rats // *Irn. J. Endocrinol. Metab.*– 2002.– Vol. 4, N2.– P. 134–138.

Поступила 09.11.2010
Рецензент Е.И. Легач

Accepted in 09.11.2010