

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ПОЛИВ'ЯНА ОЛЕКСАНДРА АНАТОЛІЇВНА

УДК 616.69 – 089.8:612.08:599.323.4

ДИСЕРТАЦІЯ

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕПАТОЦИТІВ
ЩУРІВ ПРИ ЦЕНТРАЛЬНІЙ ДЕПРИВАЦІЇ ТЕСТОСТЕРОНУ**

222 – Медицина

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

О.А. Полив'яна

(підпис)

Науковий керівник: Стецук Євген Валерійович, кандидат медичних наук,
доцент

Полтава – 2025

АНОТАЦІЯ

Полив'яна О.А. Морфофункціональна характеристика гепатоцитів щурів при центральній депривації тестостерону. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії галузь знань 22 Охорона здоров'я, за спеціальністю 222 Медицина. – Полтавський державний медичний університет, м. Полтава, 2025.

Дані деяких авторів вказують на те, що захворюваність і смертність на рак передміхурової залози (РПЗ) входить у п'ятірку агресивних онкозахворювань по всьому світі. Прогноз для пацієнтів залежить від тяжкості перебігу хвороби та поєднаних нозологій. Розповсюдженість РПЗ залежить від труднощів скринінгу, особливо на початку захворювання, діагностування на пізніх стадіях хвороби. [1] За даними зарубіжних наукових досліджень середній вік захворювання становить 50-55 років. Симптоматика РПЗ у більшості випадків протікає безсимптомно, тому захворювання в основному діагностується в період несприятливий для пацієнта. Для ранньої діагностики слугує скринінг на основні простатспецифічні антигени, який являє собою головним маркером для раннього виявлення захворювання. [2] При РПЗ страждає не тільки тканини, а і відбувається порушення гормонального фону.

Тестостерон - основний чоловічий статевий гормон, що відноситься до андрогенів. [3] Синтез та секреція тестостерону регулюються лютеїнізуючим та фолікулостимулюючим гормонами гіпофіза і знаходиться під контролем гіпоталамо-гіпофізарно-гонадної вісі. Вільний тестостерон потрапляє до клітин через плазматичну мембрану шляхом пасивної дифузії. У більшості тканин гормон виявляється в клітинному ядрі. [4]. Тестостерон та дигідротестостерон здійснюють свої ефекти, зв'язуючись із внутрішньоклітинними рецепторами [5]. Тестостерон має широкий спектр фізіологічних функцій, впливаючи на різні органи та системи, включаючи головний мозок, периферичні нерви, м'язи, жирову та кісткову тканину,

серцево-судинну систему, а також травну систему. Він регулює метаболізм вуглеводів, ліпідів та білків, надаючи вплив на ріст м'язової тканини, процес адипогенезу, стимулює еритропоез [6].

З іншого боку, деякі медичні ситуації вимагають вживання ліків, що блокують синтез тестостерону. Наприклад, РПЗ вимагає лікування хірургічною кастрацією, оскільки ця пухлина дуже чутлива до андрогенів та тестостерону. У разі хірургічної кастрації немає ризику аутоімунного пошкодження яєчок, оскільки антигени виводяться з організму. Однак у деяких випадках хімічна кастрація може бути використана як вибір лікування. Це особливо вірно, як РПЗ був діагностований у досить молодому віці або пацієнт все ще бажає залишитися фертильним. Вплив тривалої депривації синтезу тестостерону на морфологічні, біохімічні та імунологічні зміни не тільки в яєчках, а і в деяких органах, наприклад в печінці досі погано описано в науковій літературі. [7, 8, 9, 10]

На сьогоднішній день фармакомпанії можуть представити препарати представників агоністів та антагоністів гіпоталамо-рилізінг гормону (ГнРГ), які використовують дуже поширено в урології. [11] Найвідоміші представники фармакологічної групи: лейпрорелін, гoserелін, гістрелін, трипторелін і дегарелікс. Вони характеризуються рядом факторів: пролонгованою дією; інтервал ведення - 1, 3, 6, 9, 12 місяців; спосіб введення - парентеральне. Одна з головних дій - це використання в онкології, насамперед при лікуванні РПЗ, а також при безплідді, передчасному статевому дозріванні [12].

Аналоги ГнРГ вже більше 15 років широко застосовуються в терапії раку простати. В Україні гoserелін (1 міс. 1 М; 3 міс. 3 М.) наразі займає основну частину ринку серед аналогів ГРГ. Альтернативою гoserеліну є трипторелін (1 міс. 1 М; 1 міс. 3 М; 6 міс. 6 М) – ще один добре вивчений і широко застосовуваний аналог гонадотропін-рилізінг гормону, який використовується для медикаментозної кастрації при раку простати.

Враховуючи це, проведення аналізу застосування триптореліну та гозереліну є актуальним. [13,14]

Згідно рекомендаціям Європейської асоціації урологів [15, 16, 17], на даний час широко використовується у практиці лікарів онко-урологів препарати андрогенодеприваційної терапії [18], а саме: Трипторелін, фармакологічні властивості якого - вивільнення гонадотропіну, після короткого періоду стимулювання гонадотропної функції гіпофізу інгубує секрецію гонадотропіну з подальшим пригніченням як жіночого, так і чоловічого стероїдогенезу.

Для досягнення мети нами було поставлено 4 завдання:

Встановити закономірності реакції ланок ГМЦР печінки та гепатоцитів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

Визначити закономірності реакції ланок ГМЦР печінки та з'ясувати морфологічну перебудову в організації її гепатоцитів щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину;

З'ясувати вплив пригнічення тестостерону на активність каспази-3 в тканинах печінки при довготривалому блокуванні релізінггормону у щурів самців на тлі введення кверцетину.

Дослідити розвиток оксидативного ушкодження тканин печінки за умов введення триптореліну та триптореліну і кверцетину.

У роботі використані наступні методи досліджень:

експериментальний метод – дослідження проводилися у певних поставлених умовах;

загальногістологічні методи – для встановити закономірності реакції ланок ГМЦР печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину;

морфометричний - для визначення кількісних параметрів структурних компонентів ГМЦР печінки та співвідношення одноядерцевих,

двоядерцевих та двоядерних гепатоцитів з підрахунком площі та об'єму ядер та цитоалазми клітин;

біохімічні методи – для визначення впливу водорозчинної форми кверцетину на метаболічні зміни гепатоцитів щурів та ГМЦР печінки за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном;

імуногістохімічні – показати зміни в розповсюдженні ензиму каспаза - 3 при довготривалому моделюванні блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину

статистичне опрацювання результатів дослідження за допомогою пакета прикладних програм Microsoft Office Excel software and the Real Statistics 2019.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше показано, що введення триптореліну для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону призводить до розвитку оксидативного стресу в печінці щурів внаслідок порушення антиоксидантного захисту та надмірного утворення активних форм кисню на всіх термінах експерименту, а також корекція цього стану введенням кверцетину.

Вперше встановлено, що реакція ГМЦР печінки на введення триптореліну характеризується змінами морфометричного параметра діаметра артеріальних та венозних ланок з поступовим збільшенням кровонаповнення тканин печінки яке проявляється на 6-й місяць експерименту в обох експериментальних групах.

Уперше, за допомогою комплексного дослідження встановлені особливості морфогенезу гепатоцитів при дисгормональному стані “гіпоталамус–гіпофіз–сім’яник–печінка” викликаного введення триптореліну, що призводило до виникнення зміни в популяції клітин двоядерцевих та двоядерних починаючи з 1-го до 12-го місяця дослідження та корекції цього стану введенням кверцетина.

Вперше доказано, що тривале введення триптореліну призводить до активації апоптозу в печінці, про що свідчить підвищена експресія каспази-

3. Введення кверцетину знижувало апоптотичну активність, що вказує на його потенційний гепатопротекторний ефект у даній експериментальній моделі.

Практичне значення отриманих результатів дослідження. Отримані дані є теоретичною передумовою для розробки діагностичного алгоритму вивчення біоптатів печінки для морфологічної експрес-діагностики ступеня адаптаційних і компенсаторних резервів тканин органу при патологічних процесах та дають змогу добору комплексу терапії за умови уражень печінки. Отримані нові наукові дані щодо використання біофлаваноїдукверцетину який ефективно зменшує гіпоксичне ушкодження печінки при дисгормональному розладі, про що свідчить свідчить про перекисне окислення ліпідів і розвиток оксидативного стресу, яке проявляється зниженням вмісту малонового діальдегіду на всіх термінах експерименту порівняно із показниками групи введення триптореліну. Отримані результати визначають важливість вивчення структурної організації паренхіми печінки, а саме в зміні кількості ядер та ядерць гепатоцитів в процесів дисгормонального розладу захищають від окисного стресу і гепатоксичного пошкодження клітини і збільшують транскрипційні моменти в процесі поділу, рісту, проміжного обміну речовин, синтезу білка і його диференціювання.

Впровадження результатів дослідження. Отримані в дисертаційній роботі результати впроваджені в науково-дослідну роботу та навчальний процес: кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету, кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри гістології, цитології, ембріології та

патологічної морфології з курсом судової медицини Одеського національного медичного університету.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація викладена на 181 сторінках друкованого тексту й складається з таких розділів: анотація, вступ, огляд літератури, матеріали та методи, 3-х розділів результатів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, додатки. Список використаних джерел включає 211 найменувань, розміщених на 29 сторінках. Робота проілюстрована 50 рисунками, 26 мікрофотографіями та 6 таблицями.

Ключові слова: печінка, трипторелін, тестостерон, кверцетин, біофлавоноїди, антиоксидантний захист, лютеїнізуючий гормон, оксидативний стрес, каспаза, кастрація, імуногістохімія, судини, судинне русло, вени, артерії, капіляри, морфометрія, щури-самці

ANNOTATION

Polyviana O.A. Morphofunctional characteristics of rats hepatocytes at central testosterone deprivation. - Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 22 - Health Care, 222 - Medicine. - Poltava State Medical University, Poltava, 2025.

The data of some authors indicate that the incidence and mortality on prostate cancer (RPZ) is included in the five aggressive cancer around the world. The prognosis for patients depends on the severity of the disease and combined nosologies. The prevalence of RPZ depends on the difficulty of screening, especially at the beginning of the disease, diagnosis in the later stages of the disease. [1] According to foreign research, the average age of the disease is 50-55 years. In most cases, the symptoms of the RPD are asymptomatic, so the disease is mainly diagnosed during the period unfavorable for the patient. For early diagnosis, screening for the main prostate -specific antigens, which is a major marker for early detection of the disease. [2] At the RPZ not only the tissue suffers, but also there is a violation of the hormonal background.

Testosterone is the main male sex hormone that belongs to androgens. [3] The synthesis and secretion of testosterone are regulated by luteinizing and follicle-stimulating hormones of the pituitary gland, and is under the control of the hypothalamic-pituitary and gonadine axis. Free testosterone enters the cells through the plasma membrane by passive diffusion. In most tissues, the hormone is found in the cellular nucleus. [4]. Testosterone and dihydrotestosterone have their effects, connecting with intracellular receptors [5]. Testosterone has a wide range of physiological functions, affecting various organs and systems, including the brain, peripheral nerves, muscles, adipose and bone tissue, cardiovascular system, as well as the digestive system. It regulates the metabolism of carbohydrates, lipids and proteins, having an effect on muscle growth, the process of adipogenesis, stimulates erythropoiesis [6].

On the other hand, some medical situations require the use of testosterone synthesis. For example, RPS requires treatment for surgical castration, as this tumor is very sensitive to androgens and testosterone. In the case of surgical castration there is no risk of autoimmune damage to the testicles, since antigens are excreted. However, in some cases, chemical castration can be used as a choice of treatment. This is especially true as the RPZ was diagnosed at a fairly young age or the patient still wants to remain fertile. The effect of prolonged deprivation of testosterone synthesis on morphological, biochemical and immunological changes not only in the testes, but also in some organs, for example, in the liver is still poorly described in the scientific literature. [7, 8, 9, 10]

To date, pharmacotherapy may be represented by drugs of agonists and antagonists hypothalamic hormone (GnRH), which are used very widespread in urology. [11] The most famous representatives of the pharmacological group: Leuprorelin, Gosrelin, Histrelin, Tryptorelin and Degarelix. They are characterized by a number of factors: prolonged action; conduct interval - 1, 3, 6, 9, 12 months; The method of administration is parenteral. One of the main actions is the use in oncology, especially in the treatment of RPZ, as well as in infertility, premature puberty [12].

GnRH analogues have been widely used in prostate cancer for over 15 years. In Ukraine, Gosrelin (1 month 1 mg; 3 months 3 mg) currently occupies the major part of the market among the analogues of GnRH. The alternative to leuprorelin is tryptorelin (1 month 1 mg; 1 month 3 mg; 6 months 6 mg)-another well-studied and widely used analogue gonadotropin-releasing hormone, which is used for drug castration for prostate cancer. Considering this, the analysis of the use of tryptorelin and leuprorelin is relevant. [13,14]

According to the recommendations of the European Association of Urologists [15, 16, 17], is currently widely used in the practice of onco-urologists drugs androgen-deprivation therapy [18], namely: tryptorelin, which is the pharmacological properties of which is the release of gonadotropin. Gonadotropin with subsequent depression of both female and male steroidogenesis.

To achieve the goal we were set 4 tasks:

To establish the patterns of reaction of the links of the hemomicrocirculatory ret (GMCR) of the liver under the conditions of modeling of blockade of synthesis of luteinizing hormone with tryptorelin with the addition of quercetin..

To establish the patterns of reaction of the Liver of the Liver links and to find out the morphological restructuring in the organization of rats hepatocytes under conditions of modeling of blockade of synthesis of luteinizing hormone with tryptorelin with the addition of quercetin.

Investigate the development of oxidative damage to the liver tissues in the conditions of administration of tryptorelin and tryptorelin and quercetin.

Find out the effect of testosterone inhibition on Caspase-3 activity in liver tissues with long-term blocking of relict hormone in males rats on the background of quercetin administration.

The following research methods are used in the work:

the experimental method - research was conducted in certain conditions;

general gys methods - to establish the patterns of reaction of the links of the GMCR liver in the conditions of modeling of blockade of synthesis of luteinizing hormone tryptorelin with the addition of quercetin;

morphometric - to determine the quantitative parameters of the structural components of the Liver of the Liver and the ratio of single -core, diorent and diock hepatocytes with the calculation of the area and volume of nuclei and cytolasma cells;

biochemical methods - to determine the effect of water -soluble forming of quercetin on metabolic changes of rats and Liver HMCR under conditions of prolonged blockade of synthesis of luteinizing hormone tryptorelin;

Immunohistochemical - show changes in the spread of enzyme caspase - 3 with long -term under conditions of modeling blockade of synthesis of luteinizing hormone tryptorelin with the addition of quercetin

Statistical processing of research results using a computer package on your computer.

Scientific novelty of the results obtained. It was first shown that the introduction of tryptorelin for blockade of synthesis of luteinizing hormone leads to the development of oxidative stress in the liver of rats due to impaired antioxidant protection and excessive formation of active forms of oxygen at all times of the experiment, as well as the correction of this condition.

It was first established that the reaction of the GMCR of the liver to the introduction of tryptorelin is characterized by changes in the morphometric parameter of the diameter of arterial and venous units with a gradual increase in blood supply to the liver tissues, which is manifested as significantly as possible in the 6th month of the experiment in both experimental groups. For the first time, with the help of a comprehensive study, the features of the morphogenesis of hepatocytes in the dyshormonal state of the "hypothalamus-gipophysis-tumor-pecchinka" caused by the introduction of tryptorelin, which led to a change in the population of dual-cortex and two-nuclei, the period of the study and two-nucleation of this period of study and the correction of this period of study and two-nuclei, the population of the cells and two-nuclei.

It is first proved that prolonged administration of tryptorelin leads to the activation of apoptosis in the liver, as evidenced by increased expression of Caspase-3. The introduction of quercetin reduced apoptotic activity, which indicates its potential hepatoprotective effect in this experimental model.

The practical importance of the results of the study. The data obtained is a theoretical prerequisite for the development of a diagnostic algorithm for the study of liver biopsies for morphological express diagnostics of the degree of adaptation and compensatory reserves of organ tissues in pathological processes and allow the selection of a complex of therapy with liver lesions. New scientific data on the use of raiboflavanoid quercetin, which effectively reduces hypoxic damage to the liver in dyshormonal disorder, as evidenced by a decrease in the content of infant dialdehyde at all terms of the experiment compared to the grouping group. The

results obtained determine the importance of studying the structural organization of the liver parenchyma, namely in the change in the number of nuclei and nuclei of hepatocytes in the processes of dyshormonal disorder protect against oxidative stress and hepatotoxic damage Morphologists for further study of changes in structural organization of the liver.

Implementation of research results. The results obtained in the dissertation were introduced into research work and educational process: Department of Histology, Cytology and Embryology of Poltava State Medical University, Department of Histology and Embryology of Ternopil National Medical University named after I. Ya. Histology, cytology and embryology of Danylo Halytsky National Medical University, Department of Histology, Cytology, Embryology and Pathological Morphology with a course of forensic medicine of Odessa National Medical University.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЙОЇ РОБОТИ:

Статті:

1. Polyvyana O., Shepitko, V., Stetsuk, Y., Akimov, O., Yakushko, O., & Voloshyna, O. (2021). Morphological changes and oxidative homeostasis in the liver tissues during long central deprivation of luteinizing hormone synthesis by triptorelin. *The Medical and Ecological Problems*, 25(5-6), 39-42. *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).*

2. O. A. Polyvyana, K. V. Shepitko, Ye. V. Stetsuk [et al.]. Influence of prolonged triptorelin-induced central deprivation of testosterone synthesis on morphological structure of rat's liver. *Світ медицини та біології*. – 2021. – № 1 (75). – С. 205–209. **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).*

3. Polyviana O. A., Stetsuk, E. V., Shepitko, V. I., Vilkhova, O. V., Boruta, N. V., Rud, M. V., Pelypenko, L. B., Lysachenko, O. D., Voloshyna, O. V., Dvornyk, I. L., & Morokhovets, H. Y. (2025). Studies of changes in rat hepatocytes under conditions of central blockade of luteinizing hormone synthesis with the additional quercetin. *Reports of Morphology*, 31(1), 52-58. **(Scopus)** *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).*

4. 4. O.A. Polyviana, Ye.V. Stetsuk, V.I. Shepitko, N.V. Boruta, O.V. Vilkhova, L.B. Pelypenko, O.D. Lysachenko Effect of long-term central blocking of hormone release with Triptorelin on oxidative stress marker activity in the liver of rats (2025) *Світ медицини та біології*. 2025. No 1 (91) – С. 177 - 180 **(Web of Science)** *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати*

експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

5. Polyviana O. A., Stetsuk Ye. V., Shepitko V. I., Boruta N. V., Vilkhova O. V., Pelypenko L. B., Lysachenko O. D. (2025). Dynamics of the nuclear index and mitotic number in hepatocytes under central blockade of luteinizing hormone synthesis with quercetin supplementation. Bulletin of problems biology and medicine, 176 (1), 452-460. *(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).*

Тези, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Полив'яна О.А. Морфологічна оцінка гепатоцитів щурів при центральній депривації синтезу тестостерону на 30-ту та 90-у доби спостереження / О.А. Полив'яна, В. І. Шепітько, О.В. Вільхова, Т.А. Скотаренко // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Наукова-практика: сучасні та класичні методи дослідження», м. Бостон, США, 26 лютого 2021 р. – Вінниця, 2021. – С. 86-87 *(Дисертантці належать результати виявлення морфологічних змін у печінці щурів, вивчення процесів утворення активних форм кисню та інтенсивності перекисного окислення ліпідів під час тривалої центральної депривації синтезу тестостерону, спричиненої триптореліном)*

7. Полив'яна О. А. Реакція тканин печінки на депривацію тестостерону у віддалені терміни спостереження / О. А. Полив'яна, В. І. Шепітько // Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини : матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, присвяченої 90-й річниці з дня заснування кафедри медичної біології в рамках святкування 100-річчя заснування Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, 30 вересня–1 жовтня 2021 р. – Полтава, 2021. – С. 74–75. *(Здобувачці належать результати щодо морфологічних особливостей печінки щурів та процесів продукування активних форм кисню та інтенсивності перекисного окислення ліпідів під час тривалої*

центральної депривації синтезу тестостерону, викликаній триптереліном).

8. Полив'яна О.А. Морфофункціональна характеристика гепатоцитів при центральній депривації синтезу тестостерона на ранніх стадіях експерименту / О.А. Полив'яна, В.І. Шепітько // Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава, 8 жовтня 2021 р. - Полтава, 2021. - С. 133 - 135. *(Здобувачці належать результати морфологічних змін у тканині печінки щурів за умов центральної депривації синтезу тестостерону, викликаного дифереліном, на ранніх термінах дослідження).*

9. Полив'яна О.А. Вплив центральної депривації синтезу лютеїнізуючого гормону на біохімічні показники гепатоцитів щурів з 30-ї на 180-у добу спостереження. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Медична наука - 2021»; 4 жовт. 2024; Полтава. Українська медична стоматологічна академія; 2021. с. 34-35. *(Здобувачці належать результати процесів інтенсивності перекисного окислення ліпідів в тканинах печінки під час тривалої центральної депривації синтезу лютеїнізуючого гормону, викликаній триптереліном).*

10. Полив'яна О.А. Morphological and biochemical alterations in rat liver immunocompetent cells on 270-th day of central deprivation of luteinizing hormone synthesis / M. V. Rud, V. I. Shepitko, T. A. Skotarenko, O. A. Polyviana // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація органів людини та тварин в нормі, при патології та за умов корекції», присвячена 100-річчю з дня народження професора І. О. Жутаєва, м. Полтава, Україна, 14 квітня 2022 р. – Полтава, 2022. – С. 57–58. *(Здобувачці належать результати досліджень імунокомпетентної клітин печінки, як якісних, так і кількісних, викликаних*

пригніченням центрального синтезу тестостерону у щурів-самців за рахунок введення триптореліну ацетату на 270-й день, а також потенційний вплив кверцетину на морфологію та печінку на тлі попереднього введення розчин триптореліна ацетату.)

11. Полив'яна О. А. Реакція структурних компонентів печінкової дольки при введенні триптореліну на 30-ту добу спостереження у щурів / О. А. Полив'яна, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023. – С. 59–61. *(Здобувачці належать результати досліджень вивчення морфологічних показників в тканинах печінки на момент 30-ти денного блокування синтезу тестостерону).*

12. Полив'яна О.А. Зміни гепатоцитів за умов центральної блокади синтезу лютеїнізуючого гормону та додаванням кверцетину / Полив'яна О.А., Стецук Є.В., Лисаченко О.Д., Левченко О.А.// Матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини», м. Полтава 30-31 жовтня 2024 р. – Полтава, 2024. *(Здобувачці належать результати визначення розподілу, морфогенез та динаміку мінливості підтипів гепатоцитів, а саме двудришкових та двудерних та кількість мітозів в паренхімі печінки за умов центральної блокади синтезу лютеїнізуючого гормону при довготривалій дії триптореліну з додавання в раціон харчування тварин кверцетину).*

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ	2
ANNOTATION	8
СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЙОЇ РОБОТИ	13
ЗМІСТ	17
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	20
ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1 СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ У НОРМІ, ЗА УМОВ ВІДСУТНОСТІ СИНТЕЗУ ТЕСТОСТЕРОНУ ТА ПРИ ВИКОРИСТАННІ КВЕРЦЕТИНУ (ОГЛЯД ЛІТРАТУРИ).....	35
1.1. Морфофункціональна характеристика гепатоцитів печінки в нормі та при різних патологічних станах	35
1.2. Вплив триптореліну на структурну організацію печінки.....	45
1.3. Використання флаваноїду кверцетину для корекції різних патологічних станів	50
1.4.Резюме	53
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	55
2.1. Матеріал дослідження	55
2.2. Методи дослідження та їх обґрунтування	57
2.2.1. Модель експерименту	57
2.2.2. Гістологічне дослідження тканин печінки білих щурів	58
2.2.3. Імуногістохімічний метод дослідження тканин печінки	59

	2.2.4. Морфометрія препаратів гепатоцитів печінки білих щурів	60
	2.2.5. Спектрофотометричні методи дослідження	61
	2.2.6. Статистичне обробка результатів дослідження ..	63
РОЗДІЛ 3	СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ГМЦР ПЕЧІНКИ ТА ПЕРЕБУДОВА ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ БЛОКАДИ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ТРИПТОРЕЛІНОМ.....	64
РОЗДІЛ 4	ВПЛИВ ВОДОРОЗЧИННОЇ ФОРМИ КВЕРЦЕТИНУ НА МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ БЛОКАДИ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ТРИПТОРЕЛІНОМ	87
РОЗДІЛ 5	ВПЛИВ БЛОКАДИ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ТРИПТОРЕЛІНОМ З ДОДАВАННЯМ КВЕРЦЕТИНУ НА ЗМІНИ В АКТИВНОСТІ КАСПАЗИ-3 В ТАНИНІ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ	103
РОЗДІЛ 6	БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ БЛОКАДИ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ТРИПТОРЕЛІНОМ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ КВЕРЦЕТИНОМ	112
	6.1. Вплив тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на біохімічні показники про- та антиоксидантного балансу в печінці щурів.	112
	6.2. Вплив водорозчинної форми кверцетину на біохімічні показники про- та антиоксидантного балансу в печінці щурів за умов тривалої блокади синтезу	

лютеїнізуючого	гормону	
триптореліном.....		119
РОЗДІЛ 7	АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	
ДОСЛІДЖЕННЯ.		126
ВИСНОВКИ		149
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ		151
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		152
ДОДАТКИ		181

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

РПЗ – рак передміхурової залози ;

ГнРГ – гонадотропін-рилізінг гормон;

ГМЦР – гемомікроциркуляторне русло;

NO – оксид азоту;

CAP – супероксид аніон-радикал;

СОД – супероксид дисмутаза;

T – трипторелін;

T+Q – трипторелін з додаванням кверцетину;

МДА – малоновий діальдегід;

eNOS – ендотеліальної NO-синтази;

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Проаналізувавши статистику та опрацювавши дані деяких авторів, на даний час, рак передміхурової залози – найбільш поширене онкологічне захворювання, яке щорічно забирає життя або інвалідізує тисячі чоловіків по всьому світу. За останні роки захворювання на рак передміхурової залози збільшилося у всьому світі. Найчастіше рак простати діагностують у чоловіків віком 55 років і старше. Ця патологія входить до п'ятірки новоутворень серед онкології за поширеністю в Україні у чоловіків і характеризується високим ступенем летальності. Один із найнижчих рівнів одужання займає рак простати. Тільки на ранніх стадіях він добре піддається терапії. Але на цьому етапі безсимптомна картина захворювання, і виявляється лише під час лікарського огляду. Проявляти себе рак починає після проростання пухлини за межі органу та утворення метастаз.

На даний момент, лікарі не мають чіткого уявлення, що викликає рак простати, але помітили, що харчування сприяє ризику захворюваності. Чоловіки, які вживають багато жирного червоного м'яса, мають схильність до недуги, ніж ті, хто вживає в своєму раціоні злаки, соєві продукти та овочі. Не меншу роль відіграють і гормони. Вживання щоденно великої кількості жирів підвищує кількість тестостерону в організмі, а тестостерон прискорює розвиток раку простати. Недостатня кількість тестостерону може посилити пошкодження печінки, спричинити ожиріння чи взагалі призвести до гепатозу. [20] Як відомо, дефіцит тестостерону робить тканини мозку вразливими до окисних пошкоджень, спричинених стресовою реакцією [21]

Печінка - це найбільша травна залоза, що належить до середнього відділу тварної системи. Печінка виконує безліч функцій серед яких виділяють наступні:

- травна (жовч продукується печінкою і бере участь в емульгації та розщепленні жирів);
- дезінтоксикаційна (забезпечує знешкодження токсичних речовин);

- захисна (здатність спеціальних клітин печінки до фагоцитозу);
- метаболічна (печінка забезпечує синтез усіх білків плазми крові, глікогену, холестерину, жовчних кислот і білірубіну, забезпечує регуляцію усіх видів обміну, інактивацію гормонів і біологічно активних речовин);
- накопичувальна (накопичення жиророзчинних вітамінів: А, Е, Д, К);
- ендокринна (синтез гормонів соматомединів - це поліпептидний гормон, який необхідний для нормального росту і розвитку кісток і тканин організму);
- кровотворна (в період ембріогенезу є кровотворним органом);
- депонуюча (печінка є депо крові).

Структурно-функціональною одиницею печінки є печінкова часточка. Печінкова часточка представляє собою шестигранну призму, у центрі якої розташована центральна вена і до центральної вени радіально сходяться печінкові балки, які складаються із гепатоцитів. Між собою печінкові часточки прилягають одна до одної та відмежовуються незначною кількістю сполучної тканини, або балки однієї часточки аностомузують з балочками іншої. Гепатоцити у складі печінкових балочок підтримуються ретикулярними волокнами. У складі печінкових балочок розрізняють типи клітин: гепатоцити, перисинусоїдальні ліпоцити (клітини Іто), зірчасті макрофаги (клітини Купфера) та ямкові клітини (Pit - клітини).

Гепатоцити - це основні клітини печінки, що утворюють печінкові балочки. Гепатоцити виконують: метаболізм жирів, вуглеводів та білків; зберігають глюкозу, вітаміни та залізо; проводять детоксикацію метаболічних відходів, ліків та токсинів; утворюють жовч, білків плазми та замінних амінокислот. Гепатоцити представлені великими полігональними епітеліальними клітинами. Цитоплазма гепатоцитів має рожеве забарвлення, так як збагачена на мітохондрії. [22]

Дослідження гепатоцитів та печінки мають колосальну актуальність на сьогоднішній день. Перші ознаки порушення ушкодження печінки - це

наявність патологічних процесів: жовтяниці, набряки, слабкість, дискомфорт в епігастрії, свербіж, висип. Проблеми з печінкою часто виникають через неправильний спосіб життя, вживання алкоголю або вірусні інфекції. Захворювання печінки, такі як гепатит або цироз, потребують негайної медичної уваги. По - друге: діагностика, лікування та реабілітація. По - третє: розвиток технологій для методики візуалізації патологічних процесів, що сприяє покращенню діагностики, хірургічних втручань та прогнозування ускладнень. Дослідження гепатоцитів дозволяє виявляти фактори ризику розвитку ускладнень при захворюваннях печінки, включаючи онкологічні та інфекційні захворювання, вживання заходів щодо їх профілактики.

Таким чином, дослідження клітин печінки відіграють ключову роль, допомагаючи підвищенню ефективності лікування серед онко-хворих та покращити прогнози для пацієнтів.

Поглиблене розуміння механізмів захворювання та терапевтичних стратегій, у основі терапії хворим на рак призначають препарати для пригнічення вироблення тестостерону та порушення синтезу лютеїнізуючого гормону.[23.]. Також тестостерон відіграє ключову роль у здоров'ї як чоловіків, так і жінок, хоча найчастіше його асоціюють саме з чоловічою репродуктивною системою. Важливу роль у функціонуванні травної системи, а його дефіцит призводить до підвищення ризику смертності. Тестостерон в органах і тканинах реалізується через андрогенні рецептори (у клітинах статевих органів) або спеціальні циторецептори (у м'язах, печінці, нирках та ін.), стимулює синтез білка в чоловічих статевих органах. При цьому підвищується рівень загальної клітинної РНК (матричні РНК, транспортні РНК та рибосомальні РНК). Він активує реплікацію ДНК у клітинах-мішенях. [24,25.]. Замісна терапія тестостероном може бути застосована як засіб для корекції змін травної системи. [26]. Використання блокаторів гонадоліберинів є перспективним для лікування різних захворювань, включаючи ураження печінки, що супроводжується

розвитком оксидативного стресу в гепатоцитах при дисгормональних порушеннях. Зменшення концентрації тестостерону призводиться до вторинного гіпогонадізму [27]. Виникнення оксидативного стресу при недостатності тестостерону супроводжується апоптозом, що є особливо небезпечним для клітин [28,29,30].

Накопичення лютеїнізуючого гормону має здатність блокувати синтез оксиду азоту від NO-синтаз, тому зниження його концентрації під час застосування триптореліну підвищує його продукцію [31].

Деякі речовини, що присутні в раціоні - це мікро-, макроелементи, включаючи флавоноїди. Кверцетин є флавоноїдом, присутнім у багатьох овочах, фруктах і напоях. Одні з головних властивостей кверцетину - антиоксидантна, протипухлинна, протизапальна дія. Завдяки своїй антиоксидантній, протипухлинній та протизапальній активності кверцетин широко вивчався як засіб хіміопрофілактики на кількох моделях раку. Завдяки своїм фенольним гідроксильним групам кверцетин відповідає за активність поглинати вільні радикали. Цей флавоноїд зазвичай присутній як глікозид і перетворюється на кон'югати глюкуронідсульфат та всмоктується в кишківнику, це пояснює те, що в циркулюючій крові виявляються лише кон'юговані метаболіти. Вважається, що метаболічне перетворення послаблює його біологічні ефекти, проте активний аглікон може утворюватися з глюкуронідних кон'югатів шляхом посилення активності β -глюкуронідази під час запалення.

Дані вчених також вказують на те, що кверцетин має зв'язок з з молекулярними мішенями, що мають відношення до профілактики раку. Дослідження виявили, що аглікон кверцетину взаємодіє з деякими рецепторами, які беруть участь у розвитку раку, спричиненого певними хімічними речовинами. Було також показано, що аглікон кверцетину модулює кілька шляхів передачі сигналу, які пов'язані з процесами запалення та канцерогенезу. [32,33]. Ще одна особливість кверцетину - це зниження продукції активних форм кисню. Окрім прямої нейтралізації

вільних радикалів шляхом їх поглинання кверцетин також знижує продукцію активних форм кисню [34,35]

Таким чином, дослідження на гризунах показали, що додавання флавоноїду до їжі запобігає хімічно спричиненому канцерогенезу. Отже, дієтичний кверцетин є мультифункціональним засобом для профілактики раку.

Вважається, що нездатність піддаватися апоптозу сприяє онкогенезу. Одним із ключових регуляторів апоптозу є каспаза 3. [36,37]

Недостатньо вивченими залишаються і питання ролі каспази -3. На сьогоднішній день, наведені дослідження та виявлені основні завдання каспази - 3. Дослідження показали, що цей фермент є ключовим зимогеном у клітинному апоптозі. При нестабільних або пошкоджених клітинах відбувалася активація каспази, через це і вважають апоптоз антионкогенним процесом. Каспаза-3 має такий ефект, тому вона полегшує, а не пригнічує повністю генетичну нестабільність, що було штучно спричинено хімічними та радіаційними впливами, як повідомляють науковці. Окрім того науковці повідомляють, що активація каспази-3 сприяла пошкодженню ДНК і відбулася онкогенна трансформація. [38,39,40,41]

Зв'язок з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана на кафедрі гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету в рамках планової науково-дослідної теми: «Експериментально-морфологічне вивчення дії препаратів кріоконсервованої плаценти, дифереліну, етанолу та 1 % ефіру метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів», № державної реєстрації 0119U102925.

Мета і завдання дослідження.

Мета роботи Метою даного дослідження є встановлення змін структурних компонентів в ГМЦР печінки та гепатоцитах за умов

моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину.

Задачі дослідження:

1. Встановити закономірності реакції ланок ГМЦР печінки та гепатоцитів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.
2. Визначити закономірності реакції ланок ГМЦР печінки та з'ясувати морфологічну перебудову в організації її гепатоцитів щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину;
3. З'ясувати вплив пригнічення тестостерону на активність каспази-3 в тканинах печінки при довготривалому блокуванні релізінггормону у щурів самців на тлі введення кверцетину.
4. Дослідити розвиток оксидативного ушкодження тканин печінки за умов введення триптореліну та триптореліну і кверцетину.

Об'єкт дослідження: морфологічні та функціональні зміни стану структурних компонентів печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину.

Предмет дослідження: реакція ланок ГМЦР на введення триптореліну та триптореліну і кверцетину; розвиток оксидативного ушкодження тканин печінки; динаміка впливу триптореліну та триптореліну і кверцетину на ферменти циклу оксиду азоту в печінці за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину.

Методи дослідження. У роботі використані наступні методи досліджень:

- експериментальний метод – дослідження проводилися у штучно створених умовах;

- загальногістологічні методи – для встановлення закономірностей просторової організації гепатоцитів печінки, а саме ГМЦР та сполучно-тканинного і клітинного компонентів;
- морфометричний - для визначення кількісних параметрів структурних компонентів ГМЦР печінки та співвідношення однадерцевих, двоядерцевих та двоядерних гепатоцитів з підрахунком площі та об'єму ядер та цитолазми клітин;
- біохімічні методи – для визначення впливу водорозчинної форми кверцетину на метаболічні зміни в тканинах печінки щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном;
- імуногістохімічні – показати зміни в розповсюдженні ензиму каспаза-3 при довготривалому за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину;
- статистичне опрацювання результатів дослідження за допомогою пакета прикладних програм на комп'ютері.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше показано, що введення триптореліну для блокади синтезу лютеїнізуючого гормону призводить до розвитку оксидативного стресу в печінці щурів внаслідок порушення антиоксидантного захисту та надмірного утворення активних форм кисню на всіх термінах експерименту, а також корекція цього стану введенням кверцетину.

Вперше встановлено, що реакція ГМЦР печінки на введення триптореліну характеризується змінами морфометричного параметра діаметра артеріальних та венозних ланок з поступовим збільшенням кровонаповнення тканин печінки яке максимально достовірно проявляється на 6-й місяць експерименту в обох експериментальних групах.

Уперше, за допомогою комплексного дослідження встановлені особливості морфогенезу гепатоцитів при дисгормональному стані “гіпоталамус–гіпофіз–сім’яник–печінка” викликаного введення триптореліну, що призводило до виникнення зміни в популяції клітин двоядерцевих та двоядерних починаючи з 1-го до 12-го місяця дослідження та корекції цього стану введенням кверцетина.

Вперше доказано, що тривале введення триптореліну призводить до активації апоптозу в печінці, про що свідчить підвищена експресія каспази-3. Введення кверцетину знижувало апоптотичну активність, що вказує на його потенційний гепатопротекторний ефект у даній експериментальній моделі.

Практичне значення отриманих результатів дослідження. Отримані дані є теоретичною передумовою для розробки діагностичного алгоритму вивчення біоптатів печінки для морфологічної експрес-діагностики ступеня адаптаційних і компенсаторних резервів тканин органа при патологічних процесах та дають змогу добору комплексу терапії за умови уражень печінки. Отримані нові наукові дані щодо використання рібофлаваноїду кверцетину який ефективно зменшує гіпоксичне ушкодження печінки при дисгормональному розладі, про що свідчить зниження вмісту малонового діальдегіду на всіх термінах експерименту порівняно із показниками групи введення триптореліну. Отримані результати визначають важливість вивчення структурної організації паренхіми печінки, а саме в зміні кількості ядер та ядерць гепатоцитів в процесів дисгормонального розладу захищають від окисного стресу і гепатотоксичного пошкодження клітини, збільшують транскрипційні моменти в процесі поділу, рісту, проміжного обміну речовин, синтезу білка і його диференціювання.

Впровадження результатів дослідження. Отримані в дисертаційній роботі результати впроваджені в науково-дослідну роботу та навчальний процес: кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського

державного медичного університету, кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри гістології, цитології, ембріології та патологічної морфології з курсом судової медицини Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом було самостійно проведено інформаційний пошук, знайдено джерела та проаналізовано літературу за темою дисертаційної роботи. Під керівництвом наукового керівника здобувачем визначено мету й завдання роботи. Автором особисто отримані експериментальні результати, проведено аналіз отриманих результатів та їх математична обробка, практичні рекомендації розроблені автором самостійно, підготовлено до друку основні матеріали за результатами дисертаційної роботи. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, використовувався експериментальний матеріал здобувача, формулювались висновки та наукові ідеї дисертанта. Обговорення результатів досліджень та формулювання висновків проведено спільно з науковим керівником.

Статті: 1. O. A. Polyvyana, K. V. Shepitko, Ye. V. Stetsuk [et al.] (2021). Influence of prolonged triptorelin-induced central deprivation of testosterone synthesis on morphological structure of rat's liver. *Світ медицини та біології*. № 1 (75), 205–209. (**Web of Scienic**) (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

2. Polyvyana O., Shepitko, V., Stetsuk, Y., Akimov, O., Yakushko, O., & Voloshyna, O. (2021). Morphological changes and oxidative homeostasis in the liver tissues during long central deprivation of luteinizing hormone synthesis by triptorelin. *The Medical and Ecological Problems*, 25(5-6), 39-42. (Особистий

внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

3. Polyviana, O. A., Stetsuk, E. V., Shepitko, V. I., Vilkhova, O. V., Boruta, N. V., Rud, M. V., Pelypenko, L. B., Lysachenko, O. D., Voloshyna, O. V., Dvornyk, I. L., & Morokhovets, H. Y. (2025). Studies of changes in rat hepatocytes under conditions of central blockade of luteinizing hormone synthesis with the additional quercetin. *Reports of Morphology*, 31(1), 52-58. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2025-31\(1\)-07](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2025-31(1)-07) (Scopus)

(Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

4. O.A. Polyviana, Ye.V. Stetsuk, V.I. Shepitko, N.V. Boruta, O.V. Vilkhova, L.B. Pelypenko, O.D. Lysachenko Effect of long-term central blocking of hormone release with Triptorelin on oxidative stress marker activity in the liver of rats (2025) Світ медицини та біології. 2025. No 1 (91) – С. 177 - 180 (**Web of Scienic**) (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті).

5. Polyviana O. A., Stetsuk Ye. V., Shepitko V. I., Boruta N. V., Vilkhova O. V., Pelypenko L. B., Lysachenko O. D. (2025). Dynamics of the nuclear index and mitotic number in hepatocytes under central blockade of luteinizing hormone synthesis with quercetin supplementation. *Bulletin of problems biology and medicine*, 176 (1), 452-460 (Особистий внесок здобувачки – одержано результати експериментальних досліджень, проведено їхню статистичну обробку та аналіз, підготовлено рукопис статті)

Тези, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Полив'яна О.А. Морфологічна оцінка гепатоцитів щурів при центральній депривації синтезу тестостерону на 30-ту та 90-у доби

спостереження / О.А. Полив'яна, В. І. Шепітько, О.В. Вільхова, Т.А. Скотаренко // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Наукова-практика: сучасні та класичні методи дослідження», м. Бостон, США, 26 лютого 2021 р. – Вінниця, 2021. – С. 86-87 (Здобувачці належать результати виявлення морфологічних змін у печінці щурів, вивчення процесів утворення активних форм кисню та інтенсивності перекисного окислення ліпідів під час тривалої центральної депривації синтезу тестостерону, спричиненої триптореліном).

7. Полив'яна О. А. Реакція тканин печінки на депривацію тестостерону у віддалені терміни спостереження / О. А. Полив'яна, В. І. Шепітько // Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини : матеріали наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, присвяченої 90-й річниці з дня заснування кафедри медичної біології в рамках святкування 100-річчя заснування Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, 30 вересня–1 жовтня 2021 р. – Полтава, 2021. – С. 74–75. (Здобувачці належать результати щодо морфологічних особливостей печінки щурів та процесів продукування активних форм кисню та інтенсивності перекисного окислення ліпідів під час тривалої центральної депривації синтезу тестостерону, викликаного триптереліном).

8. Полив'яна О.А. Морфофункціональна характеристика гепатоцитів при центральній депривації синтезу тестостерона на ранніх стадіях експерименту / О.А. Полив'яна, В.І. Шепітько // Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава, 8 жовтня 2021 р. - Полтава, 2021. - С. 133 - 135. (Здобувачці належать результати морфологічних змін у тканині печінки щурів за умов центральної депривації синтезу тестостерону, викликаного дифереліном, на ранніх термінах дослідження).

9. Полив'яна О.А. Вплив центральної депривації синтезу лютеїнізуючого гормону на біохімічні показники гепатоцитів щурів з 30-ї на 180-у добу спостереження. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Медицина наука - 2021»; 4 жовт. 2024; Полтава. Українська медична стоматологічна академія; 2021. с. 34-35. (Здобувачці належать результати процесів інтенсивності перекисного окислення ліпідів в тканинах печінки під час тривалої центральної депривації синтезу лютеїнізуючого гормону, викликаній триптереліном).

10. Полив'яна О.А. Morphological and biochemical alterations in rat liver immunocompetent cells on 270-th day of central deprivation of luteinizing hormone synthesis / M. V. Rud, V. I. Shepitko, T. A. Skotarenko, O. A. Polyviana // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація органів людини та тварин в нормі, при патології та за умов корекції», присвячена 100-річчю з дня народження професора І. О. Жутаєва, м. Полтава, Україна, 14 квітня 2022 р. – Полтава, 2022. – С. 57–58. (Здобувачці належать результати досліджень імунокомпетентної клітин печінки, як якісних, так і кількісних, викликаних пригніченням центрального синтезу тестостерону у щурів-самців за рахунок введення триптереліну ацетату на 270-й день, а також потенційний вплив кверцетину на морфологію та печінку на тлі попереднього введення розчину триптереліна ацетату).

11. Полив'яна О. А. Реакція структурних компонентів печінкової дольки при введенні триптереліну на 30-ту добу спостереження у щурів / О. А. Полив'яна, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (III Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023. – С. 59–61. (Здобувачці належать результати досліджень вивчення морфологічних показників в тканинах печінки на момент 30-ти денного блокування синтезу тестостерону).

12. Полив'яна О.А. Зміни гепатоцитів за умов центральної блокади синтезу лютеїнізуючого гормону та додаванням кверцетину / Полив'яна О.А., Стецук Є.В., Лисаченко О.Д., Левченко О.А.// Матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини», м. Полтава 30-31 жовтня 2024 р. – Полтава, 2024. (Здобувачці належать результати визначення розподілу, морфогенез та динаміку мінливості підтипів гепатоцитів, а саме двуядришкових та двуядерних та кількість мітозів в паренхімі печінки за умов центральної блокади синтезу лютеїнізуючого гормону при довготривалій дії триптореліну з додавання в раціон харчування тварин кверцетину).

Апробація роботи. Матеріали дисертаційної роботи були представлені та обговорені: на конференціях:

1. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Наукова-практика: сучасні та класичні методи дослідження», м. Бостон, США, 26 лютого 2021 р. – Вінниця, 2021.

2. Матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, присвяченої 90-й річниці з дня заснування кафедри медичної біології в рамках святкування 100-річчя заснування Полтавського державного медичного університету, м. Полтава, 30 вересня–1 жовтня 2021 р. – Полтава, 2021.

3. Матеріали Всеукраїнської міждисциплінарної науково-практичної конференції з міжнародною участю «УМСА – століття інноваційних напрямків та наукових досягнень (до 100-річчя від заснування УМСА)» присвячена 100-річчю заснування Української медичної стоматологічної академії, м. Полтава, 8 жовтня 2021 р. - Полтава, 2021.

4. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Медична наука - 2021»; 4 жовт. 2024.

5. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація органів людини та тварин

в нормі, при патології та за умов корекції», присвячена 100-річчю з дня народження професора І. О. Жутаєва, м. Полтава, Україна, 14 квітня 2022 р. – Полтава, 2022.

6. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (ІІІ Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023.

7. Матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини», м. Полтава 30-31 жовтня 2024 р. – Полтава, 2024.

Публікації. За темою дисертації опубліковано 12 робіт, з них 5 статей у фахових виданнях України, 3 з яких входять у міжнародні наукометричні бази Scopus/WoS, та 7 публікацій у збірниках тез вітчизняних та міжнародних конференцій.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація викладена на 181 сторінках друкованого тексту й складається з таких розділів: анотація, вступ, огляд літератури, матеріали та методи, 3-х розділів результатів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, практичні рекомендації, список використаних джерел, додатки. Список використаних джерел включає 211 найменувань, розміщених на 29 сторінках. Робота проілюстрована 50 рисунками, 26 мікрофотографіями та 6 таблицями.

РОЗДІЛ 1

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ У НОРМІ, ЗА УМОВ ВІДСУТНОСТІ СИНТЕЗУ ТЕСТОСТЕРОНУ ТА ПРИ ВИКОРИСТАННІ КВЕРЦЕТИНУ (ОГЛЯД ЛІТРАТУРИ)

1.1. Морфофункціональна характеристика гепатоцитів печінки в нормі та при різних патологічних станах

На сьогоднішній день дослідженням структурної організації печінки приділяється значна увага. Пояснити це зацікавлення можна тим, що вона є однією із найбільших залоз травної системи та виконує ряд важливих функцій. Серед яких виділяють: нейтралізацію продуктів обміну, токсинів, різних лікарських засобів; синтез різноманітних біологічно активних речовин (гормони, білки плазми крові, жовч); депонування крові, а також вона відіграє значну роль в імунній відповіді [42].

Знання про біохімічні та функціональні механізми, які відбуваються в печінці в нормі дозволяють краще зрозуміти ті порушення, що можуть виникати в ній. Оскільки порушення структурної організації та функціонування печінки сприяє розвитку тяжких ускладнень [43,44,45].

Найціннішим у функціонуванні печінки є здатність до відновлення після пошкодження та забезпечення підтримки гомеостазу всього організму. За нормальних умов регенерація печінки реалізується дорослим гепатоцитами, які здатні проліферувати у відповідь на різні стимули або пошкодження [46].

Як відомо, печінка має досить складну та неоднорідну будову. Ззовні вона вкрита сполучнотканинною капсулою, яка вросла в середину органу у вигляді трабекул, формуючи строму. У капсулі містяться як колагенові, так і еластичні волокна, а у внутрішньорганних прошарках переважають

колагенові. Вони формують тривимірну сітку навколо синусоїдних капілярів [47].

Структурно-функціональною одиницею печінки є класична часточка, яка за своєю формою нагадує шестикутну призму. Печінкові балки, які її утворюють, мають радіальний напрямок до центру. Між ними з одного боку розташовуються гемокапіляри, а з іншого – жовчні каналці.

Найчисленнішими клітинами печінки, які формують паренхіму є гепатоцити. Вони становлять 80% від загального об'єму органу. Гепатоцити утворюють надзвичайно важливий клітинний шар, який відокремлює синусоїдну кров від жовчі, яка міститься в каналцях. Розташовуються ці клітини у вигляді двох тісно прилягаючих один до одного рядів та мають унікально організовану полярність. У базальних ділянках гепатоцити контактують з фенестрованими ендотеліальними клітинами синусоїдних капілярів печінки. Це, так звана, васкулярна поверхня гепатоцитів, через яку відбувається інтенсивний обмін речовин. Апікальні полюси сусідніх клітин створюють стінку жовчних капілярів і носять відповідну назву, біліарні поверхні. Бічними сторонами – контактують між собою, утворюючи десмосоми. Завдяки цьому відбувається ретельно організована співпраця між молекулами клітинної адгезії, клітинними з'єднаннями, цитоскелетом, позаклітинним матриксом та механізмами внутрішньоклітинного транспорту [48].

Вивчаючи морфологічні особливості гепатоцитів вченими було встановлено, що зазвичай це клітини полігональної форми, розмір яких у середньому становить від 20 до 30 мкм [49,50].

В цитоплазмі наявні усі органели загального призначення. Гранулярна ендоплазматична сітка, яка відповідає за синтез білків, переважно зосереджена біля ядра. Натомість, агранулярна ендоплазматична сітка має дифузне розташування, що допомагає швидко реагувати на молекули, які потрапили до клітини. І саме на такій лабільності базуються процеси детоксикації. Добре розвинений комплекс Гольджі, зустрічається

значна кількість мітохондрій. Також виділяють лізосоми, пероксисоми та включення. Кількість останніх залежить від фази травлення [51,52].

Ядра гепатоцитів мають сферичну форму, перевагу еухроматина, містять 1-2 ядерця і розташовуються в центральній частині. Кількість ядер може коливатися в межах від одного до чотирьох. Було встановлено, що 25% з них двоядерні, 70% - одноподібні тетраплоїдні гепатоцити і близько 2% - октаплоїдні. Тобто з 4- або 8-кратним диплоїдним набором хромосом [53,54].

Як згадувалося вище, гепатоцити контактують з ендотеліоцитами синусоїдів, формуючи навколосинусоїдний простір Діссе. У цьому місці зустрічаються наступні види клітин: ендотеліоцити, які становлять 50% популяції синусоїдних клітин; зірчасті макрофаги (клітини Купфера), їх кількість сягає 20-25%; жиронакопичувальні клітини (клітини Іто), за різними даними можуть їх налічуватися від 15% до 25%; ямкові клітини (піт-клітини), близько 5%, а також лейкоцити (20-25%) [56].

Відомо, що печінка має складну будову і виконує різноманітні функції (метаболізм, детоксикація, імунну, гемопоетичну, депонування та регуляцію об'єму крові). Паренхіма печінки представлена двома видами епітеліоцитів: гепатоцити і холангіоцити. До клітин стромального компоненту відносять синусоїдні ендотеліоцити, печінкові зірчасті клітини, клітини Купфера, гладкі міоцити, фібробласти, а також ряд імунних клітин.

Наукові дані, які стосуються процесів регенерації печінки дорослої людини вказують на те, що її регенерація майже еквівалентна регенерації печінки ембріона. Але варто зауважити, що тісна співпраця між гепатоцитами та клітинами мікрооточення відіграє важливу роль у відновлювальних процесах печінки.

На сьогоднішній день встановлено, життєвий цикл гепатоцитів миші становить приблизно 200-300 днів. За умов нормального функціонування органу 99% гепатоцитів перебувають у фазі спокою. Так дослідження ДНК-мітки показують, що менше 0,2% гепатоцитів беруть участь у синтезі ДНК.

За типових фізіологічних умов реплікація гепатоцитів здатна підтримувати нормальне функціонування печінки. У разі гострого пошкодження печінки основним джерелом регенерації є вцілілі гепатоцити. Однак при втраті значної кількості гепатоцитів, при тяжких хронічних захворювань, регенерація відбудеться іншим шляхом. Можуть бути використані клітин-попередники [57].

Існує думка, що саме печінкові клітини-попередники найактивніше сприяють регенерації печінки. Але численні докази свідчать про те, що саме пластичність диференційованих клітин є основним механізмом клітинного джерела в регенерації печінки, спричиненого пошкодженням.

У результаті проведених нещодавно досліджень з відстеження генетичної лінії та секвенування клітин було встановлено, що гепатоцити є гетерогенними. Окрім цього, було показано, що існує рідкісна популяція гепатоцитів з високою експресією теломерази. Ця популяція розміщена по всій печінковій часточці і бере приймає участь у регенерації гепатоцитів у всіх часточкових зонах під час гомеостазу. Вони можуть замінити 30% всієї печінки протягом року [58].

Як видно з вищеприведеного, печінка має значний регенераторний потенціал. Вона здатна відновлюватися навіть після втрати значного об'єму органу, виконуючи при цьому свої функції. Постало питання, яким чином печінці вдається врівноважувати подвійне навантаження, і підвищена проліферація клітин, і активне виконання метаболічних функцій. Для отримання відповіді було проведено експериментального дослідження на мишах, яким видалили 70% печінки. За допомогою імуногістохімічного методу було встановлено, що залишкові клітини печінки проліферують дуже синхронно. Найцікавішим було те, що гепатоцити швидко розділилися на декілька різнофункціональних популяцій. Частина з них зберегли хроматиновий ландшафт і транскриптоми гепатоцитів неущожденої печінки дорослої людини, а інші перейшли до набуття хроматинового ландшафту і транскриптомів фетальних гепатоцитів. Жоден інший орган не

має такої властивості, натомість мертві клітини переважно заміщуються сполучною тканиною, що призводить до утворення рубця тканиною і як наслідок, втрата функції органу [59].

Печінка є основним органом, який приймає участь в метаболізмі алкоголю і тому вона особливо чутлива до його вживання. Одним із поширених хронічних захворювань печінки є алкогольна хвороба печінки, яка спричинена постійним вживанням алкоголю. У результаті цього в печінці виникає порушення ліпідного обміну, посилення запальних реакцій та індукування фіброзу [60-63].

Однією із найбільш відомих токсичних сполук, які утворюються у результаті метаболізму алкоголю, є ацетальдегід. Він здатен взаємодіяти з ДНК, що призводить до точкових мутацій і хромосомних пошкоджень. А також, може зв'язується з різними білками та утворювати адукти ацетальдегіду, порушують структуру та функцію печінки [64-66]. Ці білкові адукти підвищують експресію CYP2E1 та посилюють оксидативний стрес [67-69].

При порушенні шляху виведення ліпідів, гепатоцити накопичують їх в собі. Кліренс ліпідів у печінці опосередкований мітохондріальним β -окисленням і секрецією надмірно накопичених тригліцеридів, які упаковані в ліпопротеїни дуже низької щільності. Варто вказати на те, що найбільш значущим внеском у накопичення ліпідів у печінці вважається саме алкоголь-індуковане порушення регуляції мітохондріального β -окислення [70-72].

Звернемо увагу на значну кількість робіт в яких описується реакція клітин печінки при її медикаментозному ураженні [73-78]. Це відносно рідкісне захворювання печінки, що виникає у відповідь на вживання лікарських засобів, нелегальних наркотиків, рослинних препаратів або дієтичних добавок. Розвивається воно на тлі поєднання генетичних та екологічних факторів ризику, які впливають на метаболізм та механізм виведення ліків. Це призводить до каскаду подій на клітинному рівні,

включаючи формування оксидативного стресу, апоптозу, некрозу, активації імунної відповідь та порушення адаптації. Пошкодження печінки, що виникає в результаті, може проявлятися різними фенотипами, які імітують майже всі інші захворювання печінки, і варіювати за ступенем тяжкості від безсимптомного підвищення показників печінкових тестів до гострої печінкової недостатності.

Крім того в сучасних наукових літературних джерелах є значна кількість даних про протокову реакцію, що проявляється у вигляді проліферації реактивних жовчних проток, як результат пошкодженням печінки. Протокова реакція характеризується як гіперплазія жовчних проток при біліарних розладах [79].

Також вона пов'язана з трансдиференціацією клітин печінки і відіграє важливу роль у регенеративних процесах печінки. Джерелом активних клітин при протоковій реакції можуть бути холангіоцити, гепатоцити або печінкові клітини-попередники, а пов'язані з ними сигнальні шляхи можуть відрізнятися залежно від конкретного пошкодження органу [80-85].

На сьогоднішній найпоширенішою формою хронічного захворювання печінки вважається неалкогольна жирова хвороба печінки. Вона охоплює досить широкий спектр уражень печінки, від простого стеатозу до стеатогепатиту, прогресуючого фіброзу та цирозу. До факторів ризику відносять гіпертригліцеридемію, гіперглікемію, ожиріння, та діабет другого типу. Ключову роль у фізіопатології цього захворювання відіграє мітохондріальна дисфункція. Як відомо, оксидативний стрес вважається важливим фактором, що призводить до летального пошкодження гепатоцитів, пов'язаного з неалкогольною жирковою хворобою печінки. Мітохондріальний дихальний ланцюг є основним субклітинним джерелом активних форм кисню, які можуть пошкоджувати мітохондріальні білки, ліпіди та мітохондріальну ДНК. Кардіоліпін, фосфоліпід, розташований на рівні внутрішньої мембрани мітохондрій, відіграє важливу роль у кількох реакціях і процесах, пов'язаних з мітохондріальною біоенергетикою, а

також у певних етапах апоптозу. Він є особливо чутливим до дії активних форм кисню. Перекисне окислення кардіоліпіну асоціюється з мітохондріальною дисфункцією при різних патологічних станах [86-89].

Слід зазначити, що декабромдифенілетан та полістирольні нанопласти теж здатні викликати оксидативний стрес в гепатоцитах. Було проведено дослідження окремого і сумісного впливу цих речовин на гепатоцити білого амура. В ході роботи оцінювали біомаркери пов'язані з оксидативним стресом, фероптозом та запальними цитокінами. Окислювальний стрес індукувався збільшенням вмісту прооксидантних факторів, пригніченням активності антиоксидантних ферментів та зниженням експресії мРНК генів антиоксидантів. А також вчені довели, що ефекти комбінованого впливу були сильнішими [90].

Дані ряду авторів вказують на порушення функції печінки при COVID-19. Також є підтвердженні наявності SARS-CoV-2 у тканинах печінки [91-96].

Пошкодження печінки при COVID-19 пов'язують з прямою атакою SARS-CoV-2, токсичністю ліків, а також гострим запальним ураженням та гіпоксією, викликані пневмонією. Пряма атака SARS-CoV-2 на печінку включає прямий цитотоксичний вплив на гепатоцити та холангіоцити, а також ефекти коагулопатії та ендотеліальної агресії в дрібних внутрішньопечінкових судинах.

Встановлено, що механізми прямої деструкції печінки при COVID-19 пов'язаний з його наявністю на поверхні ендотеліальних клітин у дрібних кровоносних судинах та гепатоцитах (2,6%), але особливо на поверхні клітин жовчних проток (59,7%) рецепторів перетворювального ферменту ангіотензину 2, які вважаються клітинним рецептором SARS-CoV-2. Рівень експресії цих рецепторів холангіоцитів також подібний до рівня експресії альвеолярних клітин другого типу і це свідчить про те, що печінка може бути потенційною мішенню для SARS-CoV-2. Інший рецептор, трансмембранна протеаза серин 2, що присутня на холангіоцитах і

гепатоцитах і взаємодіє з SARS-CoV-2, має важливе значення для протеолітичної активації, а також для поширення вірусних частинок.

При проведенні ультраструктурного аналізу біопсійного матеріалу печінки пацієнтів, які померли від COVID-19, в цитоплазмі гепатоцитів були виявлені спостерігав частинки коронавірусу. Найглибші структурні зміни проявлялися у вигляді набряку мітохондрій, розширенні ендоплазматичної сітки та дисфункції клітинних мембран. Ці спостереження вказують на здатність вірусу до реплікації в гепатоцитах і демонструють зв'язок між цитопатичним пошкодженням гепатоцитів і порушенням функції печінки.

Іншим механізмом, що бере участь у пошкодженні печінки, є обширне судинне пошкодження портальної системи печінки в гострій формі (тромбоз і люмінальна ектазія) або хронічних змінах (фіброзне потовщення судинної стінки), виявлене посмертно у хворих на COVID-19. Ці спостереження свідчать про те, що пошкодження ендотелію та порушення коагуляції можуть бути основним тригером у патогенезі уражень печінки COVID-19.

При аналізі наукових літературних джерел найбільше нас зацікавило вивчення щодо впливу статевих гормонів на структурну організацію печінки.

В праці Loria, P., Carulli, L., Bertolotti, M., & Lonardo, A. (2009) описаний зв'язок між гормональними розладами і захворюваннями гепатобіліарної системи, і особлива увага була приділена неалкогольному стеатогепатиту. Механізми порушень, викликаних як наслідок патологічних змін в органах ендокринної системи, подібний до розвитку первинних захворювань печінки.

Наприклад, гіпотиреоз може призвести до неалкогольного стеатогепатиту, цирозу та потенційно раку печінки через розвиток гіперліпідемії та ожиріння. Пацієнти з дефіцитом гормону росту мають фенотип, подібний до метаболічного синдрому, який також пов'язаний з розвитком неалкогольного стеатогепатиту. Синдром полікістозних яєчників є поширеним ендокринним розладом, який часто асоціюється з інсулін

резистентністю, метаболічним синдромом, зміненими рівнями печінкових ферментів і розвитком неалкогольного стеатогепатиту. Окрім того, недостатність надниркових залоз все частіше виявляється у пацієнтів з термінальною стадією захворювання печінки та у пацієнтів, які перенесли трансплантацію печінки, що свідчить про двонаправлений зв'язок між функціями печінки та ендокринної системи [97].

У сучасних наукових літературних джерелах описаний синдром Тернера. Це одна з найчастіше зареєстрованих аномалій статевих хромосом, що спостерігається у 40 з кожних 100 000 новонароджених жіночої статі. Проявами цього синдрому є первинна недостатність яєчників та порушення синтезу естрогенів, і пацієнткам потрібна заміна гормональна терапія. Окрім фенотипічних проявів, таких як низький зріст і первинна аменорея, виявляється негативний вплив на різні системи організму. Гепатобіліарна патологія проявляється в широкому спектрі: від легкої безсимптомної гіпертрансаміназемії до виражених архітектурних змін [98].

Відомо, що статеві стероїди є ключовими гормонами, що регулюють розвиток і функції репродуктивної системи, але основним нерепродуктивним органом-мішенню їх дії є печінка [99].

Існують дані, які вказують на те, що концентрація естрогенів у фолікулах яєчників пов'язана з рівнем таурину, а естрогени інгібують синтез таурину в міометрії мишей і печінці шляхом пригнічення експресії цистеїнсульфінатдекарбоксилаза [100-103].

На відміну від естрогенів андрогени підвищують експресію цистеїнсульфінатдекарбоксилази у чоловічій статевій системі та печінці. Крім того, андрогени контролюють метаболізм глюкози, збільшують синтез тригліцеридів і регулюють окислювальний стрес у печінці. Тобто, їхній вплив на печінку частково нагадує таурин. [104-109].

Орім участі в метаболічних процесах андрогени здатні контролювати розмноження і ріст клітинних популяцій в печінці. Відомо, що тестостерон стимулює розвиток вольфових проток під час розвитку плода чоловічої статі

та сперматогенез у дорослих чоловіків шляхом зв'язування з андрогенними рецепторами. У свою чергу ці рецептори експресуються в ряді метастатичних аденокарцином, гепатоцелюлярної карциноми та холангіокарциноми [110,111].

В роботі ряду авторів був оцінений вплив тестостерону на ріст холангіоцитів у щурів. Виявили, що тестостерон стимулює цАМФ-залежну проліферацію жовчовивідних шляхів і секретин-стимульовану секрецію проток. Хімічна кастрація з використанням флутаміду або імунонейтралізація тестостерону за допомогою антитіла до тестостерону *in vivo* знижувала рівень тестостерону та зменшувала проліферацію жовчних шляхів і масу внутрішньопечінкових жовчних проток [112].

В праці Ohshima, A., Cohen, B. I., Ayyad, N., & Mosbach, E. H. (1996) властивість андрогенів регулювати процес утворення жовчі в печінці [113].

При проведенні експериментального дослідження на самках хом'яків, з використанням синтетичного андрогену метилтестостерону було встановлено, що він здатен стимулювати механізм косекреції холестерину та фосфоліпідів у жовчі, який пов'язаний зі збільшенням співвідношення холестерину до фосфоліпідів. Тобто, метилтестостерон зменшував базальне жовчовиділення та секрецію жовчних кислот, а також збільшував базальну секрецію холестерину та співвідношення холестерину до фосфоліпідів у жовчі. Ці результати частково пояснюють, як метилтестостерон інтенсифікує утворення холестеринових каменів у жовчному міхурі самок хом'яків.

В експериментальних дослідженнях на морських свинках було виявлено, що у результаті кастрація гальмується утворення жовчі, а відновлення секреторної активності відбувається через два місяці після оперативного втручання [114,115].

За даними Petrov, P. D., Fernández-Murga, L. та ін. анаболічні андрогенні стероїди, які є похідними тестостерону і використовуються

бодібілдерами для збільшення м'язової маси, сприяють розвитку тривалого холестазу, індукування та синтезу жовчних кислот у гепатоцитах [116].

Відомо, що андрогени досить легко проникають усередину клітини. Пояснити це можна тим, що вони за будовою подібні до мембранних ліпідів і мають невеликі розміри молекул. Всередині клітини андроген зв'язується з рецептором і транспортується до ядра клітини. Було доведено, що рівень андрогензалежного білка печінки щурів знижується паралельно із зменшенням концентрації андрогенових рецепторів [117-119].

У печінці ссавців присутні рецептори естрогенів і рецептори андрогенів. Концентрація естрогенових рецепторів помітно зростає в період статевого дозрівання, і ця зміна корелює з посиленням стимуляції естрогенами синтезу субстрату реніну в плазмі крові. Для ядерного зв'язування в печінці потрібні високі дози естрогену порівняно з дозами для матки. Потреба у високих дозах зумовлена переважно екстенсивним метаболізмом естрогену в гепатоциті до неактивних похідних. Крім того, естрадіол набагато слабше, ніж етинілестрадіол, сприяє ядерному зв'язуванню в печінці. Це пов'язано з надзвичайно швидким та інтенсивним метаболізмом естрадіолу. У печінці людини концентрація естрогенових рецепторів низька.

Андрогенний рецептор присутній у високій концентрації в печінці кролів і розташований переважно в ядрі після введення андрогенів. Високі концентрації андрогенного рецептора також присутні в цитоплазмі гепатоцитів печінки людини [120].

1.2. Вплив триптореліну на структурну організацію печінки

Відкриття гонадотропін-рилізінг-гормону та його аналоги відкрили нові напрямки лікування у різних галузях внутрішньої медицини, а особливо у гінекології, педіатрії та урології. З моменту відкриття в 1971 році було продемонстровано, що цей гормон та його аналоги дозволяють

медикам впливати на гіпоталамо-гіпофізарно-гонадну вісь у двох різних класах терапевтичних застосувань [121].

Перший забезпечує природну послідовність гонадотропін-рилізінг-гормон в пульсуючому режимі за допомогою портативних інфузійних насосів, що імітує нормальну фізіологію секреції гіпоталамуса і відновлює репродуктивний потенціал безплідних чоловіків і жінок з порушеннями секреції ендogenous гонадотропін-рилізінг-гормон. Другий метод використовує агоністи гонадотропін-рилізінг-гормон тривалої дії, що вводяться у вигляді депо для парадоксальної десенсибілізації секреції гіпофізарного гонадотропіну, що, в свою чергу, призводить до повної абляції репродуктивної вісі. Ця біохімічна кастрація, індукована введенням агоніста гонадотропін-рилізінг-гормону є безпечним, ефективним, повним і оборотним методом усунення накладання гонадних стероїдів на різні захворювання, які вони, як відомо, загострюють. До таких захворювань належать ендометріоз і міома матки у жінок, рак передміхурової залози у чоловіків і передчасне статеве дозрівання в обох статей [122].

Як відомо, гонадотропін-рилізінг-гормон стимулює секрецію гіпофізом лютеїнізуючого і фолікулостимулюючого гормонів, контролюючи таким чином гормональну і репродуктивну функцію статевих залоз. Блокування впливу цього гормону може бути необхідною з різних причин. Наприклад, для запобігання несвоєчасній лютеїнізації під час допоміжних репродуктивних технологій або при лікуванні статевозалежних розладів. Селективна блокада секреції лютеїнізуючого і фолікулостимулюючого гормонів і подальша хімічна кастрація раніше досягалися шляхом десенсибілізації гіпофіза до постійного введення гонадотропін-рилізінг-гормону або агоністів цього ж гормону тривалої дії.

Лише нещодавно для клінічного застосування були розроблені антагоністи рецепторів гонадотропін-рилізінг-гормону, які негайно блокують його дію. Показаннями для призначення цих антагоністів є: ендометріоз, лейоміома і рак молочної залози у жінок, доброякісна

гіпертрофія і карцинома передміхурової залози у чоловіків, а також центральне передчасне статеве дозрівання у дітей. Однак найкращі клінічні результати отримані при використанні їх у якості допоміжних репродуктивних технологій та при раку передміхурової залози [123].

Однією з найпоширеніших причин смерті серед чоловіків є рак передміхурової залози. Андроген-деприваційна терапія стає основним методом лікування пацієнтів з поширеним раком передміхурової залози на початкових стадіях захворювання, що раніше досягалося за допомогою хірургічної ї кастрації. Розробка агоністів гонадотропін-рилізінг-гормону зробила революцію в лікуванні поширеного раку простати, замінивши необхідність хірургічної кастрації. Агоністи знижують активність рецепторів агоністів гонадотропін-рилізінг-гормону в гіпофізі і, таким чином, зменшують вивільнення лютеїнізуючого гормону і тестостерону. Хоча агоністи є поширеним терапевтичним методом на сьогоднішній день, їх використання пов'язане зі стрибками тестостерону, метаболічною дисфункцією та збільшенням ризику серцево-судинних захворювань. Нещодавно в практику лікування раку передміхурової залози ввійшли антагоністи гонадотропін-рилізінг-гормону. На відміну від агоністів, вони безпосередньо пригнічують рецептори андрогенів у гіпофізі та не викликають початкових сплесків тестостерону [124].

Як згадувалося вище, одним із ефективних способів поширеного та метастатичного раку передміхурової залози є двостороння орхіектомія. До головних недоліків даного методу відносять хірургічне втручання та негативний вплив на психологічний стан пацієнта [125].

Натомість лікування агоністами лютеїнізуючого-рилізінг-гормону набагато краще сприймається пацієнтами, ніж хірургічна кастрація, і має еквівалентні показники виживання після лікування. Виживання без прогресування спостерігається приблизно у 90% пацієнтів, терміном від 12 до 30 місяців [126].

На сьогоднішній день використовуються препарати представників агоністів та антагоністів гонадотропін-рилізінг-гормону дуже поширено. Носії цього ряду: лейпрорелін (Lupron: 1985), гозерелін (Zoladex: 1989), гістрелін (Supprelin, Vantas: 1991 і 2004).), трипторелін (Trelstar: 2000) і дегарелікс (Firmagon: 2008). Вони характеризуються рядом факторів: пролонгована дія; інтервал ведення - 1, 3, 6, 9, 12 місяців; спосіб введення - парентеральне. Одна з головних дій - це використання в онкології, насамперед при лікуванні раку передміхурової залози, а також при безплідді, передчасному статевому дозріванні [127].

Аналоги гонадотропін-рилізінг гормону вже більше 15 років широко застосовуються в терапії раку простати. В Україні гозерелін (1 міс. 1 М; 3 міс. 3 М.) наразі займає основну частину ринку серед аналогів гонадотропін-рилізінг гормону. Альтернативою гозереліну є трипторелін (1 міс. 1 М; 1 міс. 3 М; 6 міс. 6 М) – ще один добре вивчений і широко застосовуваний аналог гонадотропін-рилізінг гормону, який використовується для медикаментозної кастрації при раку простати. Враховуючи це, проведення аналізу застосування триптореліну та гозереліну є актуальним [128].

Згідно рекомендаціям Європейської асоціації урологів [129], на даний час широко використовується у практиці лікарів онко-урологів препарати андрогенодеприваційної терапії [130], а саме: Трипторелін (Диферелін - представник в Україні на сьогоднішній день), фармакологічні властивості якого - вивільнення гонадотропіну, після короткого періоду стимулювання гонадотропної функції гіпофізу інгубує секрецію гонадотропіну з подальшим пригніченням як жіночого, так і чоловічого стероїдогенезу.

В роботі Shim, M., Bang, W. J., Oh, C. Y., Lee, Y. S., & Cho, J. S. (2019) було порівняно ефективність трьох різних агоністів лютеїнізуючого гормону при хімічній кастрації пацієнтів з раком передміхурової залози, а саме гозереліну, триптореліну та лейпролідів. В ході дослідження встановили, що трипторелін є найпотужнішим кастраційним засобом. Він

показав найнижчий середній рівень тестостерону до 9 місяців лікування і найвищий відсоток хімічної кастрації [131-133].

У ході ряду фармацевтичних досліджень, щодо синтетичних аналогів гонадотропін-рилізінг-гормону, були розроблені препарати з уповільненим вивільненням. Вони дозволили вводити необхідні дози препарату з інтервалом у кілька тижнів або місяців за певних показань. Трипторелін, як і інші агоністи гонадотропін-рилізінг-гормону, сильно знижує секрецію лютеїнізуючого гормону, запобігаючи виробленню його бета-субодиниці. Навпаки, продукція альфа-субодиниці помітно збільшується і залишається чутливою до ін'єкції екзогенного гонадотропін-рилізінг-гормону, демонструючи, що агоніст не викликає фактичної десенсибілізації гіпофіза [134].

При перехресному дослідженні дії триптореліну та лейпрореліну ацетату було встановлено, що тривалість дії триптореліну довша, ніж у лейпрореліну ацетату, а різниці в ефективності та побічних ефектах цих препаратів немає [135].

В своїй праці Keating G. M. описав 6-місячну форму агоніста гонадотропін-рилізінг-гормону триптореліну ембонат (розраховану на введення 22,5 мг триптореліну протягом 6 місяців) для застосування у лікуванні поширеного раку передміхурової залози. Після внутрішньом'язового введення триптореліну ембонату протягом шести місяців спочатку спостерігали підвищений рівень тестостерону в сироватці крові, який потім швидко і стійко знижувався. За результатами цього дослідження було встановлено, що рівень тестостерону у сироватці крові був досягнутий та підтримувався на рівні, як і при проведенні хірургічної кастрації. Побічні ефекти, пов'язані з прийомом препарату побічні були легкого ступеня тяжкості у більшості пацієнтів та відповідали фармакологічній дії триптореліну [136].

Пригнічення статевого дозрівання за допомогою агоністів гонадотропін-рилізінг-гормону рекомендовано для лікування гендерної дисфорії у підлітків [137].

Відомо, що розподіл регіональних жирових відкладень є більш важливим фактором ризику серцево-судинних захворювань, ніж загальна кількість жиру в організмі. Зокрема, печінковий жир і вісцеральна жирова тканина асоціюються з інсулінорезистентністю та ризиком метаболічних і серцево-судинних захворювань. Печінковий і вісцеральний жир демонструють чіткий статевий диморфізм. Чоловіки більш схильні відкладати жир у вісцеральному відділі та печінці, тоді як жінки в пременопаузі переважно відкладають жир у підшкірній клітковині. З віком спостерігається збільшення кількості вісцерального жиру у обох статей. В період менопаузи печінковий і вісцеральний жир швидко збільшуються, що призводить до більш маскулінного розподілу жиру в організмі жінок у постменопаузі. Тобто, це вказує на важливу роль статевих стероїдів у регуляції печінки та вісцерального жиру [138].

1.3. Використання флаваноїду кверцетину для корекції різних патологічних станів.

Кверцетин відноситься до природних флавоноїд, який знаходиться в овочах і фруктах. Він проявляє досить широкий спектр біологічних властивостей, включаючи антиоксидантну, протизапальну, протівірусну, імуномодулюючу та знеболюючу дії. Кверцетин виявляє сильну антиоксидантну активність, регулюючи рівень глутатіону, активність ферментів та утворення активних форм кисню. Протизапальна дія реалізується завдяки впливу на Nod-подібний рецепторний білок 3 запальних клітин. При діабеті кверцетин покращує чутливість до інсуліну та знижує високий рівень цукру в крові. При неврологічних захворюваннях потенційно запобігає дегенерації нейронів та зниженню когнітивних

функцій, регулюючи нейрозапалення. Крім того, при захворюваннях печінки кверцетин може покращувати запалення та фіброз печінки, регулюючи активність Nod-подібного рецепторного білка [139].

Останнім часом природні сполуки вважаються привабливими кандидатами для лікування та профілактики раку. При вивченні протипухлинної ефективності кверцетину на тваринних моделях та ракових клітинних лініях виявили, що кверцетин індукує цитотоксичність у лейкоемічних клітинах у дозозалежний спосіб. Також кверцетин індукував цитотоксичність у ракових клітинах при онкологічних захворюваннях молочної залози, а вплив на нормальні клітини був обмеженим або взагалі відсутнім. Крім того, кверцетин спричиняв зупинку S-фази під час прогресування клітинного циклу в досліджуваних ракових клітинах. При порівнянні впливу елагової кислоти і кверцетину, встановили що для регресії пухлин у мишей потрібна втричі нижча концентрація кверцетину. А також, введення кверцетину призводить до збільшення тривалості життя мишей з пухлинами. У ході експерименту вчені встановили, що кверцетин безпосередньо взаємодіє з ДНК і це може бути одним з механізмів індукції апоптозу в клітинах з мутаціями [140].

Значна кількість доклінічних і клінічних досліджень показала, що кверцетин має протиракову та протизапальну дію. В ході експерименту встановили, що лікування ліпосомальним кверцетином посилювало апоптоз і покращувало руйнування пухлин, індукованих мікрохвильовою абляцією, шляхом пригнічення продукції HSP7014. Паралельно з цим, термічна абляція також ефективно підвищувала концентрацію ліпосомального кверцетину в пухлинних тканинах, сприяючи апоптозу. Ці дослідження вказують на те, що ліпосомальний кверцетин має потенціал для підвищення терапевтичної ефективності мікрохвильової абляції [141].

У якості профілактичного засобу кверцетин може бути використаний завдяки його властивості пригнічувати канцерогени. Застосовують його при

злоякісних захворюваннях передміхурової залози, шийки матки, шкіри, легеней та інших органів [142-146].

Нові дані підтверджують позитивний вплив кверцетину на мітохондріальні розлади печінки. При проведенні експерименту на мишах, яких годували рідкою дієтою Lieber De Carli (28% калорій, отриманих з етанолу) протягом 12 тижнів плюс одноразове вживання етанолу з додаванням кверцетину (100 мг/кг маси тіла). Результати показали, що кверцетин зменшував спричинені алкоголем гістопатологічні зміни та функціональні порушення мітохондрій у печінці мишей. Крім того, кверцетин покращував дисбаланс експресії білків, пов'язаних з метаболізмом заліза, у печінці мишей, які отримували алкоголь [147].

Відомо, що кверцетин має антиоксидантні та протизапальні властивості, захисні та терапевтичні ефекти для лікування різних захворювань, включаючи цукровий діабет та нейродегенеративні захворювання. Новітні опубліковані результати експериментальних та клінічних досліджень вказують на те, що окислювальний стрес призводить до патогенезу та прогресування індукованих алкоголем пошкоджень тканин.

При вивченні алкогольного синдрому плода, який тестували на моделях щурів, перевіряли захисний ефект кверцетину для запобігання індукованих алкоголем пошкоджень печінки та лімфоїдної тканини у нащадків щурів, які отримували алкоголь від матері. У результаті було підтверджено, кверцетин чинить захисну дію проти індукованих материнським алкоголем оксидативних та запальних ушкоджень у печінці та лімфоїдній тканині новонароджених щурів [148].

Групою вчених було оцінено вплив кверцетину на регенерацію печінки після часткової гепатектомії у щурів [149].

Результати показали, що кверцетин значно збільшував мітотичний індекс, індекс проліферації та суттєво знижував апоптотичний індекс. Окрім цього, він помітно пригнічував підвищення малонового діальдегіду,

відновлював порушену антиоксидантну активність супероксиддисмутази і рівень глутатіону, а також послаблював печінкову вакуолярну дегенерацію і синусоїдальний застій.

Тобто мова йде про позитивний вплив на регенеративну здатність залишкової тканини печінки після гепатектомії, ймовірно, завдяки антиоксидантним, антиапоптотичним та проліферативним властивостям кверцетину.

Однією з основних причин смертності у світі є фіброз печінки. Печінкові зірчасті клітини активуються під час хронічного ураження печінки, експресують більше трансформуючого фактору росту бета (TGF- β), колагену α та актину-альфа гладких м'язів, що призводить до фіброзу печінки.

Неодноразово описували гепатопротекторний потенціал кверцетину. *In vitro* вивчали антифібротичну активність кверцетину на активованих фруктозою зірчастих макрофагів печінки людини. Встановили, що кверцетин ефективно знижує експресію фіброгенних генів в активованих фруктозою зірчастих клітинах печінки людини шляхом зниження регуляції сигнального шляху TGF- β /smad3. Таким чином, кверцетин має значні антифіброзні властивості при фіброзі печінки [150].

Вивчення антоксидантної активності кверцетину все більше привертає увагу вчених [151,152]. Було доведено, що його антиоксидантні властивості ґрунтуються на підтримці окислювального балансу. Тобто, він здатен впливати на ферментативну активність, глутатіон, шляхи передачі сигналу та активні форми кисню, які були викликані різними факторами.

1.4. Резюме:

Аналіз наукових літературних джерел дозволяє нам зробити висновок про те, що:

- проведено значну кількість доклінічних та клінічних досліджень з використанням триптореліну та кверцетину. Але поза увагою залишається

питання щодо морфологічних змін гепатоцитів після хімічної кастрації та коригування цього стану кверцетином;

- також відсутні дані про вплив рилізінг-гормонів на біохімічні показники, такі як продукція супероксидного аніон-радикалу (САР), гіперпродукція активних форм кисню;

- недостатньо описаний вплив триптореліну на різні органи та системи, практично відсутня інформація про вплив саме на гепатоцити;

- досить детально виствітлений позитивний вплив кверцетину на різні органи та системи, але залишається відкритим питання щодо гепатопротекторного ефекту при пригніченні синтезу лютеїнізуючого гормону.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Матеріал дослідження

Досліди було проведено на 60 статевозрілих білих щурах-самцях масою 180-250 г. Матеріалом для дослідження були тканини печінки (гепатоцити) щурів.

Об'єкт дослідження - білі щури, що дає можливість для групового експерименту отримати найбільш достовірні однотипні зміни. При проведенні досліджень піддослідні тварини були евтаназовані у суворій відповідності до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), а також із «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», прийнятими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та Закону України №3447 “Про захист тварин від жорстокого поводження” IV від 21.02.2006 р [153,154].

Комісія з питань біоетики Української медичної стоматологічної академії надала дозвіл на проведення науково-дослідної роботи (витяг з протоколу засідання комісії з питань біомедичної етики Української медичної стоматологічної академії № 236 від 20.03.2025 року).

Дослідження є частиною науково-дослідної роботи "Експериментально-морфологічне вивчення впливу кріоконсервованих препаратів пуповинної крові та ембріофетоплацентарного комплексу, дифереліну, етанолу та 1% метакрилової кислоти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів", № держреєстрації 0119U102925, що проводилося на кафедрі гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету МОЗ. Пошукач є співвиконавцем даної комплексної науково-дослідницької роботи.

Тварини були розділені на 3 групи. I група – контрольна, якій вводився фізіологічний розчин (10 тварин). II групі підшкірно вводили диферелін (триптореліну ембонат) [155] у дозі 0.3 мг діючої речовини на кг

маси тіла з активністю препарату протягом 365 днів (25 тварин). III групі вводили розчин триптореліну із розрахунку 0.3 мг діючої речовини на кг маси тіла з додаванням кверцетину до харчування за допомогою гастрального зонду, у перерахунку на масу тіла тварин тричі на тиждень (25 тварин). Щурів виводили із експерименту через 1, 3, 6, 9 та 12 місяців шляхом передозування ефірного наркозу. Тварин тримали в стандартних умовах віварію Полтавського державного медичного університету. (див. табл. 2.1)

Таблиця 2.1

Кількісна характеристика експериментального матеріалу згідно термінів дослідження

№ п/ п	Терміни експеримен ту	Експериментальні групи дослідження			
		I група - Контрол ь	II група - трипторелі н	III група - трипторелі н і кверцетин	Всього
1.	1 місяць		5	5	10
2.	3 місяць		5	5	10
3.	6 місяць		5	5	10
4.	9 місяць		5	5	10
5.	12 місяць		5	5	10
6.	Всього	10	25	25	60

Предметом дослідження є процеси змін структур клітин печінки щурів на етапах розподілу, морфогенезу та динаміки мінливості підтипів гепатоцитів, а саме одноядерцевих, двоядерцевих та двоядерних в паренхімі печінки за умов центральної блокади синтезу лютеїнізуючого гормону при

довготривалій дії триптореліну з додавання в раціон харчування тварин кверцетину.

2.2. Методи дослідження та їх обґрунтування

Щури усіх груп були на утриманні на загальноприйнятому раціоні віварію Полтавського державного медичного університету. Щоденно проводили огляд, визначали стан тварини, ступінь та прояви місцевих змін, якщо такі були, контроль маси тіла і летальність білих щурів. Дослідження та вибірка тварин проводилася поетапно: огляд (стан шкіри та очей), загальна активність, дотримувався суворий тижневий карантин до початку дослідження. Визначали зацікавлений нами показник дослідження, проводили відбір тварин із наявністю показників, що відрізнялися від інших [156,157].

Усі дослідження проводилися в ранковий час, витримуючи 16 годинну перерву після останнього годування, демісезонно, для більш чіткої картини та як виняток впливу на дослідження добових та сезонних коливань біологічної активності.

Реєстр методів дослідження:

- Експериментальний;
- Гістологічний;
- Імуно-гістохімічний;
- Морфометричний;
- Статистичний.

2.2.1. Модель експерименту

Експериментальні методи дослідження проводилися у штучно створених умовах на базі віварію Полтавського державного медичного університету. Об'єктом дослідження були препарати гепатоцити печінки білих щурів.

1). I група є контрольна група, яка налічує 10 тварин. Ця група формувалася за стандартною методикою. З метою відображення реакції на фізичне подразнення при введенні триптореліну та кверцетину, щурам було введено NaCl 0.9%. Розчин вводився підшкірно, у віці 1,3,6,9,12 місяців. Доза введення складала 0,3 мг NaCl діючої речовини на 1 кг маси тіла [158].

2). II група – 25 щурів, яким підшкірно було введено розчин диферент (триптореліну ембонат) [159] у дозі 0.3 мг діючої речовини на кг маси тіла з активністю препарату протягом 365 днів.

3). III група – це група тварин, у складі 25 особин, якій вводили розчин триптореліну із розрахунку 0.3 мг діючої речовини на кг маси тіла з додаванням кверцетину до харчування за допомогою гастрального зонду, у перерахунку на масу тіла тварин тричі на тиждень (25 тварин).

Кверцетин — біофлавоноїд рослинного походження, який чинить протинабрякову, спазмолітичну, антигістамінну, протизапальну дію; антиоксидант, діуретик. Доза кверцетину розраховувалися з розрахунку 100 мг кверцетину на кг маси тіла тварини, протягом 12 місяців. Перше введення кверцетину припадало на перший день експерименту, надалі проводилися перерахунки маси тіла щура [160].

Дослідження показали, що в інтактній печінці білих щурів переважають гепатоцити в кількісному співвідношенні над іншими клітинними елементами.

Із експерименту тварин усіх груп виводили шляхом передозування ефірного наркозу згідно встановлених термінів на 1-й, 3-й, 6-й, 9-й, 12-й місяці (див. табл. 2.1).

2.2.2. Гістологічне дослідження тканин печінки білих щурів

Після передозування кетаміну тваринам провели евтаназію, препаровані невеликі шматочки- зрізи фіксували в 2,5 % розчині глутаральдегіду (pH=7,2–7,4). Постфіксацію матеріалу проводили 1 %

розчином оксиду осмію (IV) з подальшою дегідратацією в пропіленоксиді та заливання зразка в суміш епоксидних смол. Стандартними методами матеріал заливали в парафінові блоки, з яких виготовляли зрізи товщиною 4 мкм і фарбували їх гематоксиліном та еозином [161,162]. Гістологічні препарати досліджували на світловому мікроскопі Biorex 3 з цифровим мікрофільтром з програмним забезпеченням, адаптованим для цих досліджень (сер. № 5604).

2.2.3. Імуногістохімічний метод дослідження тканин печінки

Експерименти імуногістохімічного дослідження проводили на базі кафедри патологічної анатомії Сумського державного університету (завідувач кафедрою проф. Романюк А.М.). З метою візуалізації окремих клітинних компонентів нами використовувався імуногістохімічний метод із застосуванням специфічних антитіл. З парафінових блоків, виготовлених за описаною вище методикою, отримували зрізи товщиною до 5 мкм, наносили на високоадгезивні предметні скельця SuperFrost (Thermo Scientific. США). Просушування скелець зі змонтованими зрізами проводилось в термостаті упродовж 18 годин при температурі 37 °С, після чого проводили депарафінізацію і зневоднення у ксилолі та спиртах зростаючої концентрації. На водяній бані при температурі (95-98) °С виконували демаскування рецепторів в середовищі цитратного буферу (pH 6.0). За допомогою системи детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP Polymer» (Thermo scientific. США) візуалізували первинні антитіла. Посилення імуногістохімічної реакції здійснювали у вологій камері за допомогою «Primary Antibody Amplifier Quanto» (Thermo Scientific. США) у рекомендованих виробником розведеннях з використанням діамінобензидину (Thermo Scientific. США) як барвника. Для блокування ендогенної пероксидази та неспецифічного фонового фарбування використовували «Hydrogen Peroxide Block» та «UltraVision Protein Block» (Thermo Scientific. США) відповідно. Дофарбовування отриманих

препаратів для кращої візуалізації здійснювалось після проходження імуногістохімічної реакції гематоксиліном Майєра.

Протокол обробки в мікрохвильовій печі.

1. Демаскування в PBS (фосфатний буфер), pH=6,0, потім на 7 хвилин при 700Вт в мікрохвильову піч, доливали буферний розчин. Далі 20 хвилин при 350Вт в мікрохвильову піч.
 2. Залишити в PBS, pH=6,0 – 15 хвилин.
 3. Прибрати PBS, pH=6,0, залити PBS, pH=7,4, тримати 2 рази по 5 хвилин.
 4. Потім додавали перші антитіла 1:150, кон'юговані з МАВ 1435. Anti-Macrophages/Antibody, clon ED-1 – «Chemicon». – на 1 годину.
 5. Промивка PBS, pH=7,4, тримати 2 рази по 5 хвилин.
 6. Додавання других антитіл 1:100 Goat anti-Mouse (Murine) IgG (Heave & Light Chain), (Whole Molecule) Hilyte Flour 488 – 30 хвилин в темноті.
 7. Промивка PBS, pH=7,4, тримати 2 рази по 5 хвилин.
- Заключення під гліцерин з PBS 1:1 під скло.

2.2.4. Морфометрія препаратів гепатоцитів печінки білих щурів

Методом стандартних ділянок проводили знімки з оптичною величиною 100, 200, 400 та 1000 за допомогою мікроскопа “Micromed” з адаптованим для моніторингу програмним забезпеченням TSVIEW.

Об'єм ядер гепатоцитів розраховували за формулою еліпса:

$V = \pi/6 D \cdot d^2$, де V – об'єм ядра, d – довжина малого діаметра ядра, D – довжина великого діаметра ядра.

Площа ядер гепатоцитів розраховується за формою еліпса:

$V = 4/3 \pi D^2 d$, де V – об'єм ядра, d – довжина малого діаметра ядра, D – довжина великого діаметра ядра

2.2.5. Спектрофотометричні методи дослідження.

Всі спектрофотометричні методи дослідження були виконані на спектрофотометрі Ulab 101 із застосуванням кювети із відповідною довжиною оптичного шляху. Для дослідження біохімічних показників у печінці використовували 10% гомогенат тканин печінки щурів. Гомогенат готувався шляхом гомогенізації 1 г печінки щурів із 9 мл Трис-буферного розчину ($M=0,2$, $pH=7,4$).

2.2.5.1. Визначення продукції супероксидного аніон-радикала (САР).

Для визначення базової продукції САР в якості ідентифікуючої реакції застосовували реакцію САР із нітросинім тетразолієм в результаті якої утворюється кольоровий продукт (диформазан), який кількісно відповідає кількості САР, що вступив у реакцію. Метод здійснювали наступним чином:

1. Відбирали для аналізу 0,05 мл 10% гомогенату тканин печінки.
2. Додавали в пробірки 0,05 мл буферного розчину ($pH\ 7,4$, містить в 1 л - 5,37 г безводного однозаміщеного фосфату калію, 8,5 г хлориду натрію, 1,5 г гідроксиду натрію).
3. Далі проводили інкубацію проб при $37^{\circ}C$: 10 хв.
4. Додавали по 0,05 мл 0,2% нітросинього тетразолію на трис-буфері (1 г на 100 мл Трис-буферного розчину).
6. Далі проводили інкубацію проб при $37^{\circ}C$: 30 хв.
7. Додавали 2,0 мл диметилсульфоксид-хлороформу (об'ємне відношення 2:1) і збовтувати 1 хв.
8. Центрифугували 5 хв при 1500 об / хв.
9. Відбирали пофарбований надосадовий шар.
10. Спектрофотометрували 2,0 мл верхнього шару проти контролю (2,0 мл диметилсульфоксид-хлороформу) при довжині хвилі 540 нм. [164].

Для оцінки внеску мікросомального електроно-транспортного (мкЕТЛ) ланцюга та NO-синтази в продукцію супероксидного аніон-радикалу в печінці щурів проводили визначення продукції САР із

індуктором – 3% розчином НАДФН. Для оцінки внеску мітохондріального електронно-транспортного (мтЕТЛ) ланцюга в продукцію супероксидного аніон-радикалу в печінці щурів проводили визначення продукції САР із індуктором – 3% розчином НАДН.

2.2.5.2. Визначення концентрації малонового діальдегіду (МДА). Вміст малонового діальдегіду визначали по вмісту специфічного кольорового продукту, який утворюється в реакції МДА з 1-метил-2феніл-індолом. Для чого 0,2 мл 10% гомогенату тканин серця додавали до 0,65 мл суміші ацетонітрил-метанол (3:1), після чого до утвореного розчину додавали 0,15 мл концентрованої соляної кислоти та інкубували при $t=45^{\circ}\text{C}$ 40 хв [165].

2.2.5.3. Визначення активності супероксиддисмутази (СОД). Активність СОД визначали по здатності СОД інгібувати аутоокиснення адреналіну в лужному середовищі ($\text{pH}>10$), де 1 умовна одиниця (у.о.) дорівнює зниженню реакції аутоокиснення на 50%. Для цього 0,1 мл 10% гомогенату тканин серця додавали до 3,6 мл карбонатного буферного розчину (0,1 М $\text{pH}=10,6$). Після цього до суміші додавали 0,5 мл 1,82% розчину адреналіну. Визначали приріст світлопоглинання за 5 хв (дельта А) на довжині хвилі 405 нм. Активність СОД визначали за формулою:

$$T = (\text{стандарт } A - \text{дельта } A) / \text{стандарт } A * 100\%,$$
 де стандарт А - швидкість аутоокиснення адреналіну у відсутності гомогенату.

$$\text{Активність СОД} = (T / (100 - T)) [166].$$

2.2.5.4. Визначення активності каталази. Для оцінки активності каталази до 0,2 мл 10% гомогенату тканин серця додавали 2 мл 0,03% розчину пероксиду водню. Інкубація протягом 10 хв при кімнатній температурі ($t=22-26^{\circ}\text{C}$). Після чого до суміші додавали 1 мл 2% розчину молібдату амонію та визначали оптичну густину (О) на довжині хвилі 405 нм. Активність каталази розраховували за формулою: $O * 3,2 * 10 * 0,0222$ (мккат/г) [167]

2.2.6. Статистичне обробка результатів дослідження

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою програмного забезпечення Microsoft Office Excel та розширення Real Statistics 2019 до нього, враховуючи загальноприйняті правила варіаційної статистики.

Для визначення статистичної значущості відмінностей між групами використовували непараметричний критерій Манна-Уїтні. Різницю вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3. СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ГМЦР ПЕЧІНКИ ТА ПЕРЕБУДОВА ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ БЛОКАДИ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ТРИПТОРЕЛІНОМ

При вивченні нами морфологічної основи структурної організації печінки контрольної групи тварин за допомогою гістологічних препаратів печінки щурів, які були забарвлені гематоксилін-еозином та було встановлено наступне: печінка є органом з переважанням паренхіматозного компоненту над стромальним; чітке відокремлення один від одного з формуванням структурних компонентів таких як печінкові часточки.

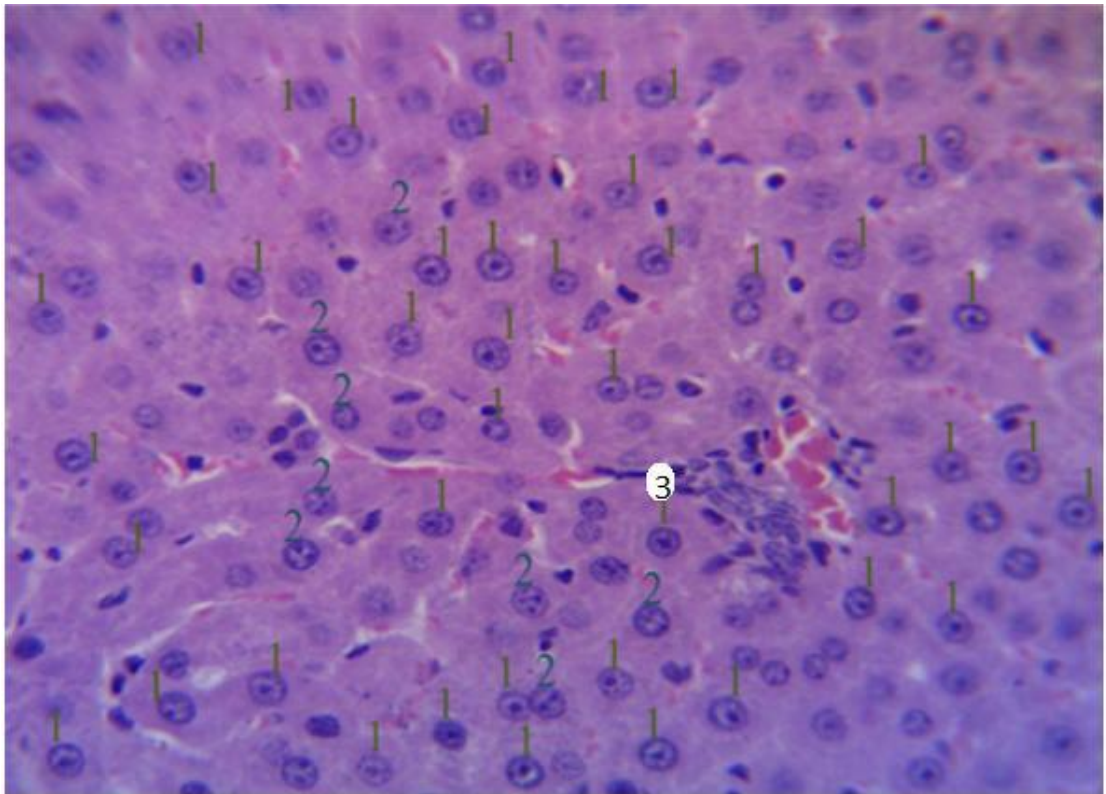


Рис. 3.1. Структурна організація печінки контрольної групи тварин. 1- однадерцеві гепатоцити; 2- двоядерцеві гепатоцити; 3- клітини Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 10.

До складу печінкової паренхіми входили гепатоцити та клітини не гепатоцитарного ряду (ендотеліоцити, клітини Іто, клітини Купфера, лімфоцити, нейтрофіли та інші клітини крові (рис. 3.1).

ГМЦР печінки тісно пов'язане зі структурною організацією органу. Так нами при дослідженні структурних компонентів органу – печінки, а саме часточок, було встановлено, що кровоносна система печінки повністю пронизує строю орган. Міжчасточкові, навколочасточкові вени та артерії були тісно пов'язані між собою. Також вони супроводжуються жовчними протоками і разом утворюють так звані печінкові тріади (рис. 3.2.).

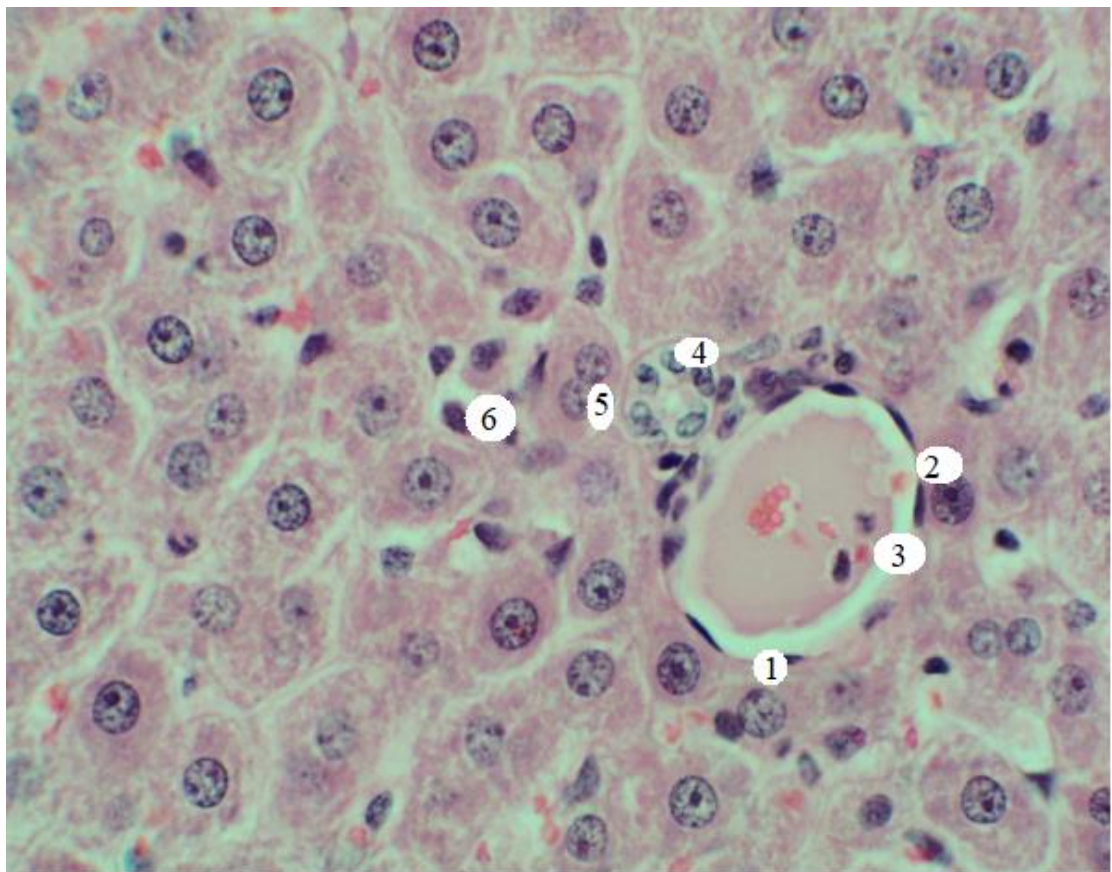


Рис. 3.2. Структурна організація печінкової тріади контрольної групи тварин. 1- ендотелій; 2 - двоядерцевий гепатоцит; 3 - вена; 4 - жовчна протока; 5- двоядерний гепатоцит ; 6- клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Зabarвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20.

Вздовж бокових граней часточок проходили міжчасточкові артерії та вени. Від них відходили навколочасточкові судини, які оперізували часточки на різних рівнях. М'язова оболонка міжчасточкових і навколочасточкових вен розвинена слабо. Відповідні артерії належать до м'язового типу судин.

Зазвичай їх діаметр у кілька разів менший, ніж у відповідних вен. Так діаметр їх склав відповідно - $34,8434 \pm 2,9366$ мкм – артерії, та - $46,5347 \pm 1,4653$ мкм вени (табл.3.1.).

Таблиця 3.1

Морфометрична характеристика компонентів ГМЦР печінки щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном ($M \pm m$), мкм

Параметри	Артеріоли	Венули	Синусоїдні капіляри
Контроль (n=10)	$34,8434 \pm 2,9366$	$46,5347 \pm 1,4653$	$12,1606 \pm 0,6394$
1 місяць (n=5)	$41,7468 \pm 1,2632^*$	$48,3738 \pm 1,0362$	$14,6074 \pm 0,7926^*$
3 місяць (n=5)	$51,6404 \pm 1,8996^{**}$	$56,455 \pm 1,275^*$	$17,2104 \pm 1,2296^{**}$
6 місяць (n=5)	$71,342 \pm 3,568^{**}$	$69,6278 \pm 1,2602^{**}$	$17,22 \pm 1,09^{**}$
9 місяць (n=5)	$78,342 \pm 2,368^{**}$	$73,291 \pm 2,619^{**}$	$15,4462 \pm 1,5238^*$
12 місяців (n=5)	$42,7178 \pm 4,1722^*$	$56,2216 \pm 2,7884^*$	$11,3834 \pm 1,6066$

Примітки: * – $p < 0,05$; та ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження.

Печінкові часточки складались з печінкових балок і синусоїдних гемокапілярів. Балки, як і капіляри між ними, орієнтовані радіально – від периферії часточки до її центру, де була розташована центральна вена.

Стінки капілярів були сформовані ендотеліальними клітинами, між якими є дрібні отвори, де серед ендотеліоцитів знаходились зірчасті макрофаги (клітини Купфера), які не створюють суцільного шару рис.3.3.

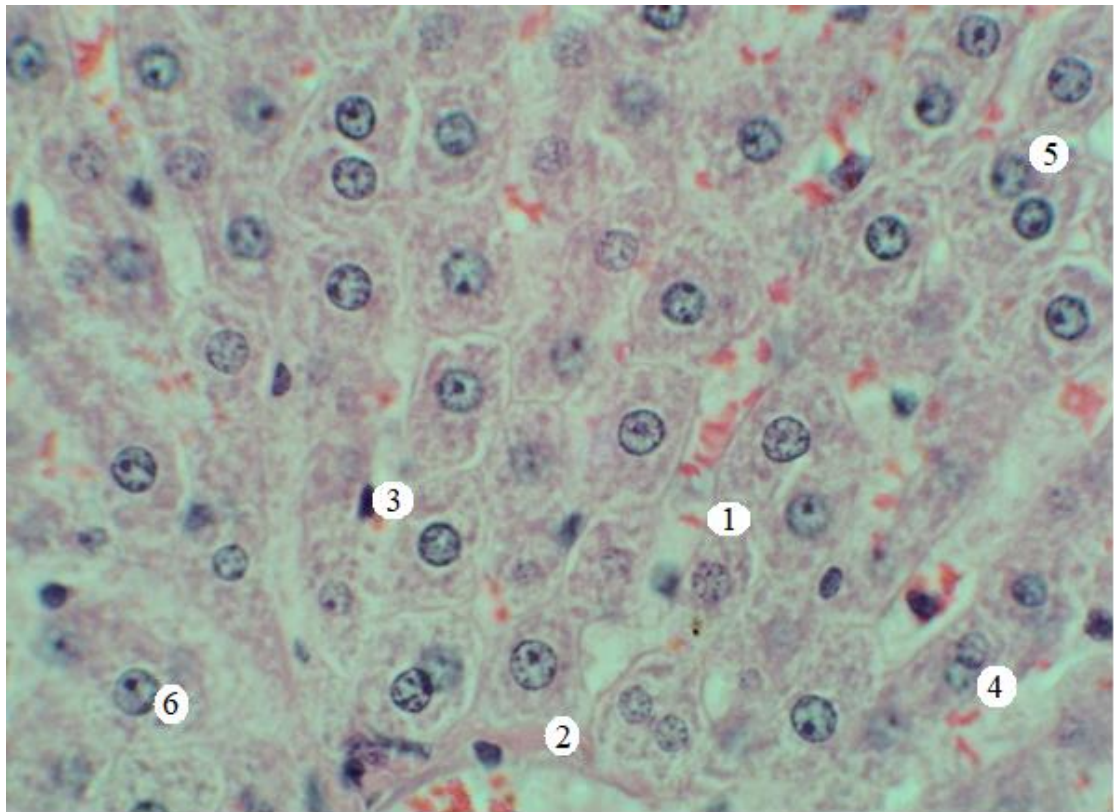


Рис. 3.3. Структурна організація печінки контрольної групи тварин з радіально орієнтованим направленням печінкових капілярів. 1- синусоїдний капіляр; 2- центральна вена; 3- клітина Купфера; 4- двоядерцеві гепатоцити; 5- двоядерний гепатоцит; 6- одноядерцеві гепатоцити Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20.

На основі проведених нами досліджень власне гепатоцитів встановлено, що в інтактній печінці білих щурів гепатоцити є домінуючими клітинами, помітно переважаючими в кількісному відношенні над іншими клітинними елементами (Рис.3.3).

Всі гепатоцити мали чіткі контури, полігональну форму, при цьому середні їх розміри становили: поперечний $18,22 \pm 0,91$ мкм, поздовжній $22,06 \pm 2,33$ мкм.

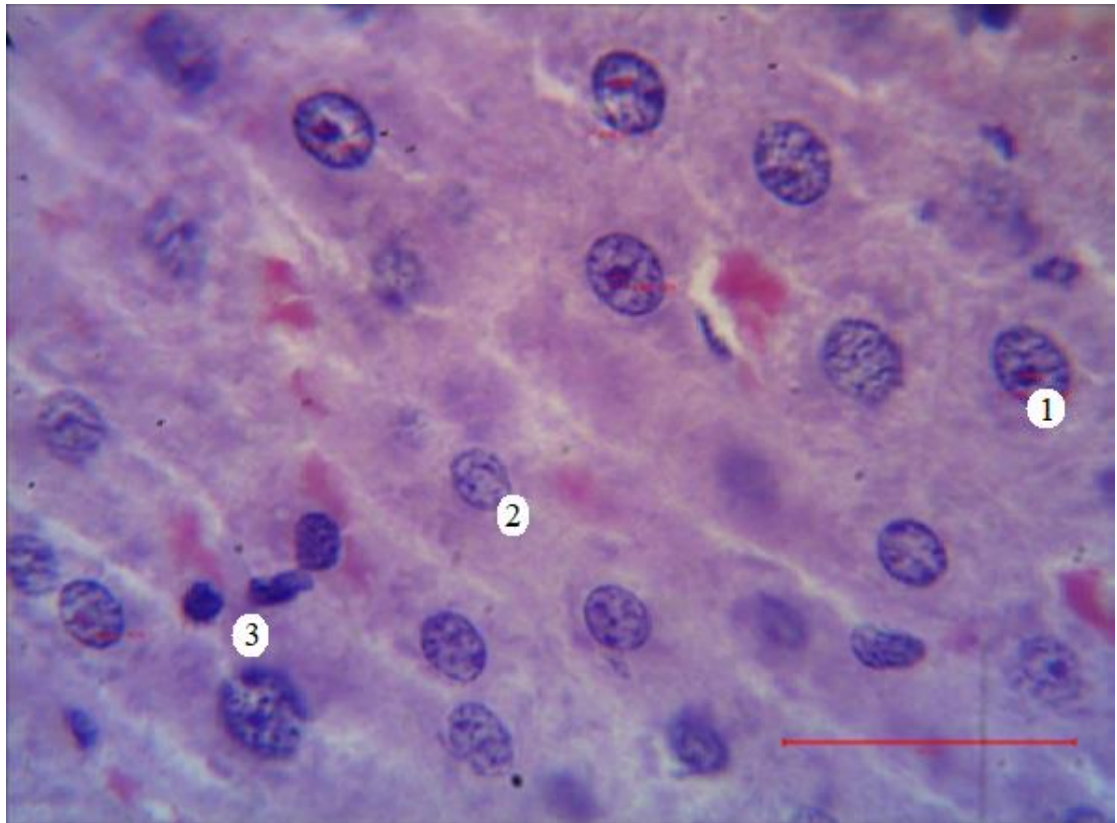


Рис. 3.4. Структурна організація печінки контрольної групи тварин. 1- однадерцеві гепатоцити; 2- двоядерцеві гепатоцити; 3- клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40.

Площа їх в середньому склала $407,522 \pm 23,91$ мкм²: де площа ядер в середньому склала - $64,43 \pm 1,33$ мкм², середні значення площі цитоплазми гепатоцитів склали - $394,66 \pm 3,49$ мкм² (але варіабельність в розмірах клітин була чітко прослідкована нами від центральної вени до периферії печінкової дольки – від меншого до більшого) табл.3.2.

При дослідженні нами цитоплазми гепатоцитів виявляється зміна в зафарбовуванні різними фарбниками і в ряді випадків помірною гранулярністю, що на нашу думку, це очевидно пов'язано, з функціональним станом кожної окремої групи клітин (Рис.3.4).

Таблиця 3.2

Морфометрична характеристика гепатоцитів щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном ($M \pm m$)

Параметри	Середня площа ядра, мкм^2	Середній об'єм ядра, мкм^3	Середня площа цитоплазми, мкм^2	Середній об'єм цитоплазми, мкм^3
Контроль (n=10)	64,43 $\pm$ 1,33	3412,21 $\pm$ 7,32	394,66 $\pm$ 3,49	8323,55 $\pm$ 576,22
1 місяць (n=5)	59,03 $\pm$ 1,02*	3082,12 $\pm$ 25,33*	441,08 $\pm$ 14,33*	10201,07 $\pm$ 556,45*
3 місяць (n=5)	54,31 $\pm$ 1,12*	2711,98 $\pm$ 22,23*	502,99 $\pm$ 13,66*	12220,23 $\pm$ 607,09*
6 місяць (n=5)	52,33 $\pm$ 1,31*	2440,45 $\pm$ 20,11*	518,19 $\pm$ 16,33*	13001,67 $\pm$ 599,67*
9 місяць (n=5)	51,93 $\pm$ 2,51*	2322,22 $\pm$ 24,77*	527,33 $\pm$ 14,45*	14307,31 $\pm$ 556,11*
12 місяців (n=5)	54,33 $\pm$ 1,22*	2698,45 $\pm$ 25,76*	543,33 $\pm$ 13,73*	1456,41 $\pm$ 625,11*

Примітки: * – $p < 0,05$; та ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження.

Перинуклеарний простір мав агрегації базофільного матеріалу, які відповідають локалізації гранулярної ендоплазматичної мережі і добре вирізняються на тлі порівняно блідо забарвленої цитоплазми.

Ядра гепатоцитів мали правильну округлу, рідше дещо еліпсоподібну форму, розташовувалися в центрі клітин і містили від одного до двох ядерць.

Більшість гепатоцитів мали одне ядро, відносна кількість таких клітин склала 77,33%. Відповідно 22,67% гепатоцитів містили два ядра.

Більшої кількості ядер в гепатоцитах нами не було виявлено, ні в контрольній, ні в експериментальній групі тварин.

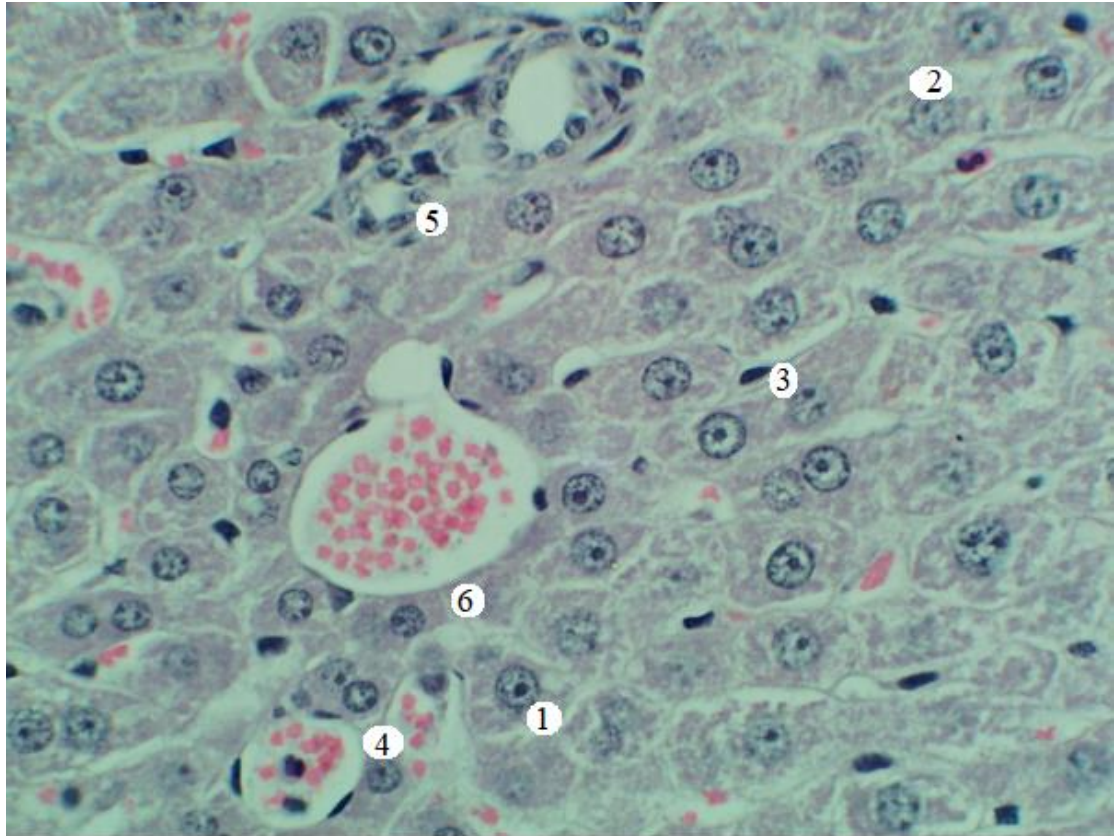


Рис. 3.5. Структурна організація печінки на 1-му місяці спостереження в експериментальній групі тварин. 1- одноядерцеві гепатоцити; 2- двоядерцеві гепатоцити; 3- клітина Купфера; 4- синусоїдний капіляр; 5- жовчна протока; 6- вена. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 40.

Реакція печінки та самих гепатоцитів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном проявилася вже на 1-й місяць експерименту (рис.3.5.). При вивченні напівтонких зрізів цього терміну експерименту було встановлено, що загальна структура печінки збережена,

але з боку строми спостерігалось незначне збільшення її товщини в порівнянні з контрольною групою.

Центральні вени дещо розширені, переповнені кров'ю порівняно з контрольною групою тварин, в їх просвіті були виявлені еритроцити та мала кількість лейкоцитів. Синусоїдні капіляри здебільшого розширені на 20,1% в порівнянні з групою контролю (рис. 3.5. та табл.3.1.). Будова балок збережена, дещо потовщена. Жовчні протоки не змінилися. З боку судин печінкових триад ми не виявили статистично значущі зміни у порівнянні з контрольною групою тварин, так діаметр артерій збільшився на 19,81%, та вен на 3,95%.

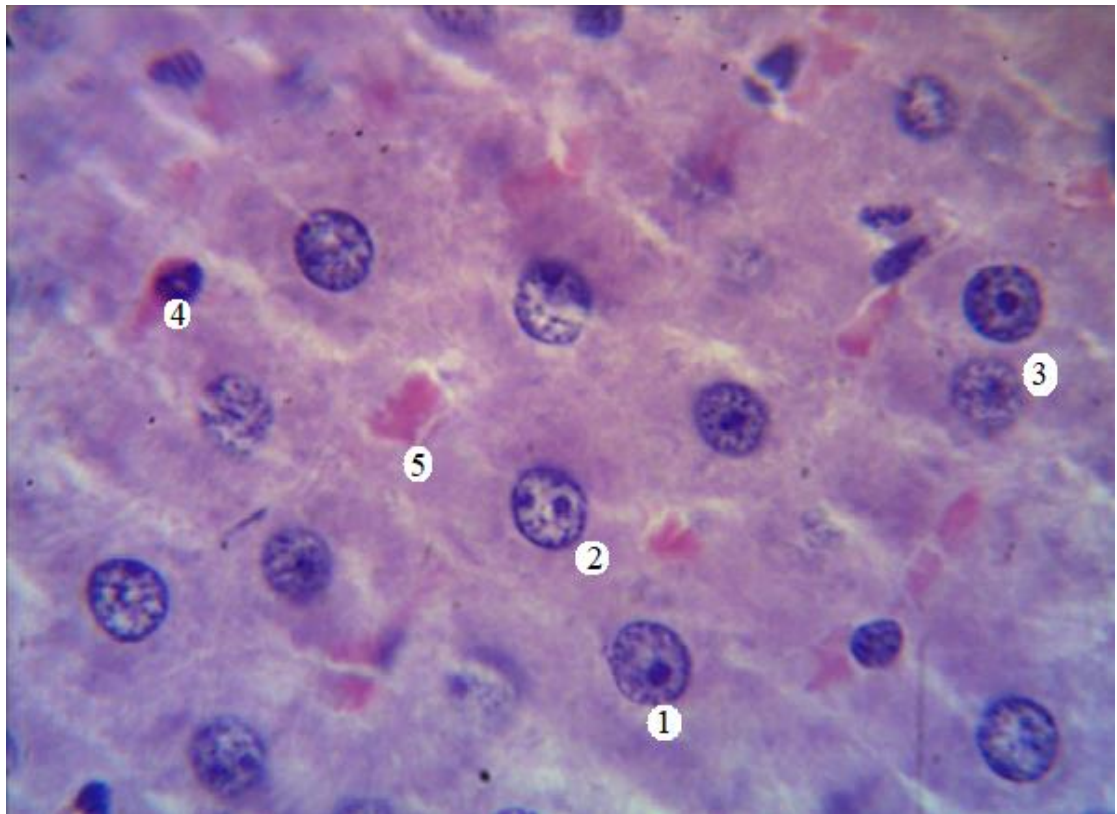


Рис. 3.6. Морфологія гепатоцитів щурів на 1-му місяці експериментальної моделі. 1- одноядерцеві гепатоцити; 2- двоядерцеві гепатоцити; 3- двоядерні гепатоцити; 4- каріопікноз ядра гепатоцита; 5- синусоїдний капіляр. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 40.

З боку паренхіми ситуація була неоднозначною, оскільки більшість гепатоцитів мали різні структурні характеристики. Деякі клітини мали ядра з симптомами каріопікнозу рис.3.6., з різною щільністю самого ядра, але це тільки відносилось до одноядерцевих та одноядерних клітин. Середнє значення площі ядер гепатоцитів становило $59,03 \pm 1,02$ мкм², в той час як у контрольній групі цей показник становив $64,43 \pm 1,33$ мкм² (табл. 3.2.).

Кількість двоядерцевих і двоядерних гепатоцитів збільшилась в порівнянні з контрольною групою тварин, що на 41% та 447% відповідно (табл.3.3.).

Таблиця 3.3.

Кількість двоядерцевих і двоядерних гепатоцитів при експериментальному моделюванні блокади лютеїнізуючого гормону триптореліном ($M \pm m$) в полі зору при збільшенні $\times 400$

Параметри	Двоядерцеві	Двоядерні
Контроль	$1,7 \pm 0,37$	$0,3 \pm 0,065$
1 місяць	$2,4 \pm 0,523$	$1,7 \pm 0,37^*$
3 місяць	$4,78 \pm 0,142^*$	$3,1 \pm 0,6763^{**}$
6 місяць	$4,76 \pm 0,145^*$	$3,8 \pm 0,829^{**}$
9 місяць	$5,4 \pm 0,178^{**}$	$7 \pm 0,527^{**}$
12 місяців	$5,7 \pm 0,243^{**}$	$7,14 \pm 0,557^{**}$

Примітки: * – $p < 0,05$; та ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження.

Більшість цитоплазми гепатоцитів мала гранулярність. У невеликої частини цих клітин спостерігалось збільшення об'єму цитоплазми порівняно з контрольною групою тварин, який становив $10201,07 \pm 556,45$ мкм³, в той час як у контрольній групі цей показник становив $8323,55 \pm 576,22$ мкм³.

3-й місяць експерименту характеризувався тим, що руйнування як строми, так і паренхіми нами не встановлено. Структура балок збережена, збільшена, потовщена. Жовчні протоки незначно розширені, але ми не виявили статистично значущих відмінностей порівняно з контрольною групою.

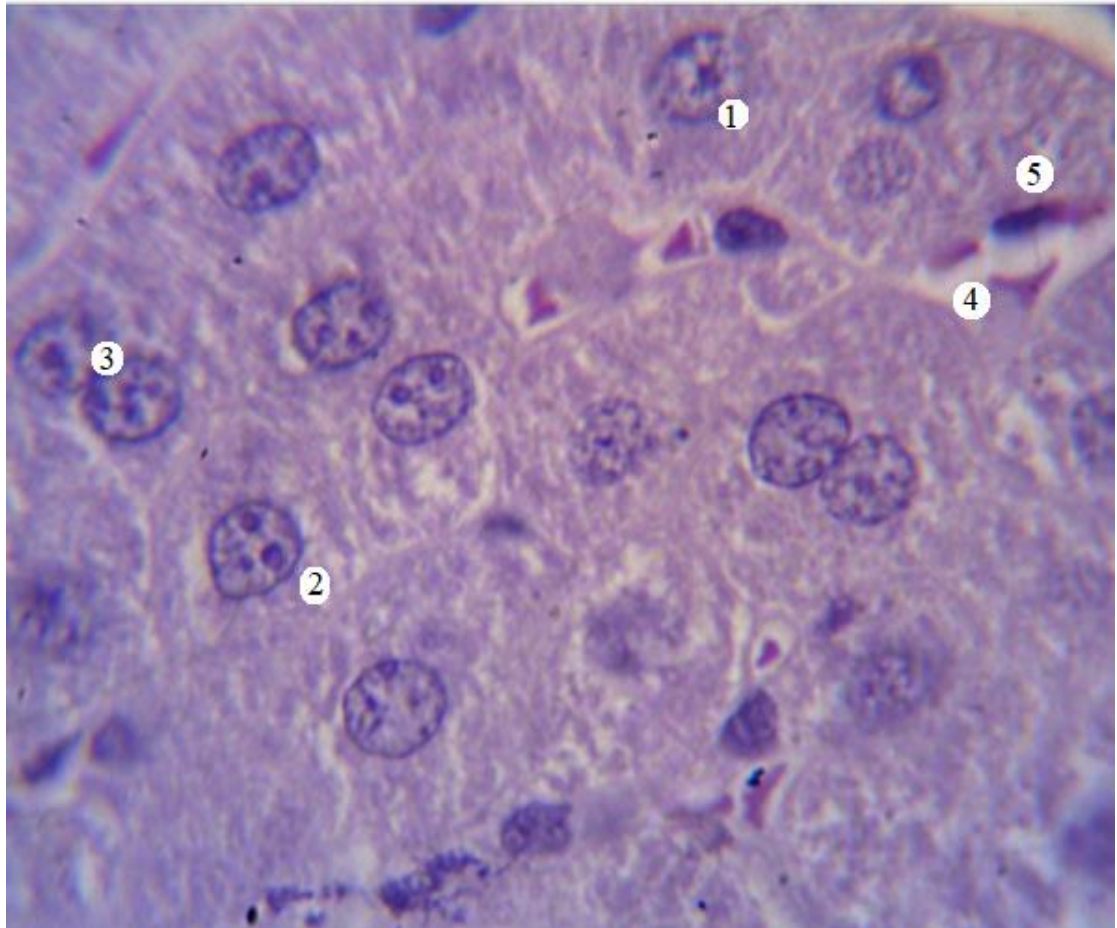


Рис. 3.7. Структурна організація печінки на 3-й місяць при експериментальному моделюванні блокади лютеїнізуючого гормону триптореліном. 1- одноядерцевий гепатоцит; 2- двоядерцевий гепатоцит; 3- двоядерний гепатоцит; 4- синусоїдний капіляр; 5- клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 40.

Зі сторони ГМЦР прослідковується тенденція до збільшення аретрій на 23,7% та вен на 16,7% в порівнянні від групи контролю. Центральні вени дещо

розширені, переповнені кров'ю в порівнянні з контрольною групою тварин. Синусоїдні капіляри розширені і становили - $17,2104 \pm 1,2296$, що на 17,8% більше від показників контрольної групи (табл.3.1.).

З боку паренхіми ми спостерігали, що більшість гепатоцитів мали різні структурні характеристики. Деякі одноядерцеві клітини мали ядро з ознаками каріопікнозу, з різною щільністю самого ядра.

Середнє значення площі ядер гепатоцитів становило $54,31 \pm 1,12$ мкм², що статистично відрізняється від контрольної групи і попереднього терміну (1-й місяць) експерименту.

При дослідженні нами кількості двоядерцевих та двоядерних гепатоцитів була збільшеною і становила $4,78 \pm 0,142$ та $3,1 \pm 0,6763$ в полі зору, що на 181% та 933% відповідно в порівнянні з контрольною групою тварин.

Цитоплазма більшості гепатоцитів мала гранулярність, об'єм якої в середньому становив $12220,23 \pm 607,09$ мкм³.

На 6-й місяць експерименту було відзначено ущільнення і збільшення діаметру структур в стромі печінки. Структура балок печінки збільшена, потовщена. Жовчні протоки збережені, змін не виявлено.

Центральні вени розширені, переповнені кров'ю в порівнянні з контрольною групою тварин. Синусоїдні капіляри розширені і переповнені кров'ю (рис. 3.8.).

Артерії збільшені в розмірах, середнє значення яких становило – $71,342 \pm 3,568$ мкм, що на 105% більше, ніж в групі контролю та на 38% більше, ніж з попереднім терміном спостереження.

Вени триад розширені, заповнені кров'ю (рис. 3.8.) – розмір - $69,6278 \pm 1,2602$ мкм, що в 49%, ніж показники групи контролю (табл .3.1.).

Синусоїдні капіляри розширені, подекуди потовщені, в просвіті яких збільшена кількість макрофагів, ендотелій сплоснений, за рахунок підвищеного кровонаповнення в просвіті, середній розмір склав - $17,22 \pm 1,09$ мкм, що на 41,6% більше від контрольних значень та статистично достовірно

не відрізняються від значень попереднього терміна експерименту (3-го місяця).

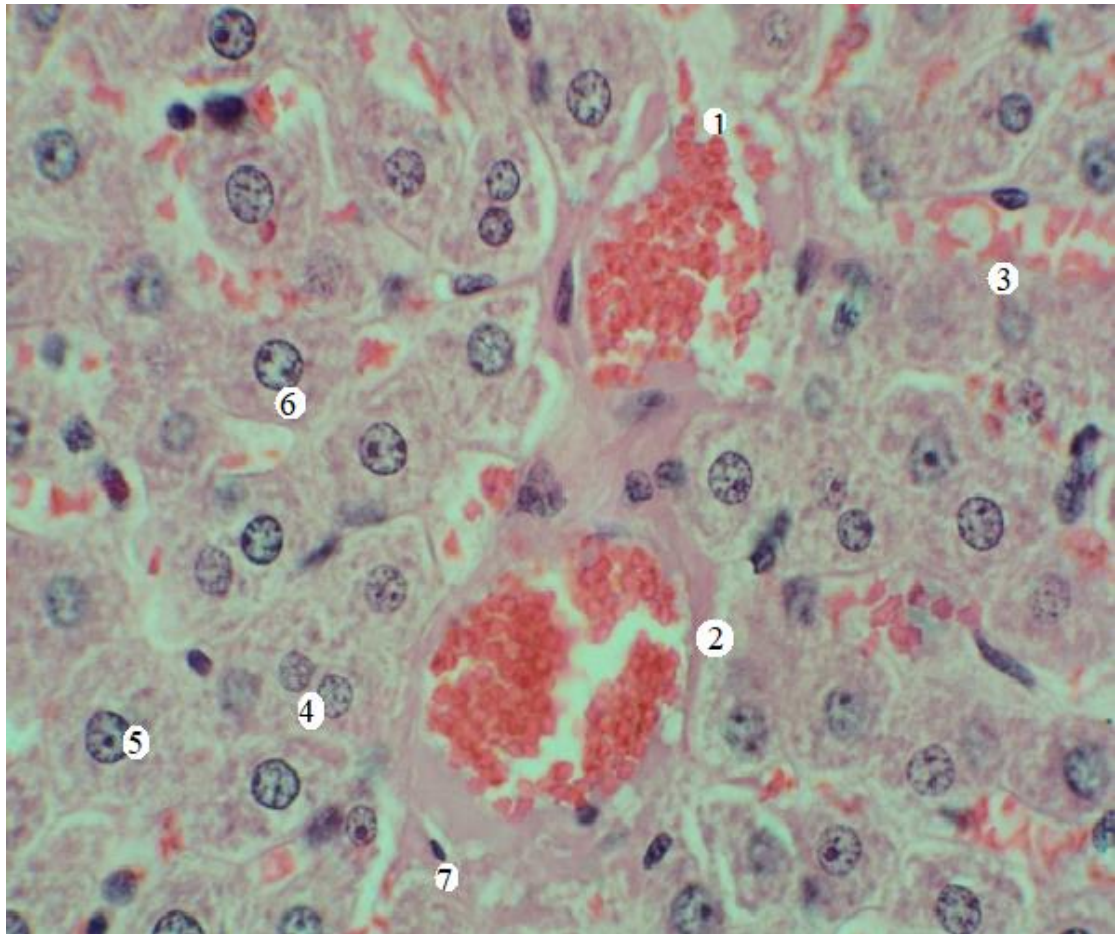


Рис. 3.8. Структурна організація печінки на 6-й місяць при експериментальному моделюванні блокади лютеїнізуючого гормону триптореліном. 1-вена; 2-простір Діссе; 3- синусоїдний капіляр; 4- двоядерний гепатоцит; 5- одноядерцевий гепатоцит; 6- двоядерцевий гепатоцит; 7- клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20.

Руйнувань паренхіми нами не виявлено. Кількість гепатоцитів збільшилась в полі зору за рахунок зменшення об'єму одноядерних клітин. Середній об'єм ядер одноядерцевих клітин склав - $2440,45 \pm 20,11 \text{ мкм}^3$ - зменшився з попередніми термінами спостереження табл.3.2.

Кількість двоядерцевих клітин склала - $4,76 \pm 0,145$, а двоядерних $3,8 \pm 0,829$, що в 1,8 та 11 разів більше, ніж в показниках групи контролю.

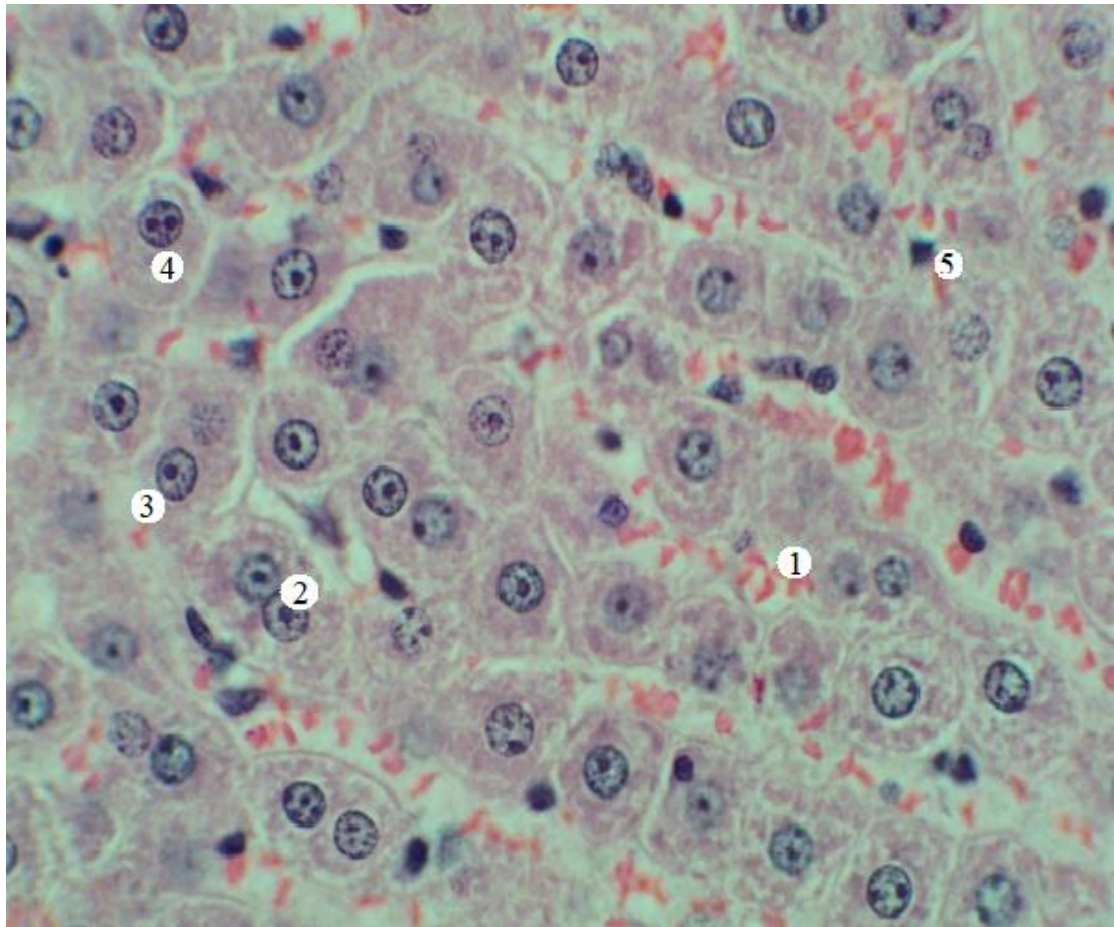


Рис. 3.9. Морфологія гепатоцитів щурів на 6-й місяць при експериментальному моделюванні блокади лютеїнізуючого гормону триптореліном. 1 - синусоїдний капіляр; 2 - двоядерний гепатоцит; 3 - одноядерцевий гепатоцит; 4 - двоядерцевий гепатоцит; 5 - клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20.

У всіх полях зору спостерігалася еозинофілія цитоплазми, з ділянками освітлення гепатоцитів і частковою вакуолізацією цитоплазми (рис. 3.9.). Більшість одноядерних гепатоцитів показала значне збільшення об'єму цитоплазми – в 1,56 рази порівняно з контрольною групою тварин табл.3.2.

При вивченні нами напівтонких зрізів печінки тварин експериментальної групи, на 9-й місяць експерименту було встановлено, що реакція на центральну блокаду лютеїнізуючого гормону в структурі органу проявляється змінами як в стромальному, так і в паренхіматозному компонентах.

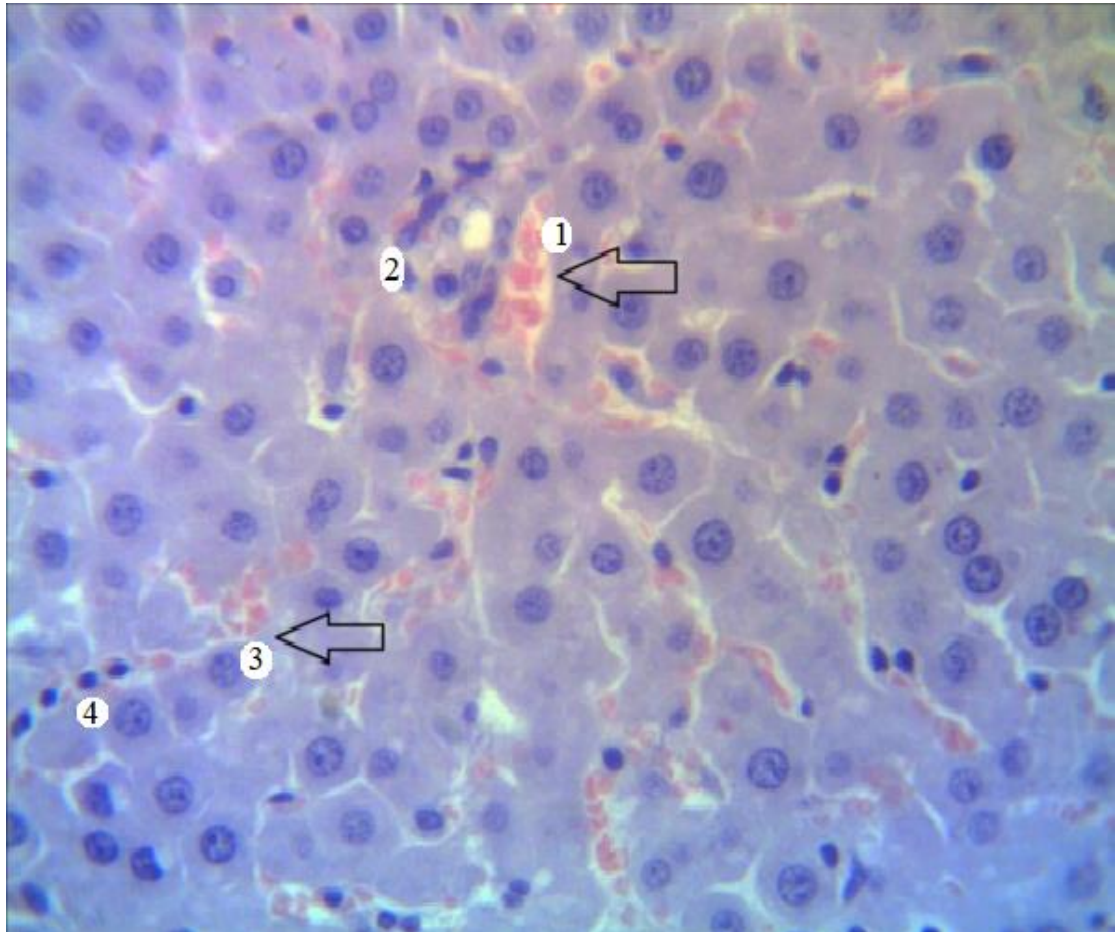


Рис. 3.10. Структурна організація печінки на 9-й місяць при експериментальному моделюванні блокади лютеїнізуючого гормону триптореліном. 1 - вена; 2 - артерія; 3 - синусоїдний капіляр; 4 - клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 10.

Архітектоніка печінки зберігається. При дослідженні анастомозуючих пластинок гепатоцитів було виявлено, що простори сполучної тканини значно

потовщені та ущільнені через збільшення товщини порівняно з контрольною групою тварин. Жовчні протоки були розширені, стінки ущільнені.

З боку судин спостерігався застій. Центральні вени були розширені, переповнені кров'ю, в їх просвіті виявлено еритроцити та велику кількість лейкоцитів порівняно з контрольною групою тварин.

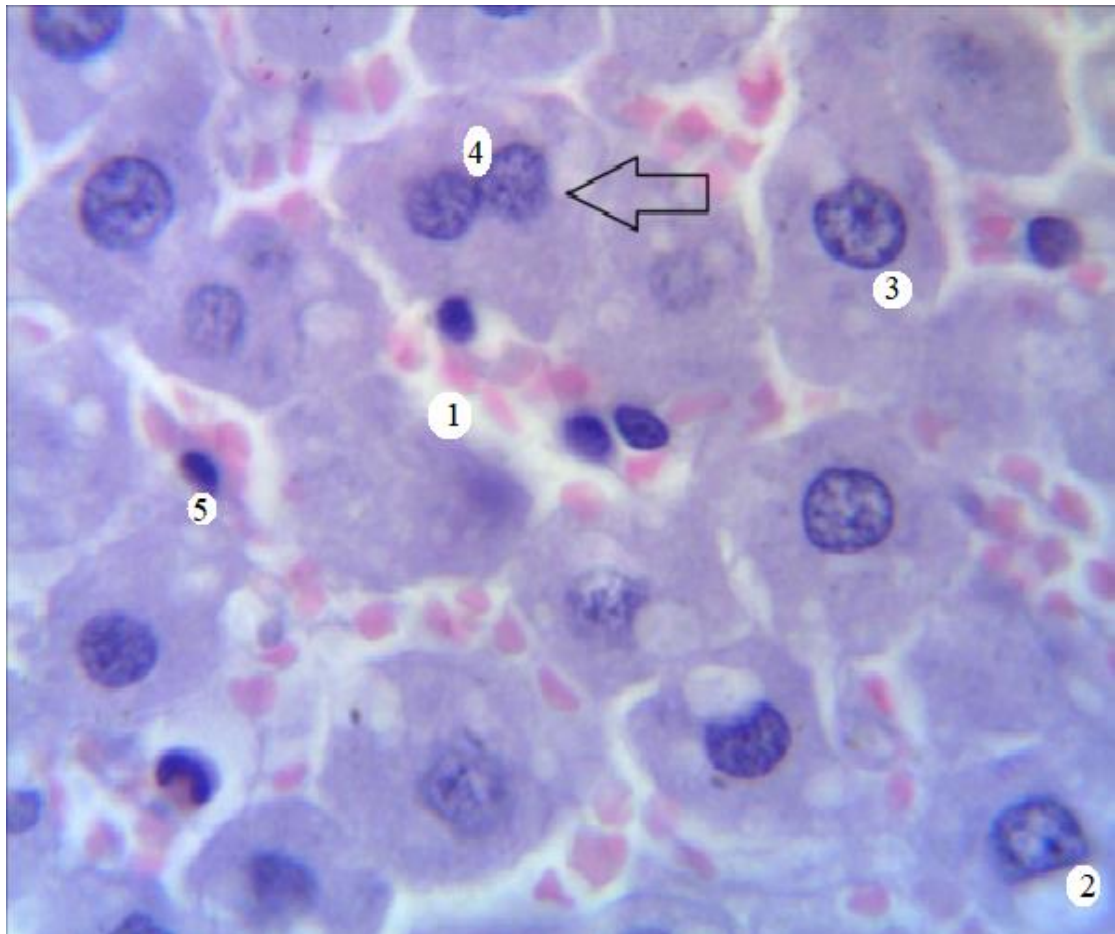


Рис. 3.11. Морфологія гепатоцитів щурів на 9-й місяць при експериментальному моделюванні блокади лютеїнізуючого гормону триптореліном. 1- синусоїдний капіляр; 2- двоядерний гепатоцит; 3- одноподібний гепатоцит; 4- двоядерний гепатоцит; 5- клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 40.

Венозний застій спостерігався також в судинах печінкових триад. Синусоїдні капіляри в більшості своїй були розширені та переповнені кров'ю.

Збільшення їх діаметра зберігалось від тріади до центральної вени за рахунок збільшення внутрішнього діаметра (рис.3.10.).

Зі сторони артерій тріад печінки, судини збільшені в розмірах, середнє значення становило – $78,342 \pm 2,368$ мкм, що на 124% більше, ніж в групі контролю та на 9% більше, ніж з попереднім терміном спостереження.

Вени розширені, наповнені кров'ю – розмір - $73,291 \pm 2,619$ мкм, що в 58%, ніж показники групи контролю (табл .3.1.).

Капіляри були розширені, подекуди потовщені, середній розмір склав - $15,4462 \pm 1,5238$ мкм, що на 27% більше від контрольних значень та статистично достовірно не відрізняються від значень попереднього терміна експерименту (6-го місяця).

При вивченні паренхіматозного компонента печінки, а саме гепатоцитів, клітини були розділені на кілька груп залежно від стану ядер і цитоплазми. Так, за кольором цитоплазми ми поділили клітини на дві групи: базофільно забарвлені та оксифільно забарвлені клітини.

Більшість гепатоцитів відрізнялися за структурними характеристиками на напівтонких зрізах. Обсяг ядер одноядерних гепатоцитів становив $1602,09 \pm 44,58$ мкм³, що в 2 рази менше ($p < 0,001$) порівняно з контрольною групою тварин.

Кількість двоядерцевих та двоядерних гепатоцитів помітно збільшилась, з попередніми термінами спостереження.

Цитоплазма більшості клітин мала оксифільну гранулярність. Більшість гепатоцитів мали збільшений обсяг цитоплазми — $28646,49 \pm 1344,28$ мкм³, що в 3 рази більше ($p < 0,001$), порівняно з контрольною групою тварин. Просторова локалізація оксифільних гепатоцитів була визначена ближче до центральної вени. Базофільні гепатоцити знаходилися на периферії печінкової дольки.

12-й місяць експерименту характеризувався тим, що руйнування строми та паренхіми не спостерігалось. Структура гепатоцитів зберігалася. Печінкові балки були збільшені, потовщені, набряклі. Жовчні протоки були розширені.

Судини печінкових триад заповнені кров'ю, стінки мають більшу щільність. Центральні вени дещо розширені, порівняно з контрольною групою тварин, але помітно менші в порівнянні з попереднім періодом. Капіляри дещо розширені, незначно переповнені кров'ю (рис. 3.12.).

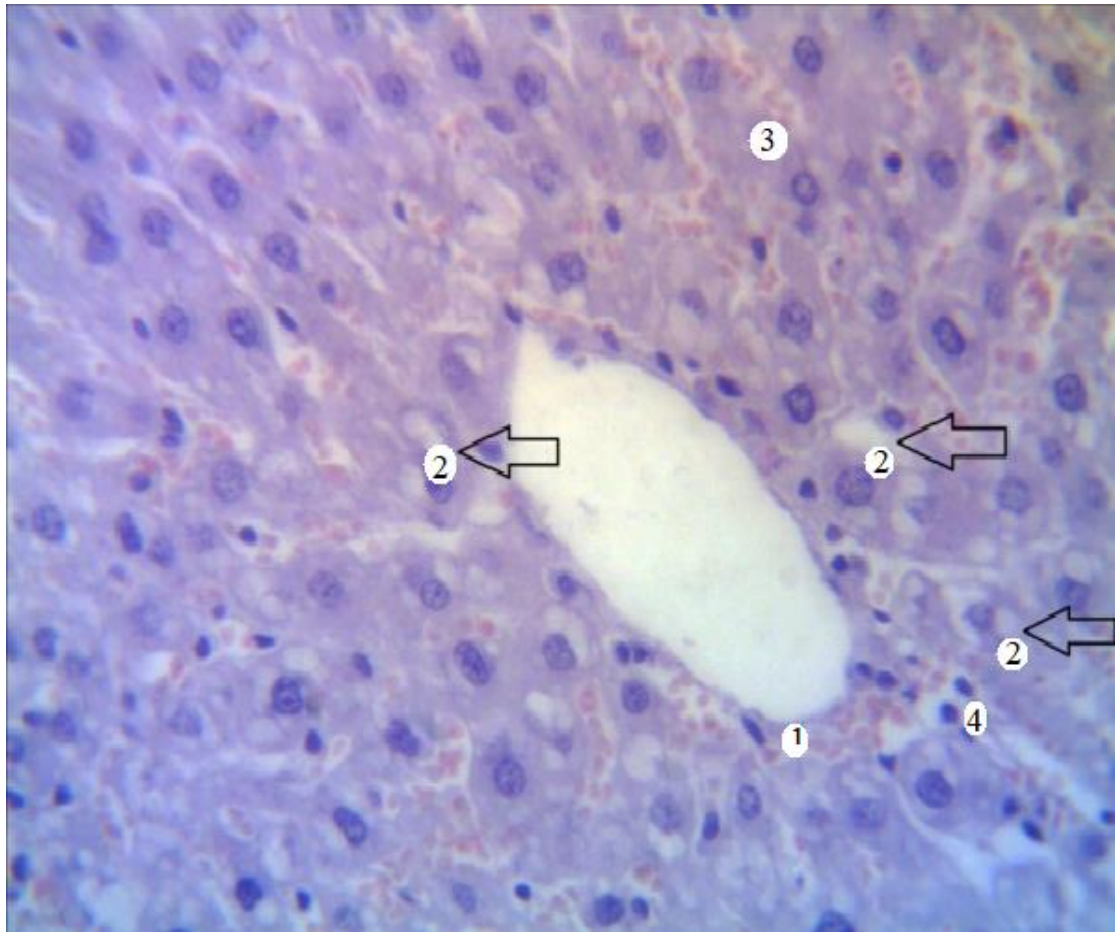


Рис. 3.12. Структурна організація печінки на 12-й місяць при експериментальному моделюванні блокади лютеїнізуючого гормону триптореліном. 1 - центральна вена; 2 - вакуолізація цитоплазми гепатоцитів; 3 - синусоїдний капіляр; 4 - клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 10.

Судинний компонент триад, а саме: артерії - збільшені в розмірах, середнє значення становило – $42,7178 \pm 4,1722$ мкм, що на 22,6% більше, ніж в групі контролю та на 45%% менше, ніж з попереднім терміном спостереження. Вени – відмічається стаз, розширені, наповнені кров'ю –

розмір - $56,2216 \pm 2,7884$ мкм, що на 21% більше, ніж показник групи контролю (табл .3.1.). Синусоїди середній розмір склав - $11,3834 \pm 1,6066$ мкм.

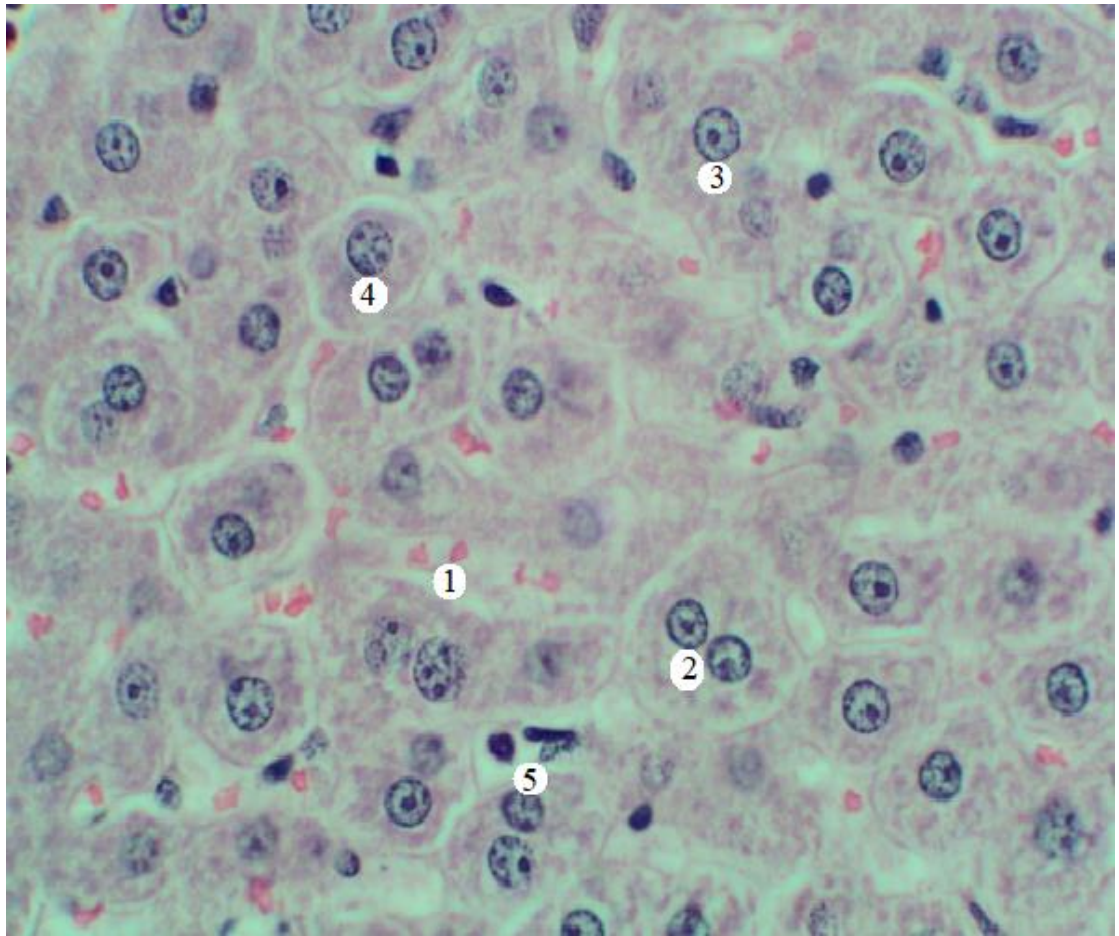


Рис. 3.13. Морфологія гепатоцитів щурів на 12-му місяці при експериментальному моделюванні блокади лютеїнізуючого гормону триптореліном. 1 - синусоїдний капіляр; 2 - двоядерний гепатоцит; 3 - одноядерцевий гепатоцит; 4 - двоядерцевий гепатоцит; 5 - клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 40:

При морфологічному дослідженні ядер гепатоцитів на 12-й місяць спостереження виявляється збільшення загальної кількості змінених клітин за рахунок двоядерцевих та двоядерних - $5,7 \pm 0,243$ та $7,14 \pm 0,557$ відповідно. Що є сталою від попереднього терміна спостереження (9-й місяць – табл.3.3.).

Більшість одноядерних гепатоцитів мали ядра з чіткими каріопікнотичними змінами. Середній обсяг ядер становив $1955,69 \pm 61,35$ мкм³, що в 1,7 рази менше ($p < 0,001$), ніж у контрольній групі. Обсяг цитоплазми гепатоцитів становив $25841,64 \pm 1123,68$ мкм³, що в 3 рази більше ($p < 0,001$) порівняно з контрольною групою. Їх цитоплазма була еозинофільною з ділянками вакуолізації (рис. 3.13.).

Таким чином, при вивченні морфологічних особливостей структурної організації ГМЦР печінки та перебудова гепатоцитів щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном нами встановлено, що ГМЦР печінки має тісний зв'язок зі структурною організацією органу. Дослідження судинної системи часточок показало, що кровоносні судини печінки рівномірно розподілені в стромі.

Міжчасточкові, навколочасточкові вени та артерії тісно взаємопов'язані між собою. Артерії та вени міжчасточкового та навколочасточкового рівня показали такі середні значення діаметра судин: $34,84 \pm 2,93$ мкм для артерій та $46,53 \pm 1,46$ мкм для вен.

Печінкові часточки складаються з печінкових балок та синусоїдних гемокапілярів. Печінкові балки, подібні до капілярів, між ними орієнтовані радіально – від периферії часточки до її центру, де розташовується центральна вена. Гепатоцити, як основні клітини печінкової паренхіми, у контрольній групі мали чіткі контури та полігональну форму. Середній поперечний розмір становив $18,22 \pm 0,91$ мкм, а поздовжній – $22,06 \pm 2,33$ мкм.

Площа гепатоцитів у середньому склала $407,52 \pm 23,91$ мкм², де площа ядер становила $64,43 \pm 1,33$ мкм², а цитоплазми – $394,66 \pm 3,49$ мкм². Спостерігалася варіабельність розмірів клітин від центральної вени до периферії часточки. При дослідженні цитоплазми гепатоцитів відзначено її неоднорідне забарвлення та гранулярність, що може бути пов'язано з функціональним станом клітин.

Ядра гепатоцитів були округлими або еліптичними, розташовувалися в центрі клітини, містили одне або два ядерця. У контрольній групі 77,33% гепатоцитів мали одне ядро, а 22,67% – два.

При моделюванні блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном вже на першому місяці експерименту виявлено зміни морфологічних характеристик печінки. Центральні вени були дещо розширені та переповнені кров'ю, що супроводжувалося підвищенням кровонаповнення синусоїдних капілярів, їх розширенням на 20,1% порівняно з контрольною групою.

Судини печінкових тріад статистично значущих змін не зазнали, хоча діаметр артерій збільшився на 19,81%, а вен – на 3,95%. У структурі паренхіми відзначено збільшення кількості двоядерцевих і двоядерних гепатоцитів на 41% та 447% відповідно. Також спостерігалось зменшення середньої площі ядер гепатоцитів до $59,03 \pm 1,02$ мкм² (контроль – $64,43 \pm 1,33$ мкм²), а середній об'єм цитоплазми збільшився до $10201,07 \pm 556,45$ мкм³ (контроль – $8323,55 \pm 576,22$ мкм³).

На 3-й та 6-й місяці експерименту відзначалося подальше збільшення діаметра артеріальних та венозних судин, збільшення кількості клітин Купфера та збільшення кількості двоядерцевих та двоядерних гепатоцитів. Зі сторони паренхіми спостерігалось потовщення печінкових балок, а в окремих ділянках – вакуолізація цитоплазми гепатоцитів.

На 9-му та 12-му місяці відзначалося ущільнення сполучної тканини, розширення жовчних проток та вен печінкових тріад. У структурі гепатоцитів виявлено підвищену вакуолізацію цитоплазми та каріопікноз ядер одноядерних клітин. Середній об'єм ядер гепатоцитів значно зменшився порівняно з контрольною групою, а цитоплазма мала виражену еозинофілію в одноядерних клітинах.

1. Ядерні зміни гепатоцитів

В ядрах спостерігалася різна щільність хроматину, що може вказувати на неоднорідність у процесах пошкодження або адаптації. Важливим

показником є зменшення кількості двоядерних гепатоцитів, що свідчить про порушення регенераторних здібностей печінки, оскільки у нормі такі клітини активно розмножуються і виконують функцію підтримки гомеостазу. Зменшення розмірів ядра разом із зникненням двоядерних клітин може бути ознакою порушення білкового синтезу та послаблення клітинної активності, що в майбутньому може призвести до дистрофічних змін або загибелі клітин.

2. Цитоплазматичні зміни

На фоні значного зменшення об'єму ядра, об'єм цитоплазми значно збільшився, що може бути компенсаторною реакцією клітин або наслідком накопичення певних речовин у ній. Середній об'єм цитоплазми досяг $28646,49 \pm 1344,28$ мкм³, що у 3 рази перевищує норму ($p < 0,001$). Виявлено оксифільну гранулярність цитоплазми, що може вказувати на збільшення кількості мітохондрій та активізацію енергетичного метаболізму. Це також може бути ознакою оксидативного стресу. Висока оксифілія може бути пов'язана зі збільшеним синтезом білків або активацією аутофагії – процесу розщеплення внутрішньоклітинних компонентів, спрямованого на виживання клітини в умовах стресу. Таке збільшення об'єму цитоплазми на фоні зменшення ядра є ознакою порушення балансу між ядерними та цитоплазматичними структурами, що може свідчити про компенсаторно-адаптаційні механізми або початкові патологічні зміни.

3. Просторова організація клітин у печінковій часточці

Важливим фактором є зміни у локалізації клітин різного типу в межах печінкової часточки, що може вказувати на зміни в мікрооточенні клітин та їх функціональному стані. Оксифільні гепатоцити (клітини з високою метаболічною активністю) локалізувалися ближче до центральної вени. Це свідчить про те, що саме в цій зоні відбувалися найбільш інтенсивні зміни, можливо, через гіпоксію, вплив токсичних метаболітів або підвищене навантаження на клітини. Базофільні гепатоцити (більш молоді клітини з активним білковим синтезом) розташовувалися переважно на периферії печінкової часточки, що може бути адаптивною реакцією організму для

підтримки функцій печінки. Така просторова організація гепатоцитів може бути пов'язана зі змінами кровопостачання печінки – можливо, центральні ділянки отримують менше кисню та поживних речовин, що змушує клітини змінювати свій фенотип. Порухенням розподілу навантаження між різними ділянками печінкової дольки – центральні клітини зазнають більшого стресу, що може спричинити їх пошкодження або зміни у функціональному стані.

4. Узагальнені висновки

На основі отриманих даних можна зробити такі висновки:

Гепатоцити зазнали суттєвих морфологічних змін, які можуть вказувати на процеси адаптації або пошкодження. Спостерігається тенденція до каріопікнозу на ранніх термінах експерименту та значного зменшення об'єму ядра одноядерних гепатоцитів, що може свідчити про порушення нормального функціонування клітин. Збільшення об'єму цитоплазми може бути пов'язане з компенсаторними механізмами або нагромадженням токсичних продуктів обміну.

Зміни у розподілі клітин у печінковій часточці, а саме двоядерцевих та двоядерних можуть бути наслідком локальних порушень кровопостачання внаслідок оксидативного стресу викликаного блокуванням синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Усе це може свідчити про розвиток патологічного процесу або тривалу адаптацію клітин до несприятливих умов, що вимагає подальшого аналізу функціонального стану печінки.

Таким чином, моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном призводить до значних морфологічних змін у структурі печінки, що проявляється порушенням судинної організації, зміні кількісного співвідношення між одноядерними та двоядерцевими та двоядерними гепатоцитами, що проявляється підвищеною кількістю двоядерних гепатоцитів в полі зору, змінами розмірів цитоплазми та ядер клітин.

Матеріали розділу 3 опубліковані автором у таких працях:

1. O. A. Polyvyana, K. V. Shepitko, Ye. V. Stetsuk [et al.] (2021). Influence of prolonged tripterelin-induced central deprivation of testosterone synthesis on

morphological structure of rat's liver. *Світ медицини та біології*. № 1 (75), 205–209. (**Web of Scienic**);

2. Полив'яна О.А. Морфологічна оцінка гепатоцитів щурів при центральній депривації синтезу тестостерону на 30-ту та 90-у доби спостереження / О.А. Полив'яна, В. І. Шепітько, О.В. Вільхова, Т.А. Скотаренко // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Наукова-практика: сучасні та класичні методи дослідження», м. Бостон, США, 26 лютого 2021 р. – Вінниці, 2021. – С. 86-87

3. Полив'яна О. А. Реакція структурних компонентів печінкової дольки при введенні триптореліну на 30-ту добу спостереження у щурів / О. А. Полив'яна, Є. В. Стецук // Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Морфогенез та регенерація» (ІІІ Жутаєвські читання), м. Полтава, 20–21 квітня 2023 р. – Полтава, 2023. – С. 59–61.

РОЗДІЛ 4. МОРФОЛОГІЧНІ І МЕТРИЧНІ ЗМІНИ В ОРГАНІЗАЦІЇ ГМЦР ПЕЧІНКИ ТА ПЕРЕБУДОВИ ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ БЛОКАДИ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ТРИПТОРЕЛІНОМ З ДОДАВАННЯМ КВЕРЦЕТИНУ

Для з'ясування антиоксидантної дії водорозчинної форми кверцетину на перебіг оксидативного стресу викликаного моделюванням блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном експериментальної групи тварин, нами було проведене морфологічне дослідження структурної організації печінки за допомогою гістологічних препаратів, які були забарвлені гематоксилін-еозином.

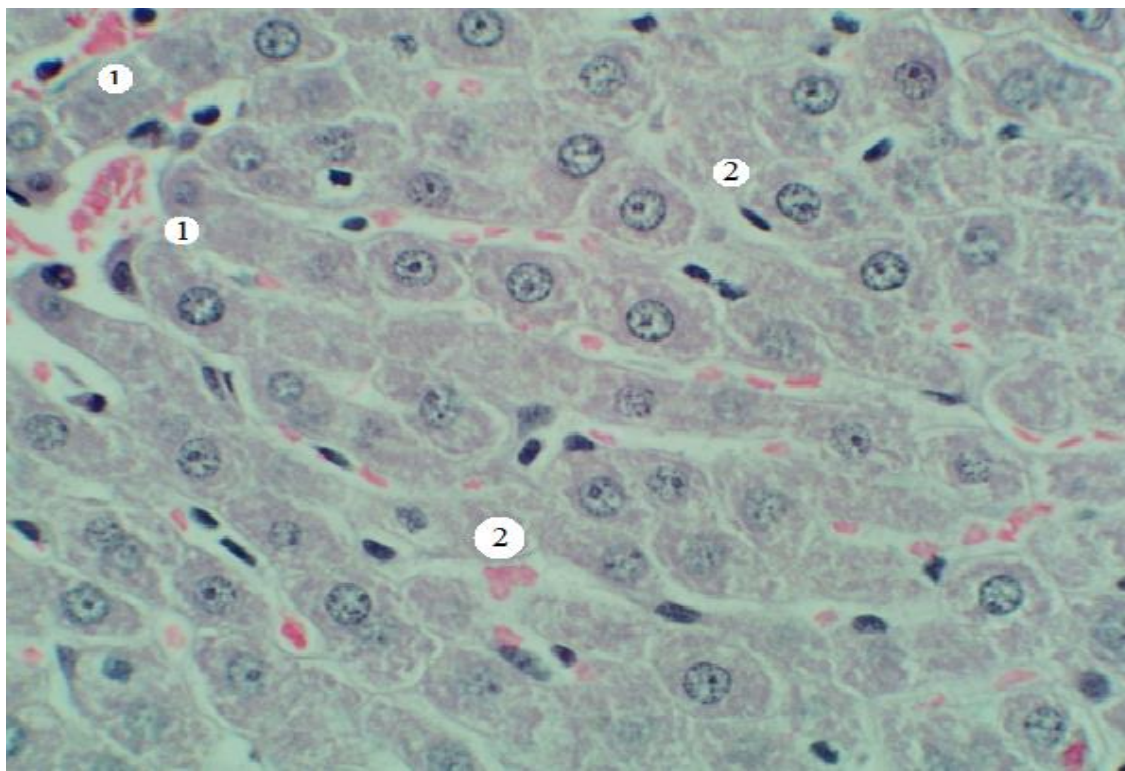


Рис. 4.1. Структурна організація печінки на 1-му місяці спостереження за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину. 1- синусоїдний капіляр; 2 – гепатоцит. Збільшення. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин.: Ок.: 15, Об.: 20:

Печінка піддослідних тварин на 1-му місяці спостереження має структурну організацію паренхіматозного органу. Більшість клітин становлять гепатоцити (рис. 4.1).

При дослідженні ГМЦР печінки цього строку експерименту встановлено: середній діаметр артерій склав - $38,2164 \pm 3,6736$ мкм, що на 19,81%, більше, ніж в показниках контрольної групи. Вени - $43,5954 \pm 4,9346$ мкм, що тільки на 3,95% більше, ніж в групі контролю (табл.4.1.).

Таблиця 4.1

Морфометрична характеристика компонентів ГМЦР печінки щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додавання кверцетину ($M \pm m$), мкм

Параметри	Артеріоли	Венули	Синусоїдні капіляри
Контроль (n=10)	$34,8434 \pm 2,9366$	$46,5347 \pm 1,4653$	$12,1606 \pm 0,6394$
1 місяць (n=5)	$38,2164 \pm 3,6736$	$43,5954 \pm 4,9346$	$11,6956 \pm 1,5444$
3 місяць (n=5)	$42,119 \pm 4,641$	$49,859 \pm 5,741$	$14,7838 \pm 1,8562$
6 місяць (n=5)	$89,6264 \pm 7,8236$	$89,895 \pm 8,785$	$19,3118 \pm 2,5482$
9 місяць (n=5)	$76,9354 \pm 6,5346$	$78,1386 \pm 8,5014$	$14,248 \pm 1,712$
12 місяців (n=5)	$76,3614 \pm 7,7186$	$72,0882 \pm 7,3618$	$15,4572 \pm 1,5828$

Примітки: * – $p < 0,05$; та ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження.

Печінкові часточки експериментальної групи тварин склалися з печінкових балок і синусоїдних гемокапілярів. Синусоїдні капіляри нерозширені, епітеліоцити – ядра чіткі, цитоплазма без змін, розмір - $11,6956 \pm 1,5444$ мкм.

Балки, як і капіляри меж, розходились радіально від центральної вени на периферію печенкової часточки.

В просвіті капілярів чітко візіалізувались макрофаги рис.4.2.

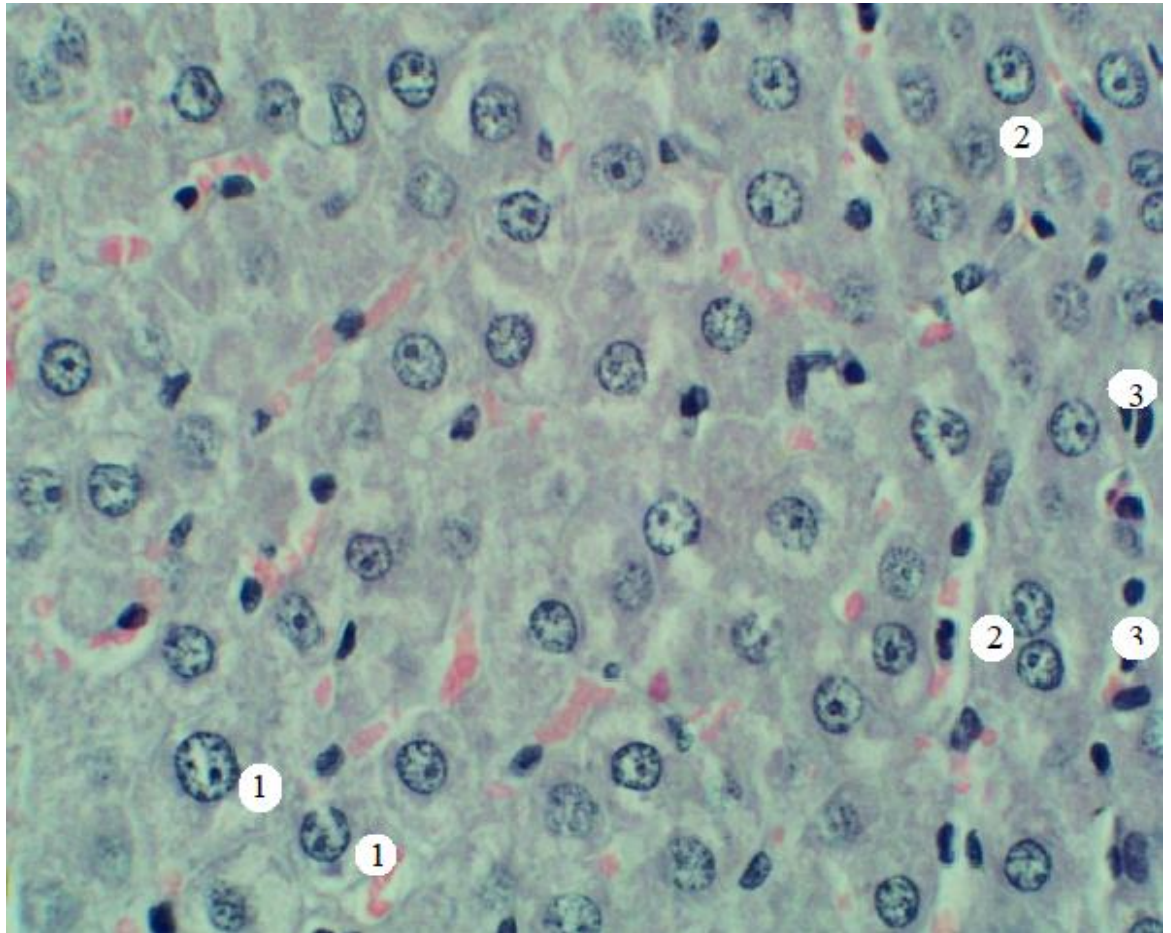


Рис. 4.2. Морфологія гепатоцитів щурів на 1-му місяці спостереження за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину. 1 - двоядерцевий гепатоцит; 2 - двоядерний гепатоцит; 3 - клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20:

При дослідженні нами кількісного та якісного складу гепатоцитів в полі зору на 1-му місяці спостереження нами становлено, що кількість одноядерних гепатоцитів була незначно зменшена за рахунок збільшення змінених гепатоцитів, а саме двоядерцевих та двоядерних.

Всі гепатоцити мали чіткі контури, як ядер так і цитоплазми. Ядра мали правильну округлу, рідше дещо еліпсоїдну форму, розташовувалися в центрі клітин і містили від одного до двох ядерець. Більшість гепатоцитів мали одне ядро. Перинуклеарний простір мав агрегації базофільного матеріалу, які відповідають локалізації гранулярної ендоплазматичної сітки і добре вирізняються на тлі порівняно блідо забарвленої цитоплазми рис.4.2.

Кількість їх склала - $2,2 \pm 0,48$ (двоядерцеві) та $1,54 \pm 0,336$ (двоядерні) в полі зору, але кількість двоядерцевих не достовірна, що не характерно для двоядерних – в 4,1 рази більше при $p < 0,01$ в порівнянні з контрольною групою тварин табл.4.2.

Таблиця 4.2.

Кількість двоядерцевих і двоядерних гепатоцитів при експериментальному моделюванні блокади лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину ($M \pm m$) в полі зору при збільшенні $\times 400$

Параметри	Двоядерцеві	Двоядерні
Контроль (n=10)	$1,7 \pm 0,37$	$0,3 \pm 0,065$
1 місяць (n=5)	$2,2 \pm 0,48$	$1,54 \pm 0,336^{**}$
3 місяць (n=5)	$3,66 \pm 0,498^*$	$2,52 \pm 0,549^*$
6 місяць (n=5)	$4,08 \pm 0,289^*$	$3,9 \pm 0,85^{**}$
9 місяць (n=5)	$4,88 \pm 0,064^*$	$5,3 \pm 0,156^{**}$
12 місяців (n=5)	$5,3 \pm 0,156^{**}$	$6,6 \pm 0,44^{**}$

Примітки: * – $p < 0,05$; та ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою спостереження.

При морфологічному дослідженні площі та об'єму ядер, показники незначно зменшенні в порівнянні з контрольною групою тварин і склали:

62,77±1,34 мкм² та 3239,44±21,23 мкм³ відповідно, що статистично не достовірно в порівнянні з показниками контролю.

При дослідженні нами цитоплазми одноядерних гепатоцитів виявляється: середня площа цитоплазми, мкм² - 430,99±15,21 мкм та середній об'єм цитоплазми - 9295,07±383,33 мкм³ (табл.4.3).

Таблиця 4.3

Морфометрична характеристика гепатоцитів щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину (M±m)

Параметри	Середня площа ядра, мкм ²	Середній об'єм ядра, мкм ³	Середня площа цитоплазми, мкм ²	Середній об'єм цитоплазми, мкм ³
Контроль (n=10)	64,43±1,33	3412,21±7,32	394,66±3,49	8323,55±576,22
1 місяць (n=5)	62,77±1,34	3239,44±21,23*	430,99±15,21*	9295,07±383,33
3 місяць (n=5)	59,29±1,34 *	3012,98±20,23*	451,22±18,72*	10070,23±545,01*
6 місяць (n=5)	58,29±1,31 *	2995,56±18,33*	483,22±18,25*	11101,45±498,98* *
9 місяць (n=5)	57,91±2,55 *	2802,39±27,33* *	491,07±18,22* *	12322,31±401,09* *
12 місяців (n=5)	57,77±2,32 *	2856,91±22,18* *	498,56±15,22* *	12564,22±435,55* *

Примітки: * – p < 0,05; та ** – p < 0,01 порівняно з контрольною групою спостереження.

На 3-му місяці експерименту структура печінки збережена, строма звичайних розмірів. Реакцією ГМЦР печінки у вигляді збільшення діаметру приносячої ланки - на 66,36% в порівнянні з контрольною групою. Ємкісна ланка без значних змін: вени тріад - $49,859 \pm 5,741$ мкм. Центральні вени дещо розширені, заповнені кров'ю (рис.4.3.).

Синусоїдні капілярі - $14,7838 \pm 1,8562$ мкм при $p < 0,05$ до показників контролю. Жовчні протоки не змінилися.

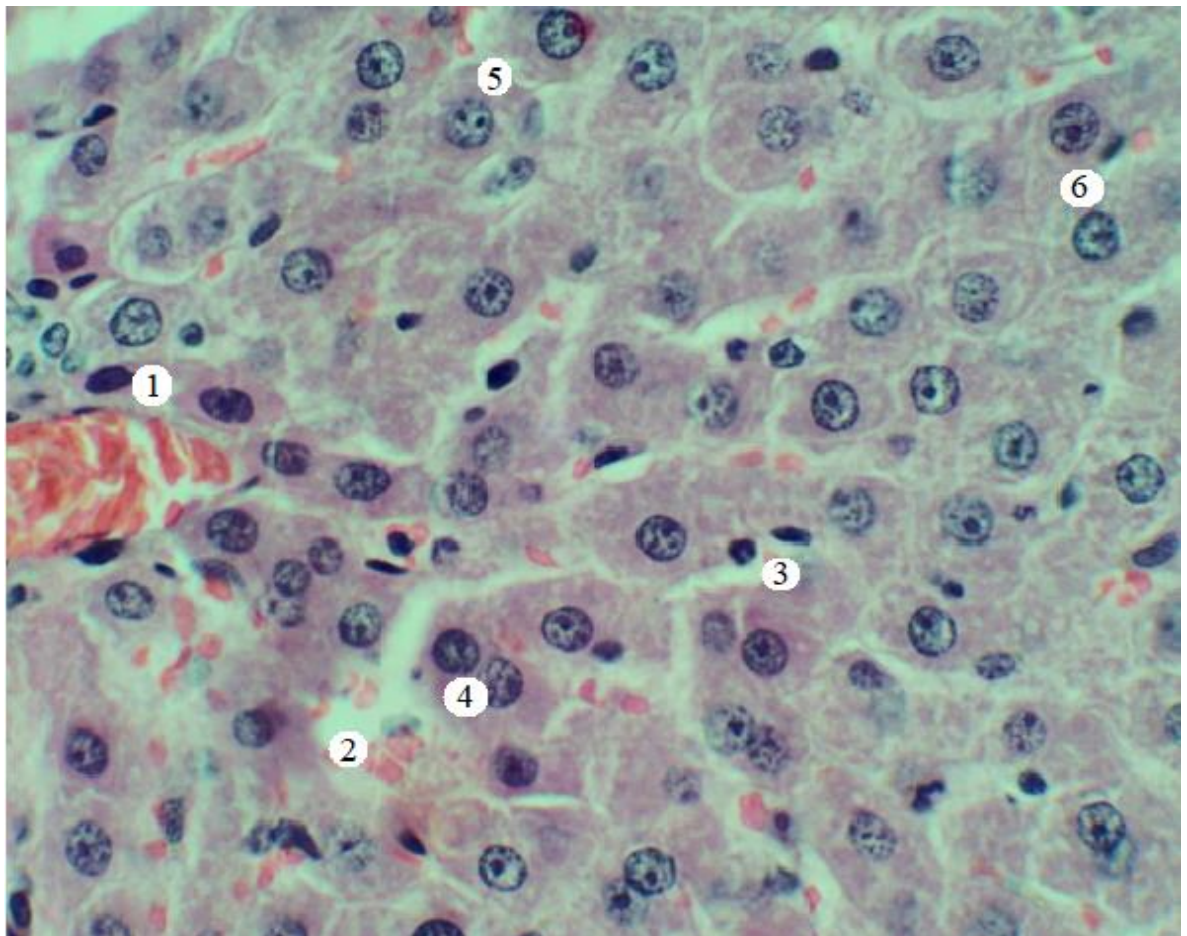


Рис. 4.3. Структурна організація печінки на 3-му місяці спостереження за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину. 1 - центральна вена; 2 - синусоїдний капіляр; 3 - клітина Купфера; 4 - двоядерний гепатоцит; 5- двоядерцевий гепатоцит; 6- однадерцеві гепатоцити з каріопікнозом. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20:

З боку паренхіми ситуація була неоднозначною, оскільки більшість гепатоцитів мали різні структурні характеристики, так більшість гепатоцитів, які знаходились ближче до центральної вени, мали ацидофільну цитоплазму, а клітини які знаходились на периферії - більш базофільне забарвлення. Рис.4.3.

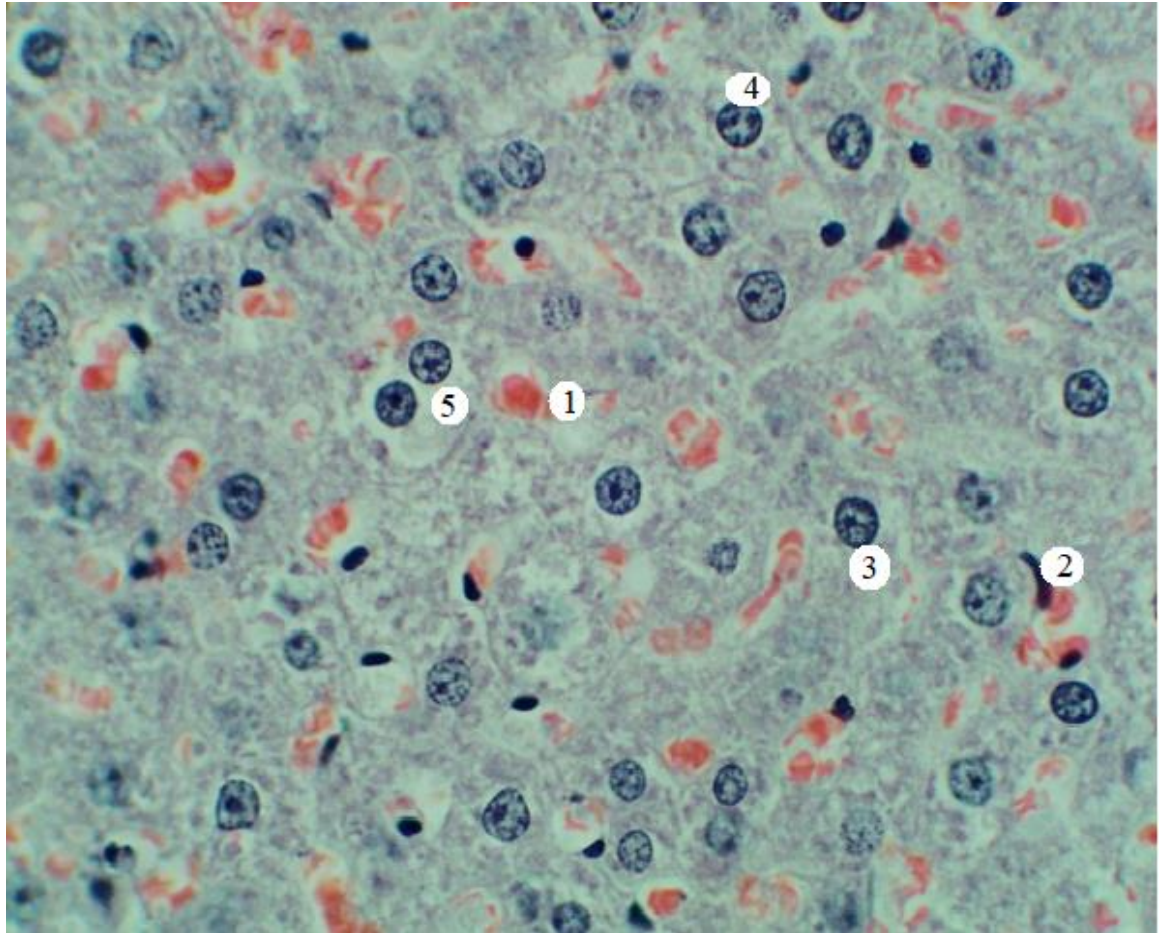


Рис. 4.4. Морфологія гепатоцитів периферійної частини печінкової дольки щурів на 3-му місяці спостереження за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину. 1 - синусоїдний капіляр; 2 - клітина Купфера; 3- одноядерцеві гепатоцити; 4 - двоядерцеві гепатоцити; 5 - двоядерні гепатоцити. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 10, Об.: 20:

Площа цитоплазми одноядерних гепатоцитів становила - $451,22 \pm 18,72$ μm^2 та об'єм її становив - $10070,23 \pm 545,01 \mu\text{m}^3$ при $p < 0,05$ до показників контролю.

Деякі одноядерні клітини мали ядра з явищами каріопікнозу рис.4.4., з різною щільністю самого ядра. Середнє значення площі ядер гепатоцитів становило $59,29 \pm 1,34$ мкм², в той час як у контрольній групі цей показник становив $64,43 \pm 1,33$ мкм² (табл. 4.4.).

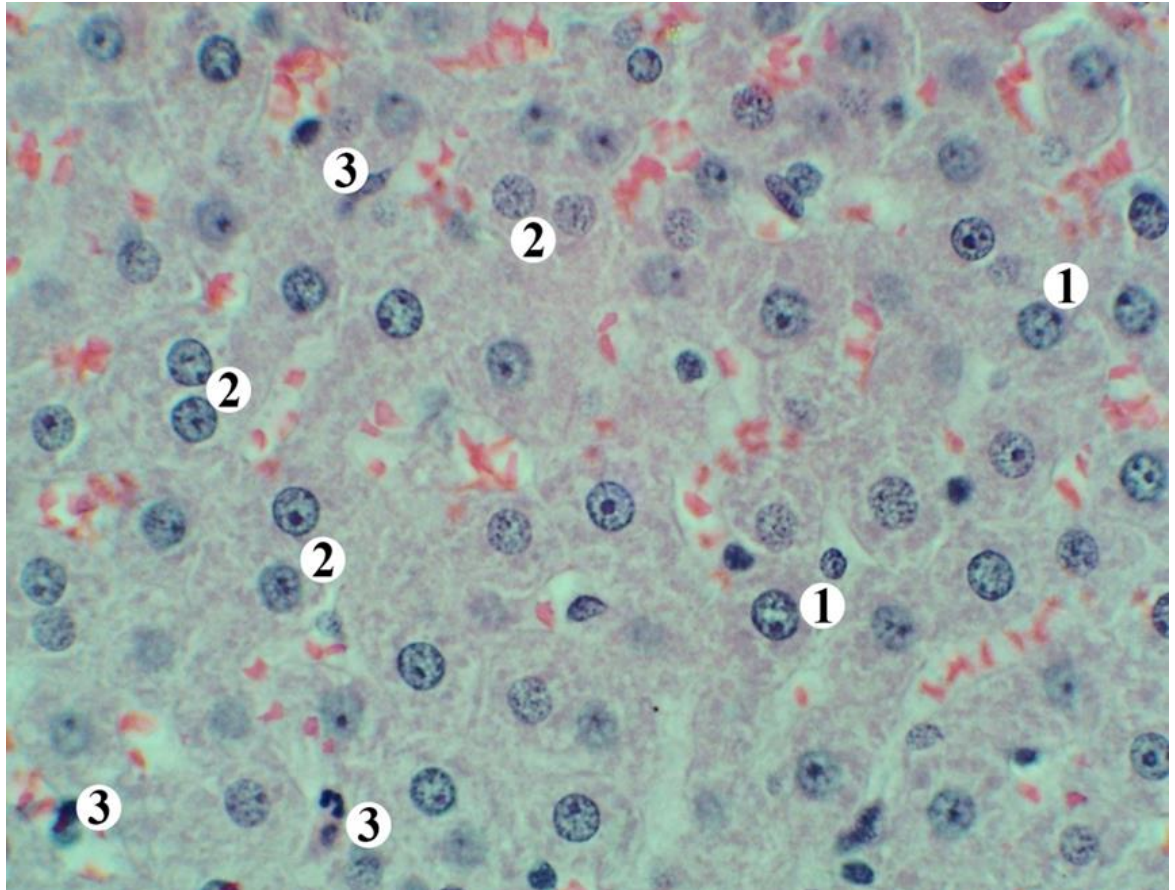


Рис. 4.5. Структурна організація печінки на 6-й місяць спостереження за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину. 1- двоядерцевий гепатоцит; 2 - двоядерний гепатоцит; 3 - клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20:.

Кількість двоядерцевих і двоядерних гепатоцитів збільшилась в порівнянні з контрольною групою тварин, що на 11,48% та 54,76% відповідно (табл.4.2.).

Внаслідок моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину на 6-й місяць спостереження морфологічно на гістологічних перерізах руйнування як строми, так і паренхіми нами не встановлено рис.4.5.

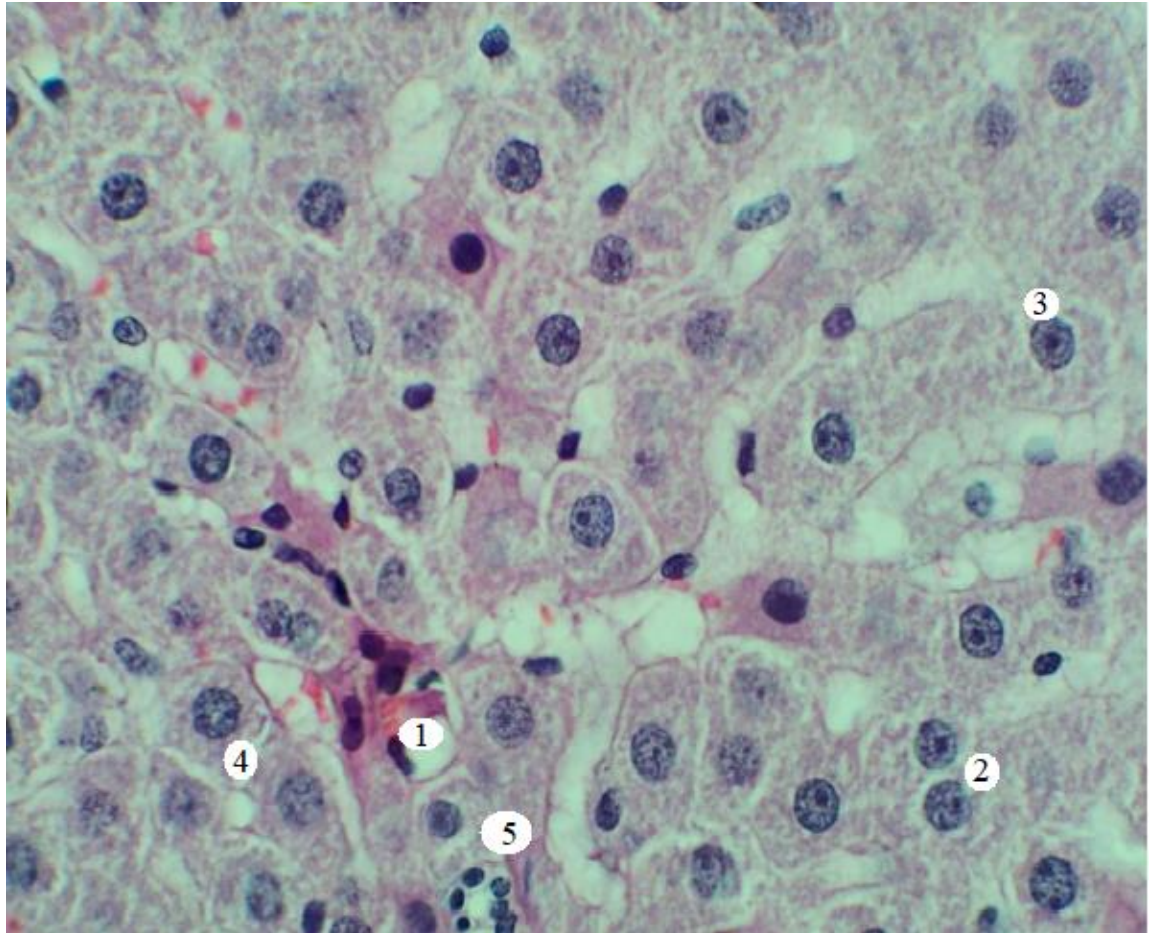


Рис. 4.6. Морфологія гепатоцитів щурів на 6-й місяць спостереження за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину. 1 - синусоїдний капіляр; 2 - двоядерний гепатоцит; 3 - одноподібний гепатоцит, 4 - двоядерний гепатоцит, 5 - клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Збарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20:

Структура балок збережена, збільшена, потовщена. Жовчні протоки незначно розширені, але ми не виявили статистично значущих відмінностей, порівняно з контрольною групою.

Жовчні протоки збережені, епітелій без змін, в просвіті жовч відсутня.

Зі сторони ГМЦР прослідковується тенденція до збільшення аретрій на 104,75% ($89,6264 \pm 7,8236$ мкм) та вен на 49,63% ($89,895 \pm 8,785$), в порівнянні від групи контролю.

Центральні вени дещо розширені, переповнені кров'ю.

Синусоїдні капіляри розширені і становили - $19,3118 \pm 2,5482$ мкм, що на 41,60% більше від показників контрольної групи (табл.4.1.).

З боку паренхіми ми спостерігали, що більшість гепатоцитів мали різні структурні характеристики. Деякі одноядерцеві клітини мали ядро з ознаками каріопікнозу, з різною щільністю самого ядра. Середнє значення площі цих ядер зменшилось до $58,29 \pm 1,31$ мкм², що статистично відрізняється від контрольної групи і попереднього терміну (3-й місяць) експерименту.

Більшість цитоплазми гепатоцитів мала гранулярність, за рахунок чого площа та об'єм були збільшеними: $483,22 \pm 18,25$ мкм² та $11101,45 \pm 498,98$ мкм³, відповідно при $p < 0,05$ до показників контролю.

Кількість двоядерцевих та двоядерних гепатоцитів була збільшеною і становила $4,08 \pm 0,289$ та $3,9 \pm 0,85$ в полі зору, що на 140,00 % та 1200,00% відповідно в порівнянні з контрольною групою тварин.

На 9-й місяць експерименту було відзначено ущільнення і збільшення діаметра структур в стромі печінки. Структура балок печінки збільшена, потовщена.

Центральні вени розширені, переповнені кров'ю в порівнянні з контрольною групою тварин. Синусоїдні капіляри розширені і переповнені кров'ю.

Жовчні протоки збережені, змін не виявлено.

Артерії збільшені в розмірах, середнє значення яких становило – $76,9354 \pm 6,5346$ мкм, що на 124,84% більше, ніж в групі контролю та на 9,81% менше, ніж з попереднім терміном спостереження (табл. 4.1.).

Вени розширені, заповнені кров'ю – розмір - $78,1386 \pm 8,5014$ мкм, що в 57,50%, ніж показники групи контролю (табл .3.1.).

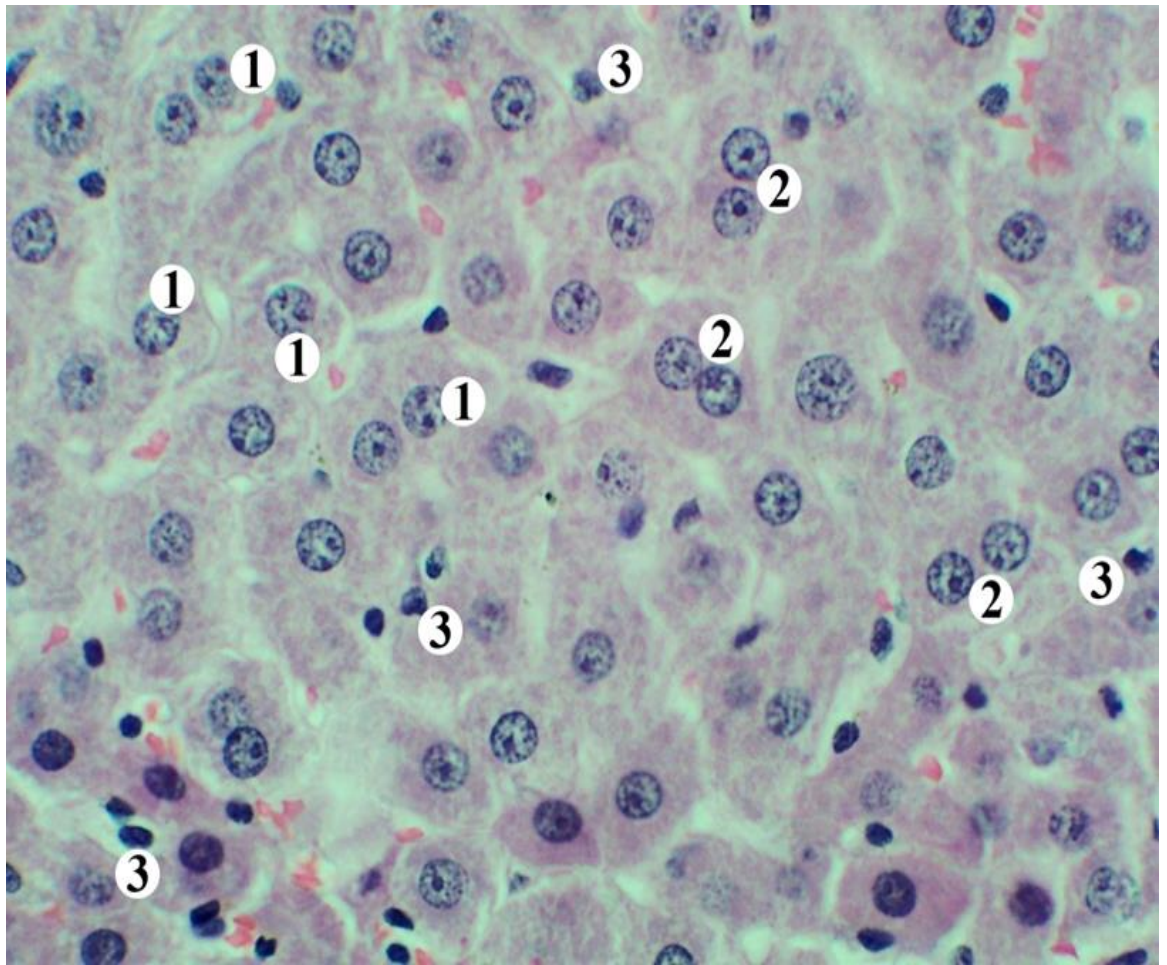


Рис. 4.7. Структурна організація печінки на 9-й місяць спостереження за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину. 1 - двоядерцевий гепатоцит; 2 - двоядерний гепатоцит; 3 - клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20.

Синусоїдні капіляри розширені, подекуди потовщені, в просвіті яких збільшена кількість макрофагів, ендотелій сплющений за рахунок підвищеного кровонаповнення в просвіті, середній розмір склав - $14,248 \pm 1,7121 \mu\text{м}$, що на 27,02% більше від контрольних значень та статистично достовірно не відрізняються від значень попереднього терміна експерименту (6-го місяця).

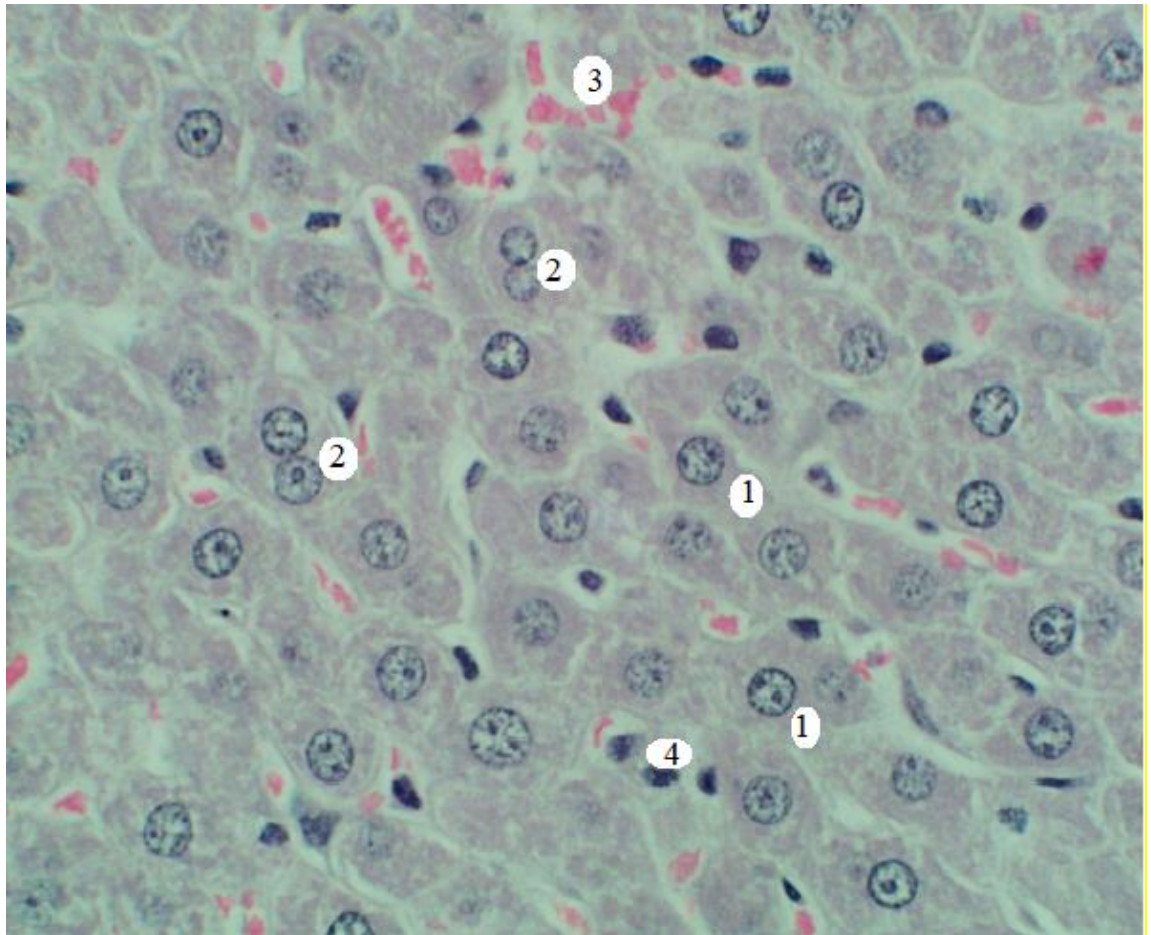


Рис. 4.8. Морфологія гепатоцитів щурів на 9-й місяць спостереження за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину. 1 - двоядерцевий гепатоцит; 2 - двоядерний гепатоцит; 3 - синусоїдний капіляр; 4 - клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20:

Руйнувань гепатоцитів візуально нами не було виявлено. Кількість гепатоцитів збільшилась в полі зору за рахунок зменшення об'єму одноядерних клітин. Середній показник площі ядер становив - $57,91 \pm 2,55$ μm^2 , що більше при $p < 0,05$ до показників контролю. Об'єм ядер одноядерцевих клітин склав - $2802,39 \pm 27,33$ μm^3 $p < 0,01$ до показників контролю, та зменшився з попередніми термінами (1-6 місяців) спостереження табл.4.3. Цитоплазма збільшена за рахунок вакуолізації.

Кількість двоядерцевих клітин склала - $4,88 \pm 0,064$ в полі зору, а двоядерних $5,3 \pm 0,156$, що в 1,8 та 16 разів більше, ніж в показниках групи контролю.

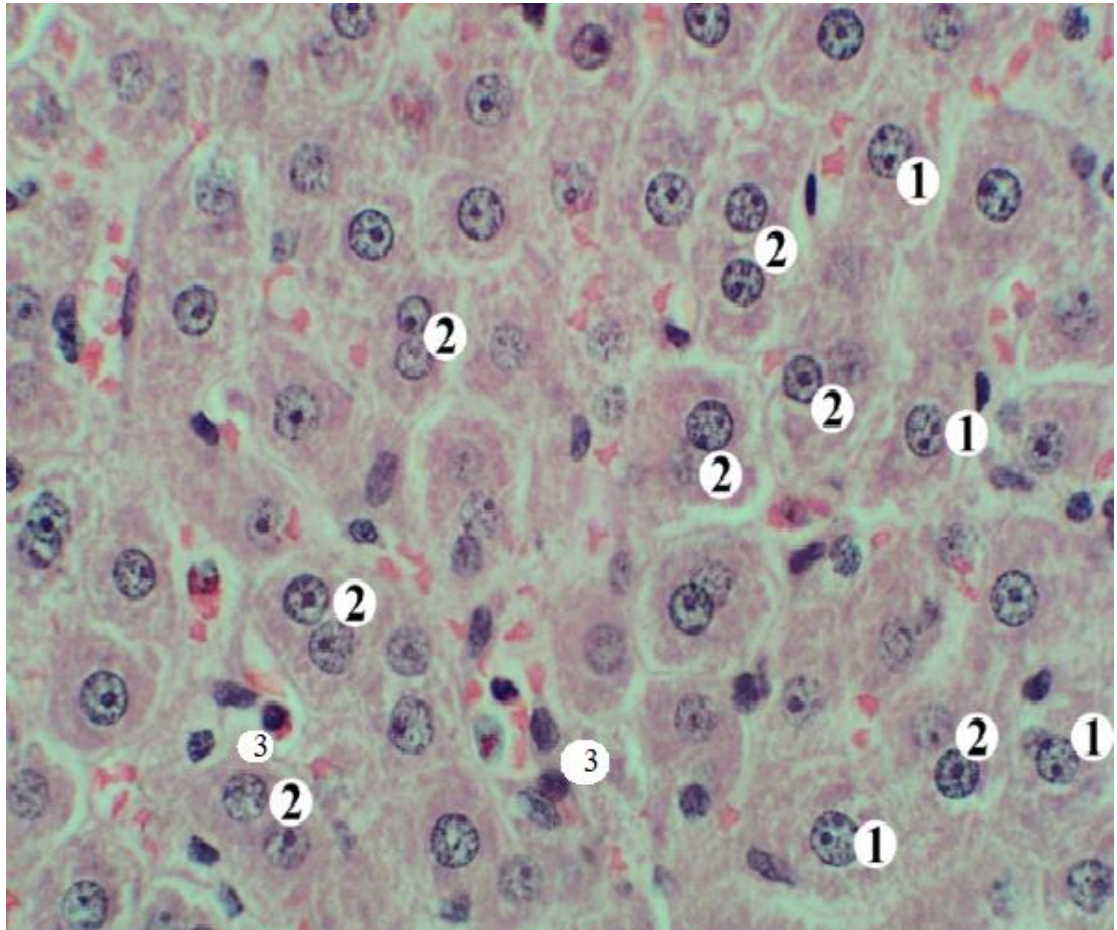


Рис. 4.9. Структурна організація печінки на 12-й місяць спостереження за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину. 1- двоядерцевий гепатоцит; 2- двоядерний гепатоцит; 3- клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20:

При гістологічному дослідженні препаратів на 12-й місяць спостереження при моделюванні блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину структурна організація печінки збережена. Сполучна тканина балок збільшена, потовщена, набрякла. Жовчні протоки були розширені, стінки ущільнені.

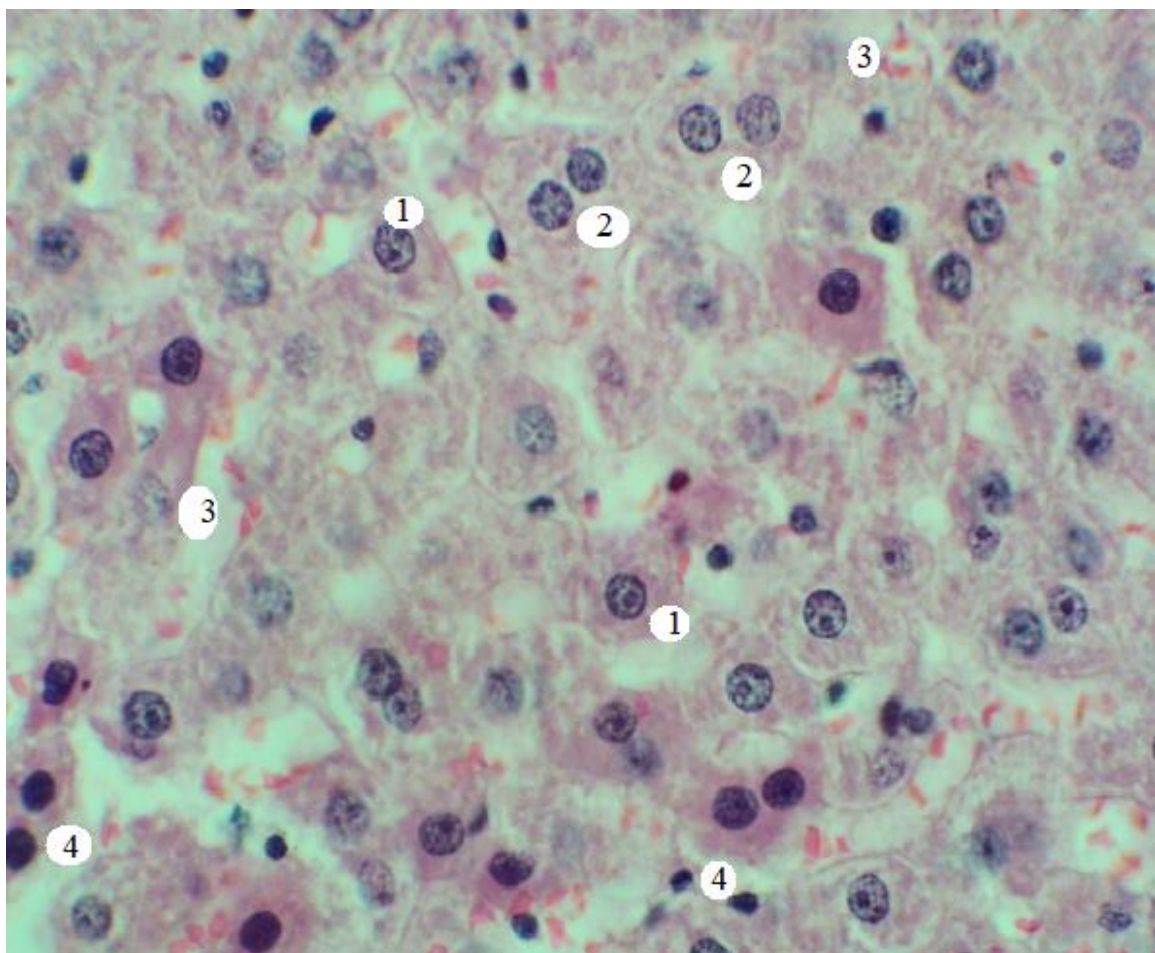


Рис. 4.10. Морфологія гепатоцитів щурів на 12-й місяць спостереження за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину. 1 - одноп'ядерний гепатоцит; 2 - двоп'ядерний гепатоцит; 3 - синусоїдний капіляр; 4 - клітина Купфера. Напівтонкий зріз. Забарвлення: гематоксилін еозин. Збільшення: Ок.: 15, Об.: 20:

З боку судин спостерігався застій. Центральні вени - розширені, переповнені кров'ю, в просвіті виявлено еритроцити та велику кількість лейкоцитів порівняно з контрольною групою тварин.

Венозний стаз зберігається в порівнянні з попереднім терміном (9-й місяць). Діаметр збільшений на 20,82% від показників контроль при $p < 0,05$, але зменшений на -23,29% з 9-тим місяцем спостереження при $p < 0,05$.

Артерії – збільшені в діаметрі – на 22,60% від показників контрольної групи при $p < 0,05$, і зменшений на 45,47% з 9-тим місяцем спостереження при $p < 0,05$.

Синусоїдні капіляри в більшості своїй були розширені та переповнені кров'ю. Збільшення їх діаметра зберігалось від тріади до центральної вени за рахунок збільшення внутрішнього діаметра (рис.4.10.).

При морфологічному дослідженні ядер гепатоцитів на 12-й місяць спостереження виявляється збільшення загальної кількості змінених клітин за рахунок двоядерцевих та двоядерних – на 211,76% та в 21 рази більше (табл.4.2.). відповідно при $p < 0,05$.

Середній обсяг ядер становив $2856,91 \pm 22,18$ мкм³, що в 1,19 рази менше ($p < 0,001$), ніж у контрольній групі. Обсяг цитоплазми гепатоцитів становив $12564,22 \pm 435,55$ мкм³, що в 1,5 рази більше ($p < 0,001$), порівняно з контрольною групою. Їх цитоплазма була еозинофільною з ділянками вакуолізації (рис. 4.10.).

Висновки до розділу 4.

1. Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину призводить до значних морфологічних і метричних змін у печінці щурів. Виявлено поступове збільшення діаметру артеріол, венул та синусоїдних капілярів, що свідчить про порушення кровообігу та зміни у структурі мікроциркуляторного русла.
2. Спостерігалось збільшення кількості двоядерних і двоядерцевих гепатоцитів, що може вказувати на активізацію регенераційних процесів у печінці. Виявлено зміни у розмірах ядер та цитоплазми гепатоцитів, що може свідчити про адаптаційні механізми клітин у відповідь на оксидативний стрес.
3. Упродовж експерименту спостерігалася тенденція до збільшення загального об'єму цитоплазми гепатоцитів, що може бути пов'язано з компенсаторними процесами та збільшенням функціонального

навантаження. Зміни у структурі печінкових часточок, кровоносних судин та жовчних проток свідчать про довготривалі наслідки експериментальної блокади лютеїнізуючого гормону. Зміни в судинах печінки, зокрема розширення вен і синусоїдних капілярів, можуть свідчити про порушення венозного відтоку та кровонаповнення.

4. Підвищена кількість клітин Купфера та клітин з макрофагальною активністю вказує на активацію імунної відповіді та можливе хронічне запалення в печінковій тканині. Довготривала дія триптореліну та кверцетину спричиняє гіперплазію сполучної тканини, що може вказувати на початкові стадії фіброзу печінки. Отримані результати можуть бути основою для подальших досліджень механізмів впливу триптореліну та кверцетину на морфофункціональний стан печінки та інших органів, а також оцінки їх можливих клінічних наслідків.

Матеріалами даного розділу опубліковані у таких працях:

1. O.A. Polyviana, Ye.V. Stetsuk, V.I. Shepitko, N.V. Boruta, O.V. Vilkhova, L.B. Pelypenko, O.D. Lysachenko Effect of long-term central blocking of hormone release with Triptorelin on oxidative stress marker activity in the liver of rats (2025) Світ медицини та біології. 2025. No 1 (91) – С. 177 - 180 (**Web of Scienic**).

- 2 . Polyviana O. A., Stetsuk Ye. V., Shepitko V. I., Boruta N. V., Vilkhova O. V., Pelypenko L. B., Lysachenko O. D. (2025). Dynamics of the nuclear index and mitotic number in hepatocytes under central blockade of luteinizing hormone synthesis with quercetin supplementation. Bulletin of problems biology and medicine, 176 (1), 452-460

3. Полив'яна О.А. Зміни гепатоцитів за умов центральної блокади синтезу лютеїнізуючого гормону та додаванням кверцетину / Полив'яна О.А., Стецук Є.В., Лисаченко О.Д., Левченко О.А.// Матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини», м. Полтава 30-31 жовтня 2024 р. – Полтава, 2024.

РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ БЛОКАДИ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ТРИПТОРЕЛІНОМ З ДОДАВАННЯМ КВЕРЦЕТИНУ НА ЗМІНИ В АКТИВНОСТІ КАСПАЗИ-3 В ТАНИНІ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

Касапаза-3 (caspase-3) є однією з ключових касапаз, які виконують центральну роль у процесі апоптозу — програмованої клітинної смерті. У клітинах печінки касапаза-3 активується у відповідь на різні стресові фактори, такі як токсичні речовини, вірусні інфекції або ішемія.

Після активації касапаза-3 розщеплює специфічні субстрати, що призводить до дезінтеграції клітинних компонентів і, зрештою, до загибелі клітини. Цей процес є важливим для підтримки гомеостазу та видалення пошкоджених або інфікованих клітин. У печінці, яка є органом з високою регенераційною здатністю, контроль над активністю касапази-3 є критичним для запобігання надмірній або неконтрольованій клітинній загибелі. Порушення регуляції цього ферменту може призвести до різних патологічних станів, включаючи печінкову недостатність або розвиток фіброзу.

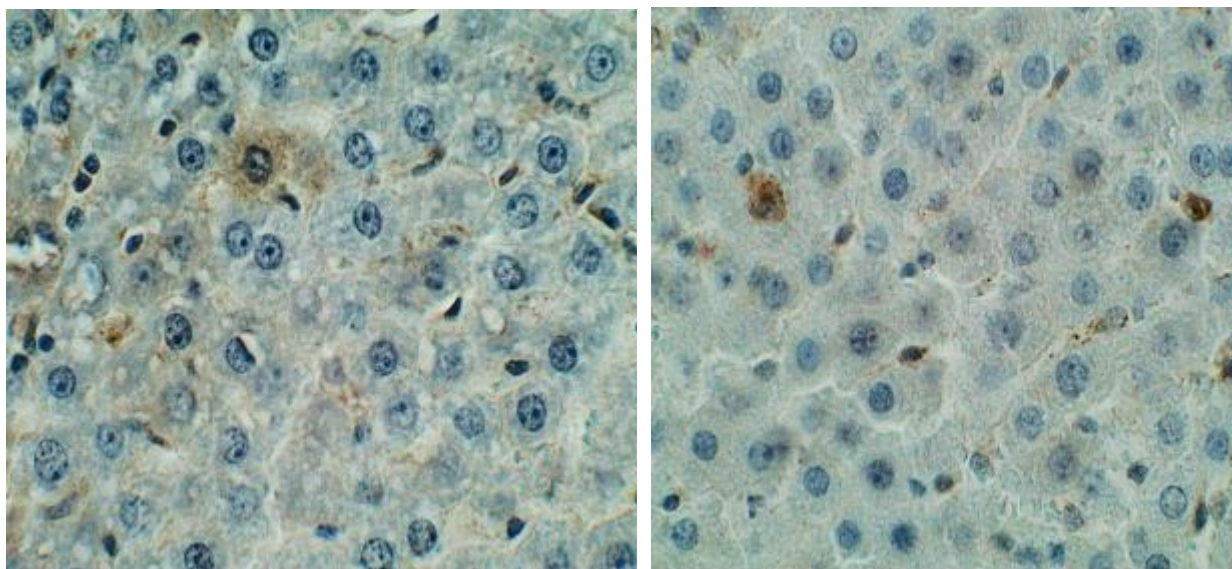
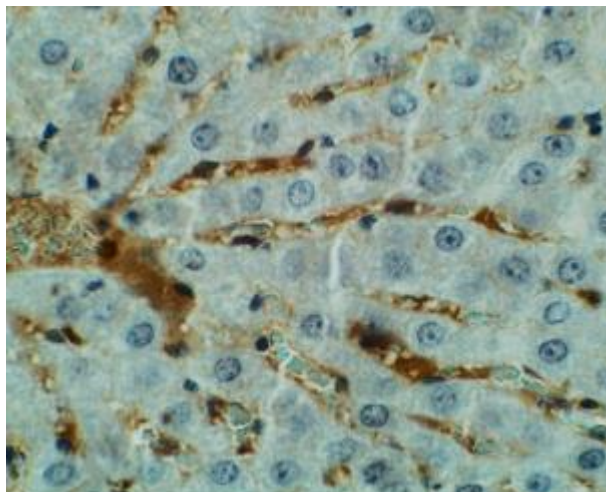
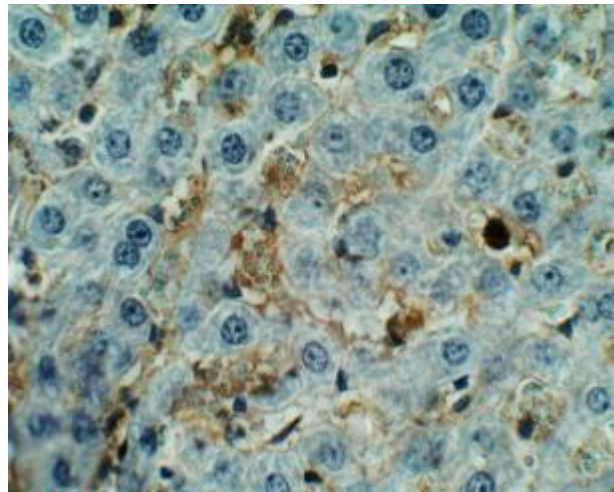


Рис. 5.1. Розповсюдженість каспази-3 в в тканині печінки контрольної групи тварин. Коричневим кольором відмічений зимогенний фермент в ядрі та цитоплазмі клітин. Збільшення x400

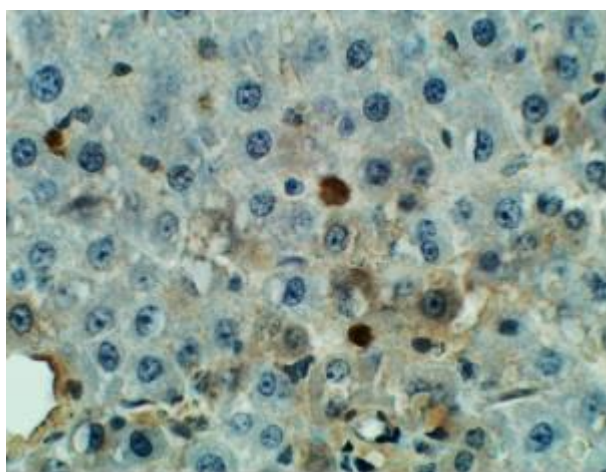
При дослідженні нами напівтонких зрізів тканин печінки контрольної групи тварин встановлено, що розповсюдженість каспази-3 практично виявлена нами у всіх клітинних елементах печінки (рис.5.1.).Так при дослідженні нами мікропрепаратів 1-го місяця спостереження в групі з



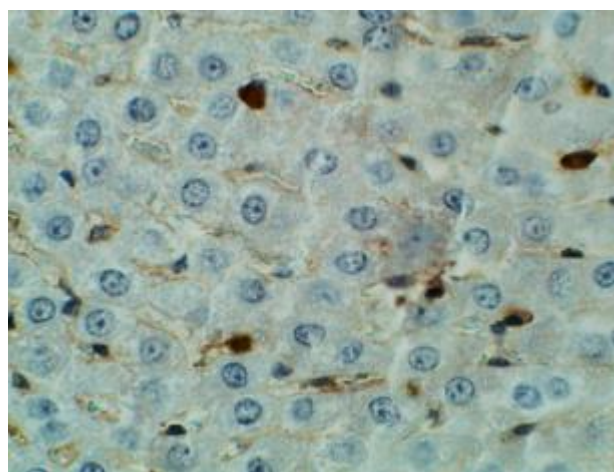
В – центральна частина часточки



Г – периферична частина часточки



Д - центральна частина часточки



Є – периферична частина часточки

Рис. 5.2. Розповсюдженість каспази-3 в тканині печінки – 1 місяць експерименту. В та Г – група за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Д та Є - за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном контрольної групи тварин. Коричневим кольором відмічений зимогенний фермент в ядрі та цитоплазмі клітин. Збільшення x400.

моделюванням блокади синтезу лютетінізуючого гормону триптореліном встановлено, що розповсюдженість каспази-3 прослідковується більшість в ендотеліальних клітинах центальної вени та суносуїдних капілярах (рис.5.2.В та Г).

Експресія каспази-3 гепатоцитів становила відповідно $2,1 \pm 0,8$ в полі зору при $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою, а в групі з додаванням в раціон харчування щурів показник статистично не змінений за показником контрольної групи (табл.5.3.).

Більші прояви апаптотичних змін клітин виявлялись в центральній частині печінкової дольки в обох експериментальних групах тварин рис.5.2.

Таблиця 5.3

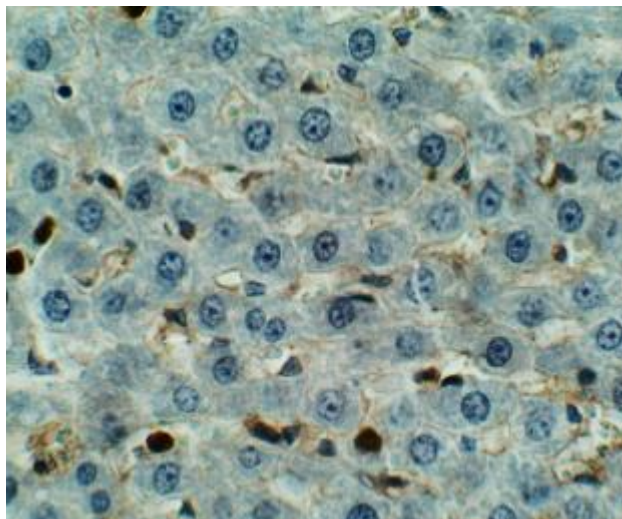
Порівняння активності каспази-3 в гепатоцитах щурів при введенні триптореліну та триптореліну і кверцетину

Терміни	Трипторелін (Т)	Трипторелін + кверцетин (Т+К)
контроль	$0,96 \pm 0,24$	$0,96 \pm 0,24$
1 місяць	$2,1 \pm 0,8^{**}$	$0,92 \pm 0,18$
3 місяць	$5,84 \pm 0,36^{**}$	$4,26 \pm 0,26^{**}$
6 місяць	$6,02 \pm 0,18^{**}$	$2,94 \pm 0,16^{**}$
9 місяць	$1,96 \pm 0,24^{*}$	$1,52 \pm 0,08^{*}$
12 місяць	$1,94 \pm 0,36^{*}$	$1,44 \pm 0,04^{*}$

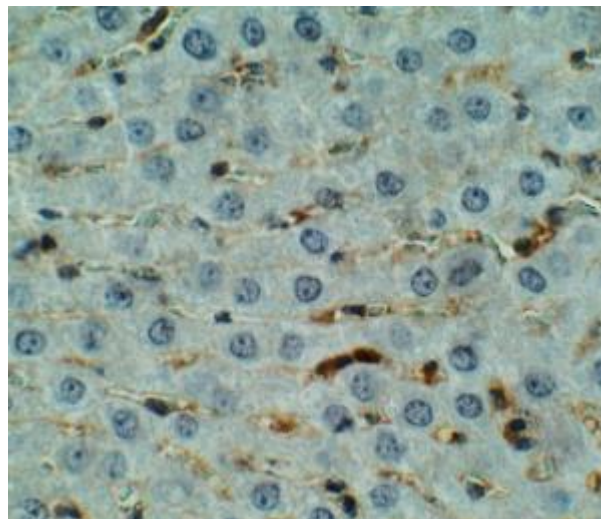
Примітка: $p < 0,05$; та $**$ – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою

3-й місяць спостереження характеризувався збільшення показника в обох експериментальних групах в 6,08 та 4,43 відповідно до показника контрольної групи тварин, що свідчить про подальшу активацію апаптозу після тривалого введення триптореліну.

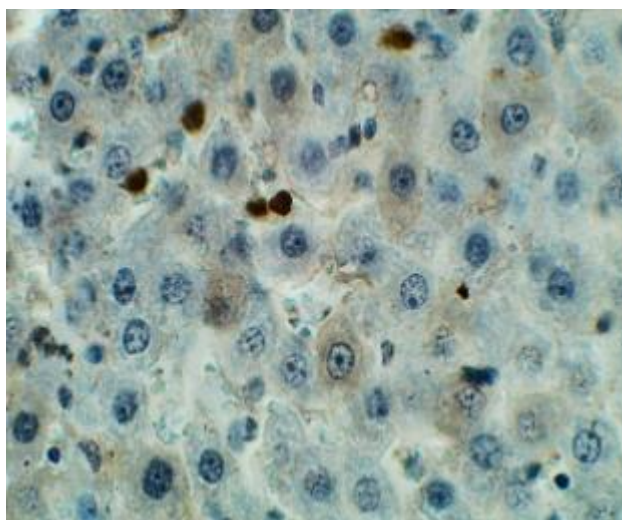
В групі з додаванням кверцетну цей показник був максимальним протягом всієї експериментальної моделі. При дослідженні нами власне центральної та периферичної частини печінкової часточки на 3-й місяць спостереження показник каспази-3 вказує на рівномірність розповсюдження його від центральної вени до сполучнотканинних тяжів (рис. 5.3.).



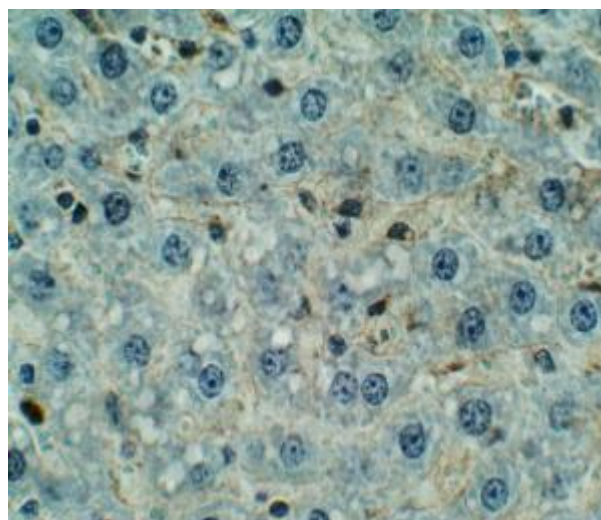
Ж - центральна частина часточки



З – периферична частина часточки



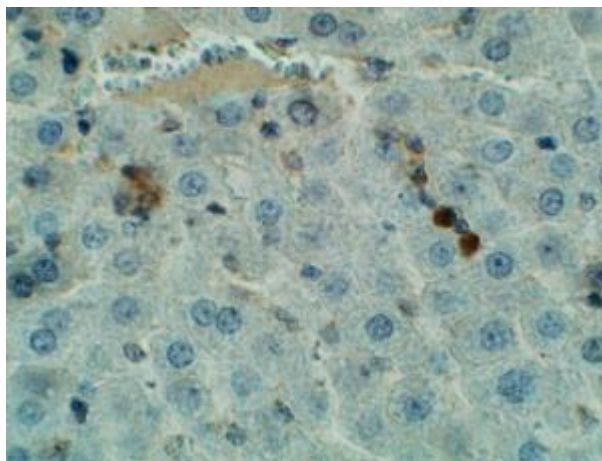
І - центральна частина часточки



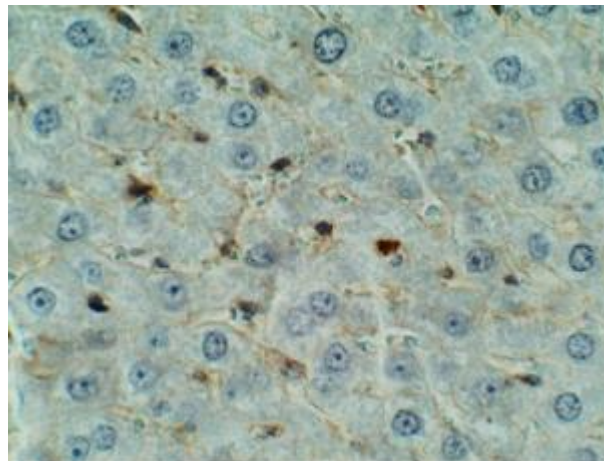
ІІ – периферична частина часточки

Рис. 5.3. Розповсюдженість каспази-3 в тканині печінки – 3 місяць експерименту. Ж та З – група за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. І та ІІ - за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном контрольної групи тварин. Коричневим кольором відмічений зимогенний фермент в ядрі та цитоплазмі клітин. Збільшення x400.

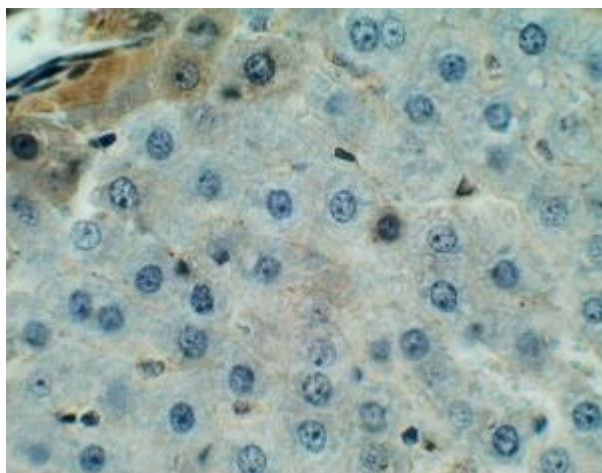
Аналіз 6-го місяця спостереження показав, що каспаза-3, як зимогенний фермент при введенні триптореліну має максимальне значення показника експериментальної моделі і склав $6,02 \pm 0,18$ в полі зору при $p < 0,01$, що на 527% більше до показника контрольної групи.



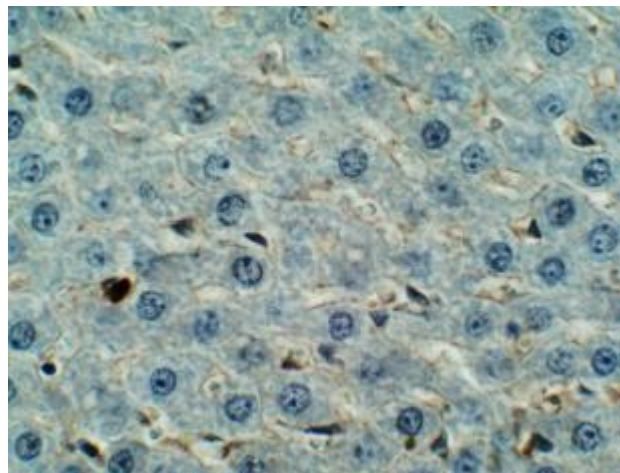
К - центральна частина часточки



Л – периферична частина часточки



М - центральна частина часточки

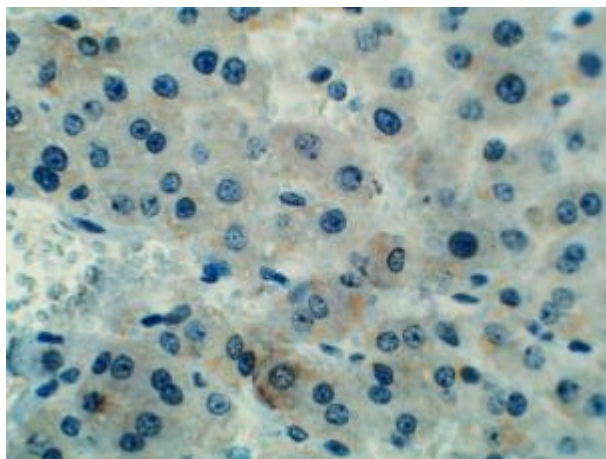


Н – периферична частина часточки

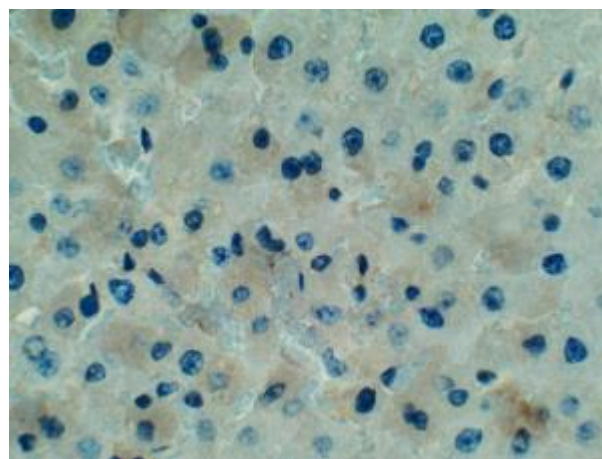
Рис. 5.4. Розповсюдженість каспази-3 в тканині печінки – 6 місяць експерименту. К та Л – група за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. М та Н - за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном контрольної групи тварин. Коричневим кольором відмічений зимогенний фермент в ядрі та цитоплазмі клітин. Збільшення $\times 400$.

Показник в групі з додаванням кверцитину зменшився, відповідно до попереднього терміна обстеження (3-го місяця), але більшим ніж в 2 рази чим

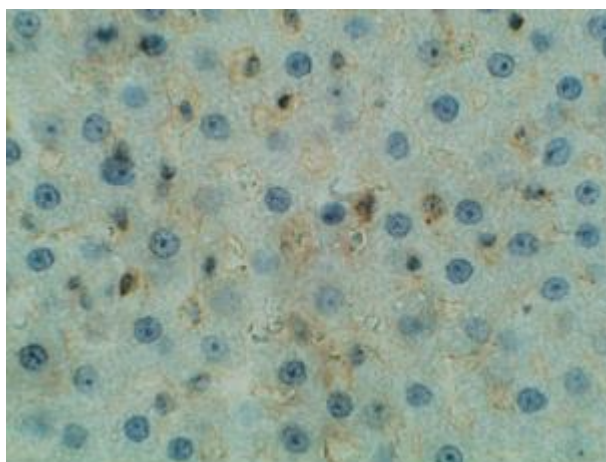
в групі контролю і склав - $2,94 \pm 0,16$ апаптозних гепатоцитів в полі зору табл.5.3. При дослідженні нами власне центральної та периферичної частини печінкової часточки не мав статистичної значущість між експериментальними моделями рис.5.4.



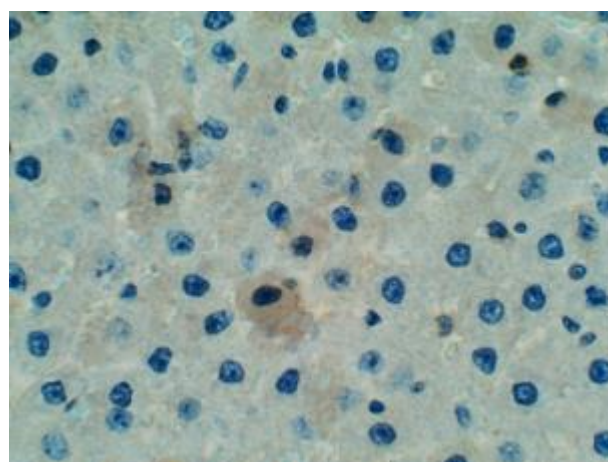
О - центральна частина часточки



П – периферична частина часточки



Р - центральна частина часточки

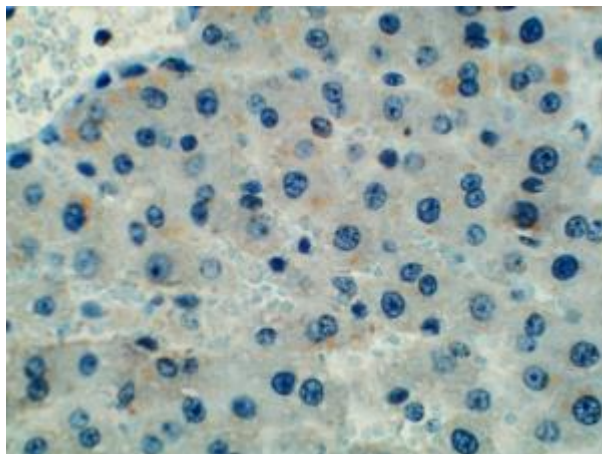


С – периферична частина часточки

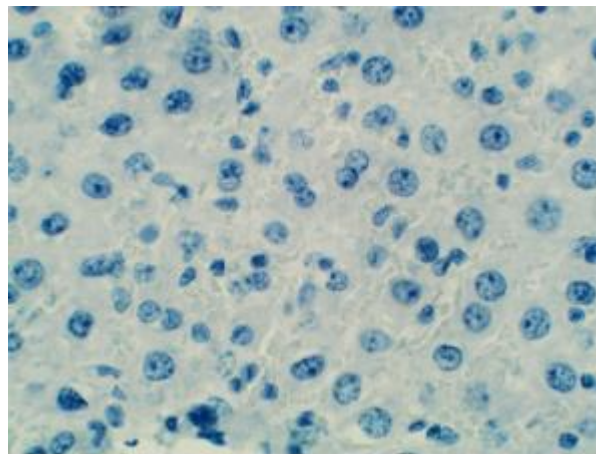
Рис. 5.5. Розповсюдженість каспази-3 в тканині печінки – 9 місяць експерименту. О та П – група за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Р та С - за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном контрольної групи тварин. Коричневим кольором відмічений зимогенний фермент в ядрі та цитоплазмі клітин. Збільшення x300.

9-й місяць спостереження характеризувався зменшенням показника розповсюдженості каспази-3 ($1,96 \pm 0,24$ та $1,52 \pm 0,08$ в полі зору при $p < 0,05$), що на 104% та 58% більше, ніж показник контрольної групи.

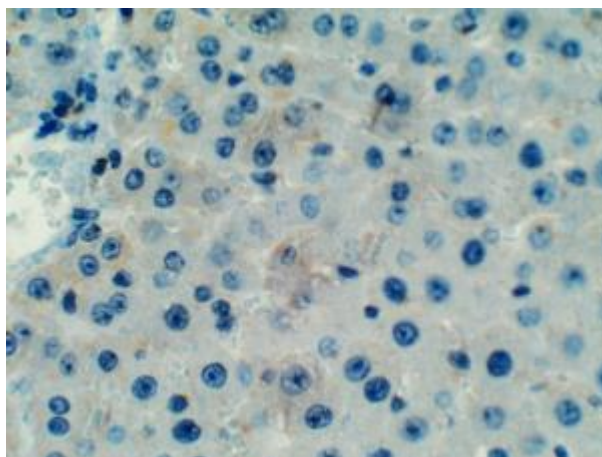
Центральна та периферична частини печінкової часточки не мали змін статистичної значущості між експериментальними моделями рис.5.5.



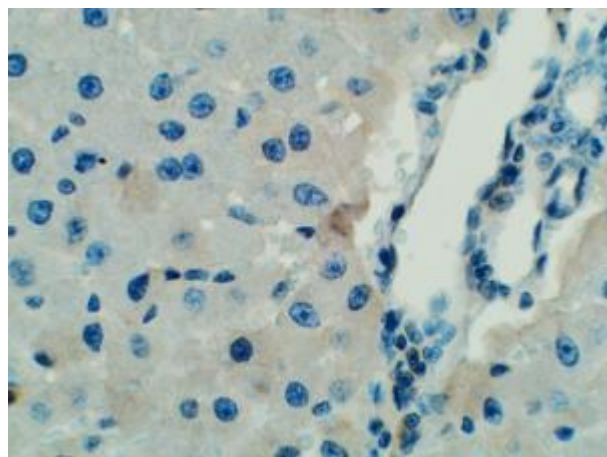
Т - центральна частина часточки



У – периферична частина часточки



Ф - центральна частина часточки



Х – периферична частина часточки

Рис. 5.6. Розповсюдженість каспази-3 в тканині печінки – 12 місяць експерименту. Т та У – група за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Ф та Х - за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном контрольної групи тварин. Коричневим кольором відмічений зимогенний фермент в ядрі та цитоплазмі клітин. Збільшення $\times 300$.

Проведений нами морфометричний підрахунок гепатоцитів в стані апаптозу за ензимом каспази-3 показав, що показник був сталим в обох експериментальних групах до попереднього терміну експерименту (9-й місяць), але статистично не відновивсь до показника контрольної групи.

Вплив триптореліну на експресію каспази-3

При моделюванні блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном спостерігалось підвищення рівня каспази-3 в гепатоцитах, що свідчить про активацію апоптозу. Максимальне значення показника зафіксовано на 6-му місяці експерименту ($6,02 \pm 0,18$; $p < 0,01$).

Локалізація каспази-3 в тканині печінки

Експресія каспази-3 виявлялася переважно в ендотеліальних клітинах центральної вени та синусоїдних капілярах, а також у гепатоцитах, з більш вираженим накопиченням в центральній частині печінкової часточки.

Динаміка апоптозу протягом експерименту

На 1-му місяці рівень каспази-3 зріс у 2,1 рази порівняно з контролем ($p < 0,01$).

На 3-му місяці активність ферменту продовжувала зростати в обох експериментальних групах ($5,84 \pm 0,36$ у групі триптореліну, $4,26 \pm 0,26$ у групі триптореліну + кверцетину).

На 9-му та 12-му місяцях відзначалося зниження рівня каспази-3, однак показник залишався вищим, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$).

Вплив кверцетину на апоптоз гепатоцитів

Додавання кверцетину в раціон тварин сприяло зменшенню розповсюдженості каспази-3 у порівнянні з групою триптореліну без додаткового введення антиоксиданту. Найбільша відмінність спостерігалася на 6-му місяці ($2,94 \pm 0,16$ проти $6,02 \pm 0,18$ у групі триптореліну; $p < 0,01$).

Морфометричний аналіз гепатоцитів

Кількість гепатоцитів, що перебували в стані апоптозу, залишалася стабільною після 9-го місяця експерименту, проте не поверталася до показників контрольної групи, що може свідчити про довготривалі ефекти блокади ЛГ на печінкову тканину.

Загальний висновок

Наше дослідження підтвердило, що тривале введення триптореліну призводить до активації апоптозу в печінці, про що свідчить підвищена експресія каспази-3. Введення кверцетину знижувало апоптотичну активність, що вказує на його потенційний гепатопротекторний ефект у даній експериментальній моделі.

Матеріали розділу 5 опубліковані автором у таких працях:

1. O.A. Polyviana, Ye.V. Stetsuk, V.I. Shepitko, N.V. Boruta, O.V. Vilkhova, L.B. Pelypenko, O.D. Lysachenko Effect of long-term central blocking of hormone release with Triptorelin on oxidative stress marker activity in the liver of rats (2025) Світ медицини та біології. 2025. No 1 (91) – С. 177 – 180 (**Web of Science**)
2. Polyviana O. A., Stetsuk Ye. V., Shepitko V. I., Boruta N. V., Vilkhova O. V., Pelypenko L. B., Lysachenko O. D. (2025). Dynamics of the nuclear index and mitotic number in hepatocytes under central blockade of luteinizing hormone synthesis with quercetin supplementation. Bulletin of problems biology and medicine, 176 (1), 452-460.
3. Полив'яна О.А. Зміни гепатоцитів за умов центральної блокади синтезу лютеїнізуючого гормону та додаванням кверцетину / Полив'яна О.А., Стецук Є.В., Лисаченко О.Д., Левченко О.А.// Матеріали науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми вивчення медико-екологічних аспектів здоров'я людини», м. Полтава 30-31 жовтня 2024 р. – Полтава, 2024

РОЗДІЛ 6. БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ БЛОКАДИ СИНТЕЗУ ЛЮТЕЇНІЗУЮЧОГО ГОРМОНУ ТРИПТОРЕЛІНОМ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ КВЕРЦЕТИНОМ.

Розділ 6.1 Вплив тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на біохімічні показники про- та антиоксидантного балансу в печінці щурів.

Моделювання тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном призвела до зростання базової продукції супероксидного аніон-радикалу (САР) в печінці щурів на 1 місяць експерименту на 19,89% порівняно із контрольною групою (Рис. 6.1.1). На 3-й, 6-й, 9-й та 12 місяці експерименту базова продукція САР зростала на 46,02%, 104,55%, 53,41% та 30,68%, відповідно, порівняно із контрольною групою.

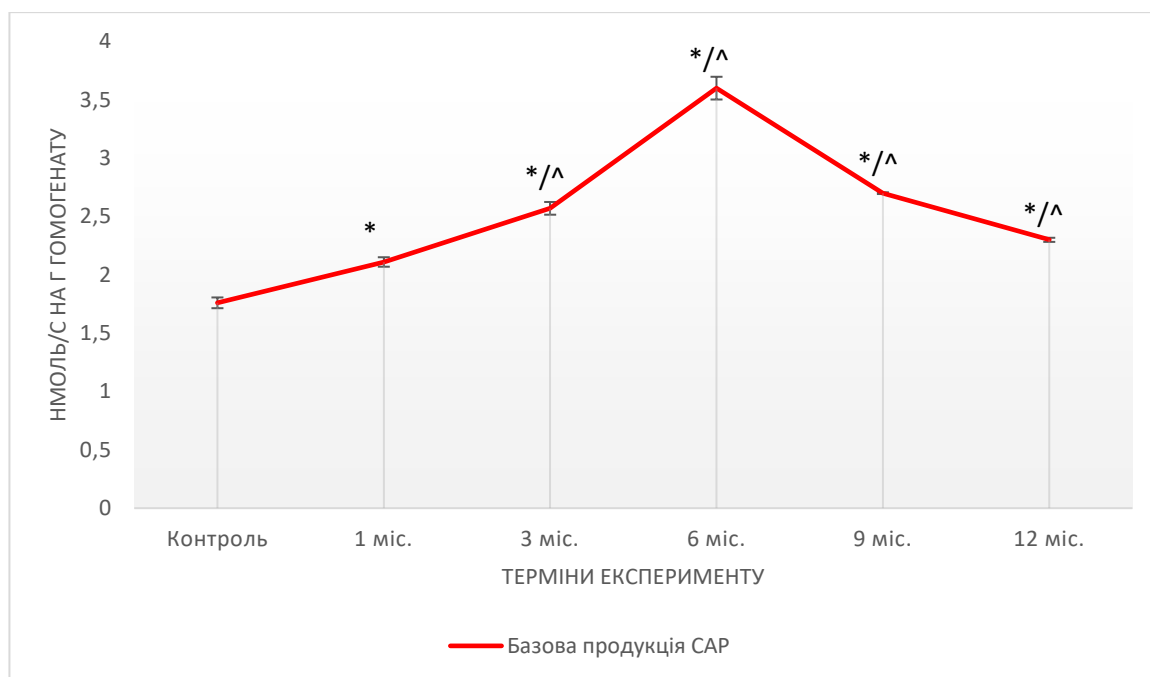


Рис. 6.1.1 Базова продукція САР в печінці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від контролю ($p < 0,05$); ^ - дані статистично значуще відрізняються від попереднього терміну експерименту ($p < 0,05$).

На 3 місяць експерименту базова продукція САР зростала на 21,33% порівняно із 1 місяцем. На 6 місяць базова продукція САР зростала на 40,08% порівняно із 3 місяцем. На 9 місяць експерименту базова продукція САР знижувалась на 25,0% порівняно із 6 місяцем. На 12 місяць експерименту базова продукція САР знижувалась на 14,81% порівняно із 9 місяцем.

Таким чином, можна відмітити тенденцію до поступового зростання базової продукції САР в печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з 1 по 6 місяць експерименту. Максимальне зростання базової продукції САР відмічалось на 6 місяці експерименту.

За умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном призвела до зростання продукція САР від мітосомального електронно-транспортного ланцюга (мкЕТЛ) в печінці щурів на 1 місяць експерименту на 163,56% порівняно із контрольною групою (Рис. 6.1.2).

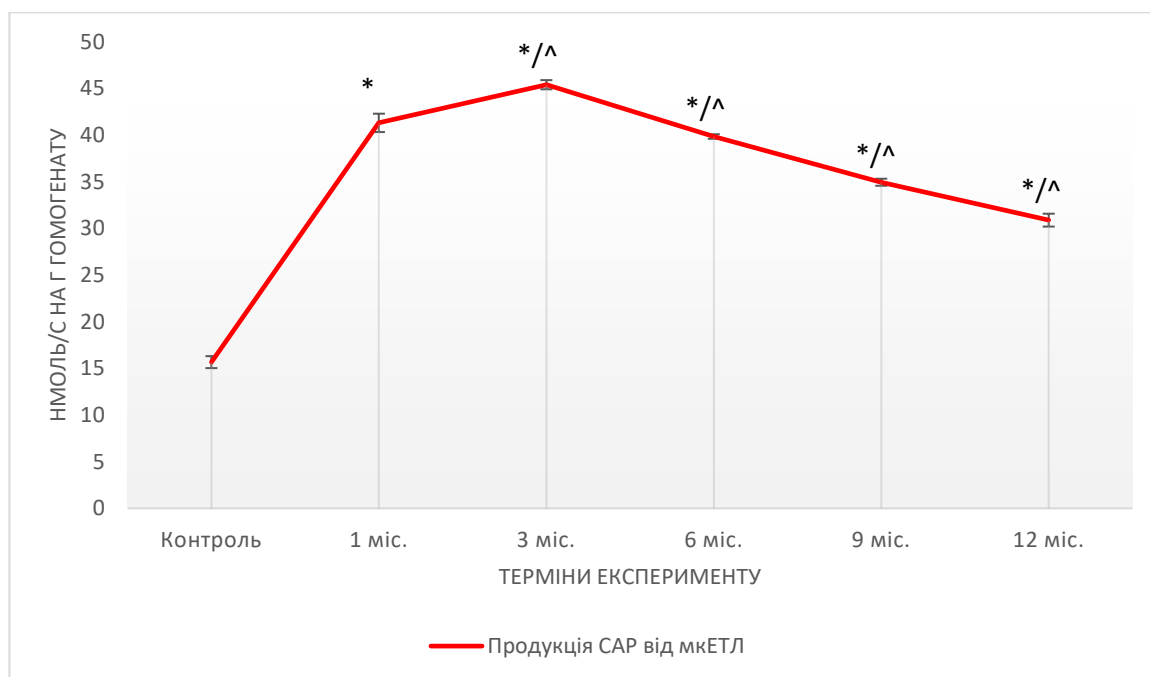


Рис. 6.1.2 Продукція САР в печінці щурів від мкЕТЛ за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від контролю ($p < 0,05$); ^ - дані статистично значуще відрізняються від попереднього терміну експерименту ($p < 0,05$).

На 3-й, 6-й, 9-й та 12 місяці експерименту базова продукція САР зростала на 189,66%, 154,24%, 122,97% та 97,06%, відповідно, порівняно із контрольною групою. На 3 місяць експерименту продукція САР від мкЕТЛ зростала на 9,90% порівняно із 1 місяцем. На 6 місяць продукція САР від мкЕТЛ зменшувалась на 12,23% порівняно із 3 місяцем. На 9 місяць експерименту продукція САР від мкЕТЛ знижувалась на 12,30% порівняно із 6 місяцем. На 12 місяць експерименту продукція САР від мкЕТЛ знижувалась на 11,62% порівняно із 9 місяцем.

Спостерігалась тенденція до поступового зростання базової САР від мкЕТЛ в печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з 1 по 3 місяць експерименту. Максимальне зростання базової продукції САР відмічалось на 3 місяці експерименту.

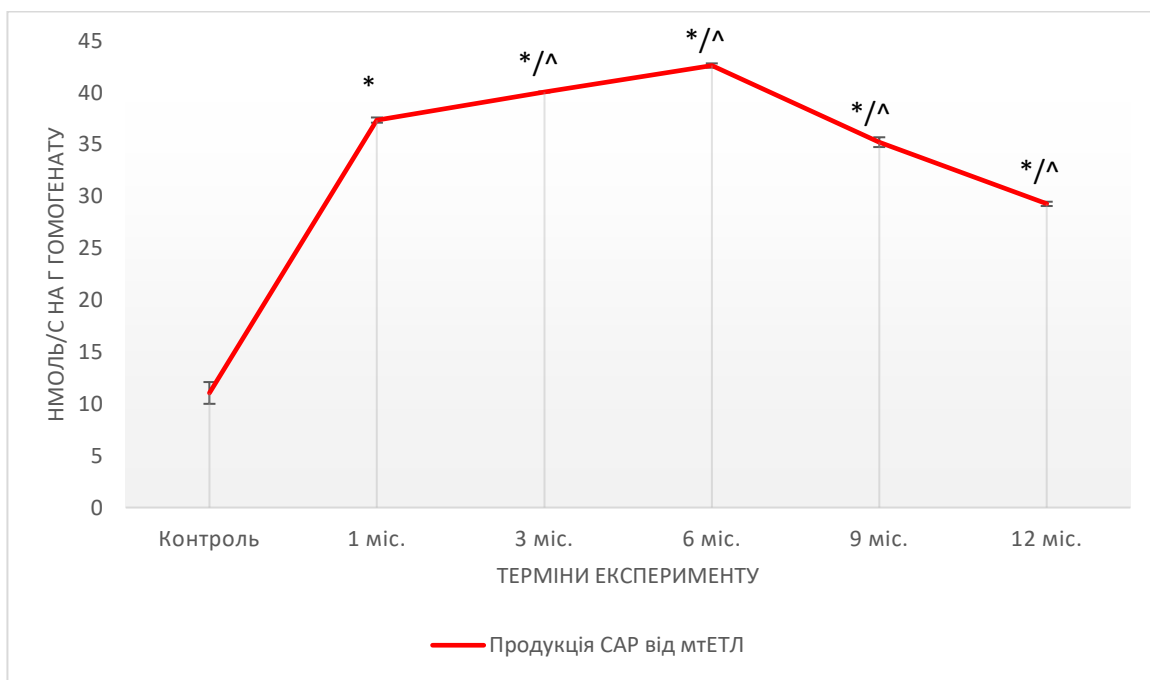


Рис. 6.1.3 Продукція САР в печінці щурів від мкЕТЛ за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від контролю ($p < 0,05$); ^ - дані статистично значуще відрізняються від попереднього терміну експерименту ($p < 0,05$).

За умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном призвела до зростання продукція САР від мітохондріального електроно-транспортного ланцюга (мТЕТЛ) в печінці щурів на 1 місяць експерименту на 238,10% порівняно із контрольною групою (Рис. 6.1.3).

На 3-й, 6-й, 9-й та 12 місяці експерименту базова продукція САР зростала на 262,62%, 285,70%, 218,82% та 164,98%, відповідно, порівняно із контрольною групою. На 3 місяць експерименту продукція САР від мТЕТЛ зростала на 7,25% порівняно із 1 місяцем. На 6 місяць продукція САР від мТЕТЛ збільшувалась на 6,36% порівняно із 3 місяцем. На 9 місяць експерименту продукція САР від мТЕТЛ знижувалась на 17,36% порівняно із 6 місяцем. На 12 місяць експерименту продукція САР від мТЕТЛ знижувалась на 16,87% порівняно із 9 місяцем.

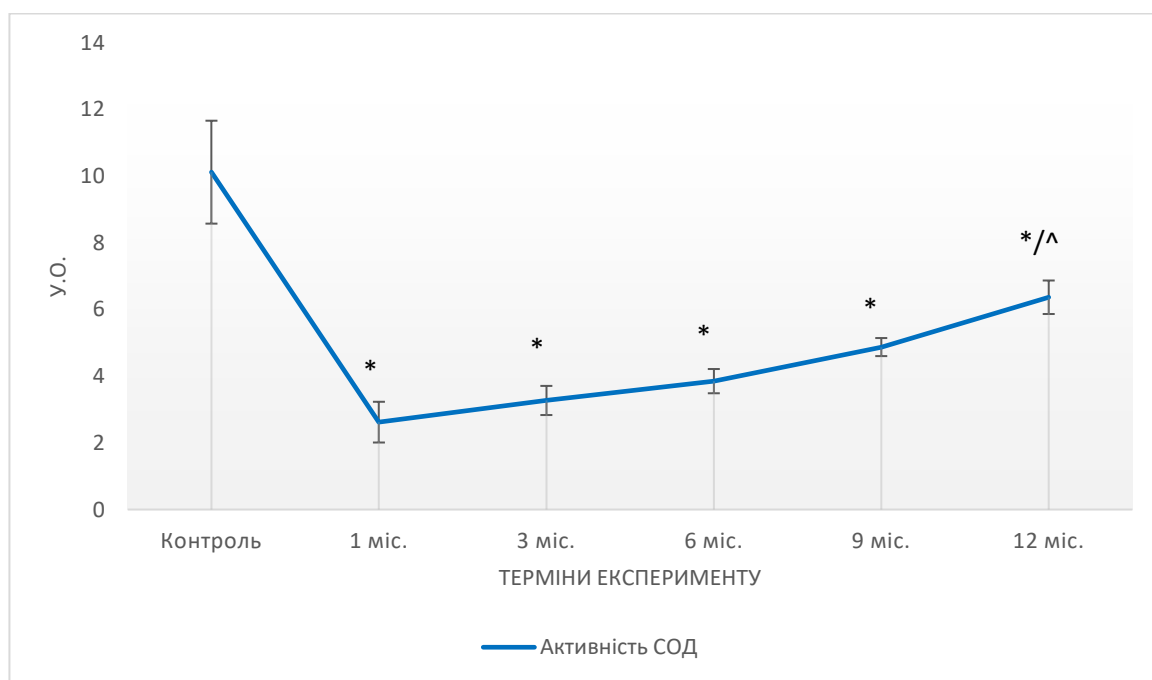


Рис. 6.1.4 Активність СОД в печінці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від контролю ($p < 0,05$); ^ - дані статистично значуще відрізняються від попереднього терміну експерименту ($p < 0,05$).

Спостерігалась тенденція до поступового зростання базової САР від мТЕТЛ в печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з 1 по 6 місяць експерименту. Максимальне зростання базової продукції САР відмічалось на 6 місяці експерименту.

Активність супероксиддисмутази (К.Ф. 1.15.1.1, СОД) в печінці щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на 1 місяць експерименту знижується на 74,11% порівняно із групою контролю (Рис. 6.1.4.).

При порівнянні активності СОД на різні терміни експерименту було встановлено, що активність СОД знижується на 3-й, 6-й, 9-й та 12-й місяці експерименту на 67,69%, 61,96%, 51,88% та 37,06% порівняно із контрольною групою. Статистично значущих відмінностей в активності СОД між 3 та 1 місяцем, між 6 та 3 місяцем та між 9 та 6 місяцем експерименту не встановлено.

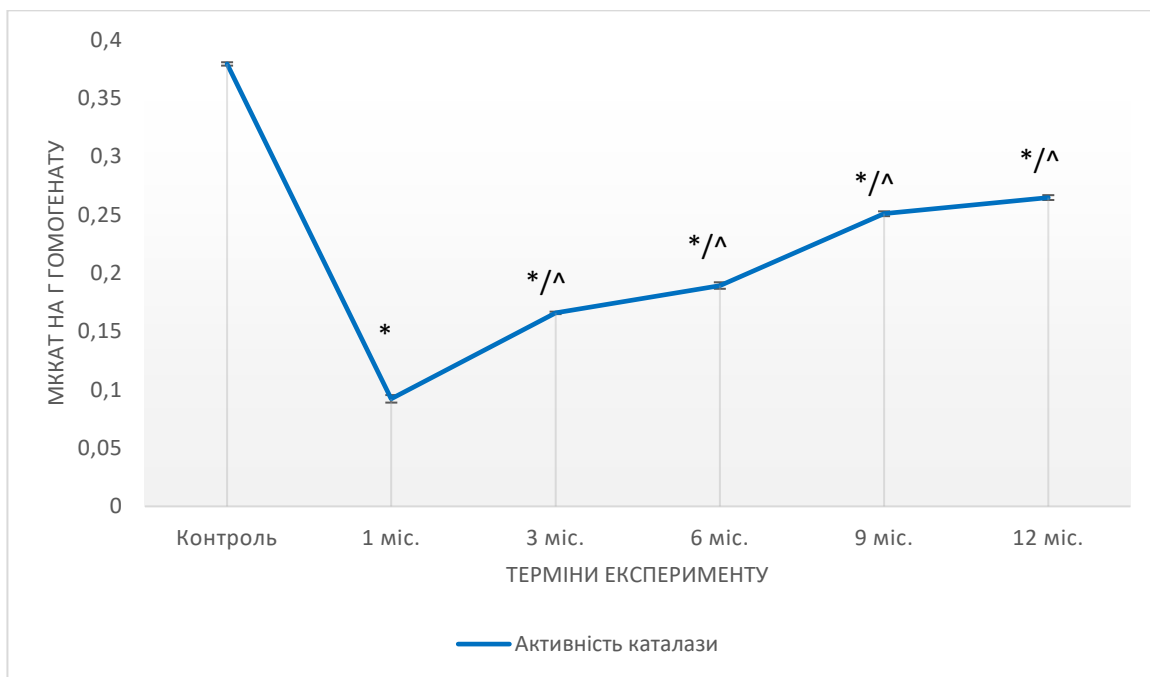


Рис. 6.1.5 Активність каталази в печінці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від контролю ($p < 0,05$); ^ - дані статистично значуще відрізняються від попереднього терміну експерименту ($p < 0,05$).

Активність СОД на 12 місяць блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном зростає на 30,80% порівняно із 9 місяцем експерименту.

Активність каталази (К.Ф. 1.11.1.6) в печінці щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на 1 місяць експерименту знижується на 75,73% порівняно із групою контролю (Рис. 6.1.5.).

Вивчення активності каталази на різні терміни експерименту дозволило встановити, що активність каталази знижується на 3-й, 6-й, 9-й та 12-й місяці експерименту на 56,46%, 50,13%, 34,04% та 30,08% порівняно із контрольною групою.

На 3 місяць експерименту активність каталази зростала на 80,43% порівняно із 1 місяцем. На 6 місяць активність каталази зростала збільшувалась на 13,86% порівняно із 3 місяцем. На 9 місяць експерименту активність каталази зростала на 32,80% порівняно із 6 місяцем. На 12 місяць експерименту активність каталази зростала на 5,58% порівняно із 9 місяцем.

Після критичного зниження активності каталази на 1 місяць моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та досягнення мінімуму її активності в печінці щурів в цей термін експерименту, спостерігалась тенденція до поступового відновлення її активності з 3 по 12 місяць експерименту.

Концентрація вільного малонового діальдегіду (МДА) в печінці щурів за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном на 1 місяць експерименту збільшувалась на 19,44% порівняно із контрольною групою (Рис. 6.1.6.).

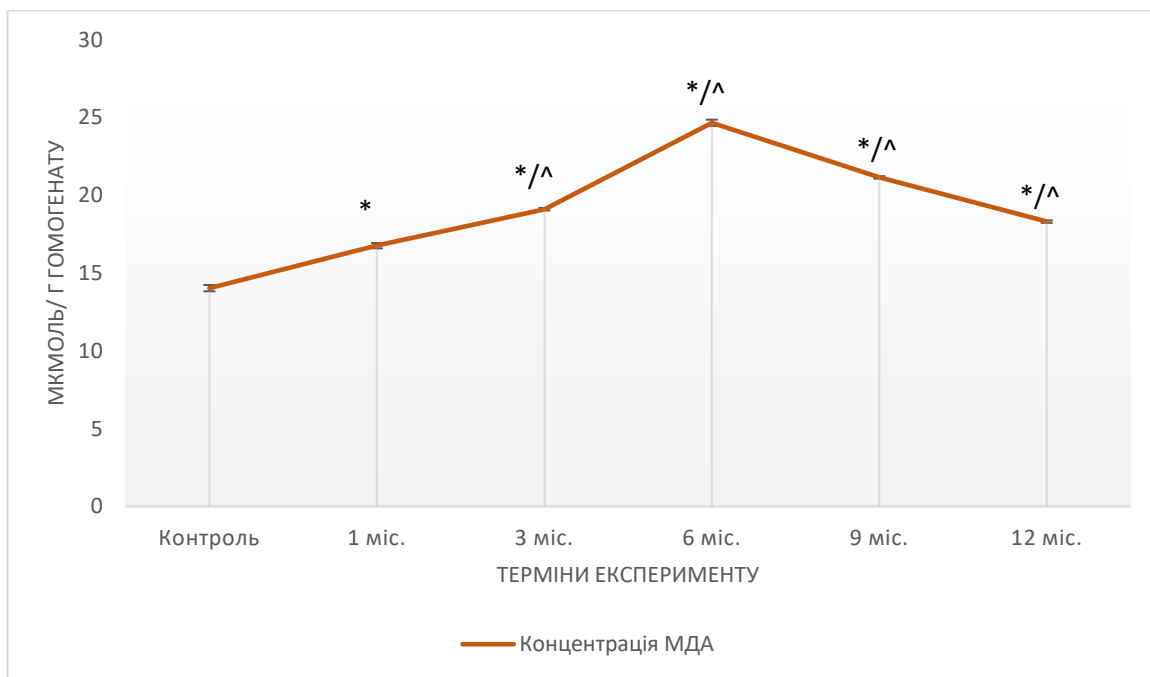


Рис. 6.1.6 Концентрація МДА в печінці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від контролю ($p < 0,05$); ^ - дані статистично значуще відрізняються від попереднього терміну експерименту ($p < 0,05$).

На 3-й, 6-й, 9-й та 12 місяці експерименту концентрація МДА зростала на 36,11%, 75,64%, 51,42% та 30,41%, відповідно, порівняно із контрольною групою. На 3 місяць експерименту концентрація МДА зростала на 13,95% порівняно із 1 місяцем. На 6 місяць концентрація МДА збільшувалась на 29,04% порівняно із 3 місяцем. На 9 місяць експерименту концентрація МДА знижувалась на 14,19% порівняно із 6 місяцем. На 12 місяць експерименту концентрація МДА знижувалась на 13,47% порівняно із 9 місяцем.

Таким чином, можна відмітити тенденцію до поступового зростання концентрації МДА в печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з 1 по 6 місяць експерименту. Найбільша концентрація МДА спостерігалась на 6 місяці експерименту.

Розділ 6.2 Вплив водорозчинної форми кверцетину на біохімічні показники про- та антиоксидантного балансу в печінці щурів за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

Введення водорозчинної форми кверцетину (ВФК) щурам за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом місяця знижує базову продукцію САР в печінці щурів на 50,71% порівняно із показниками 1 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону (Рис. 6.2.1).

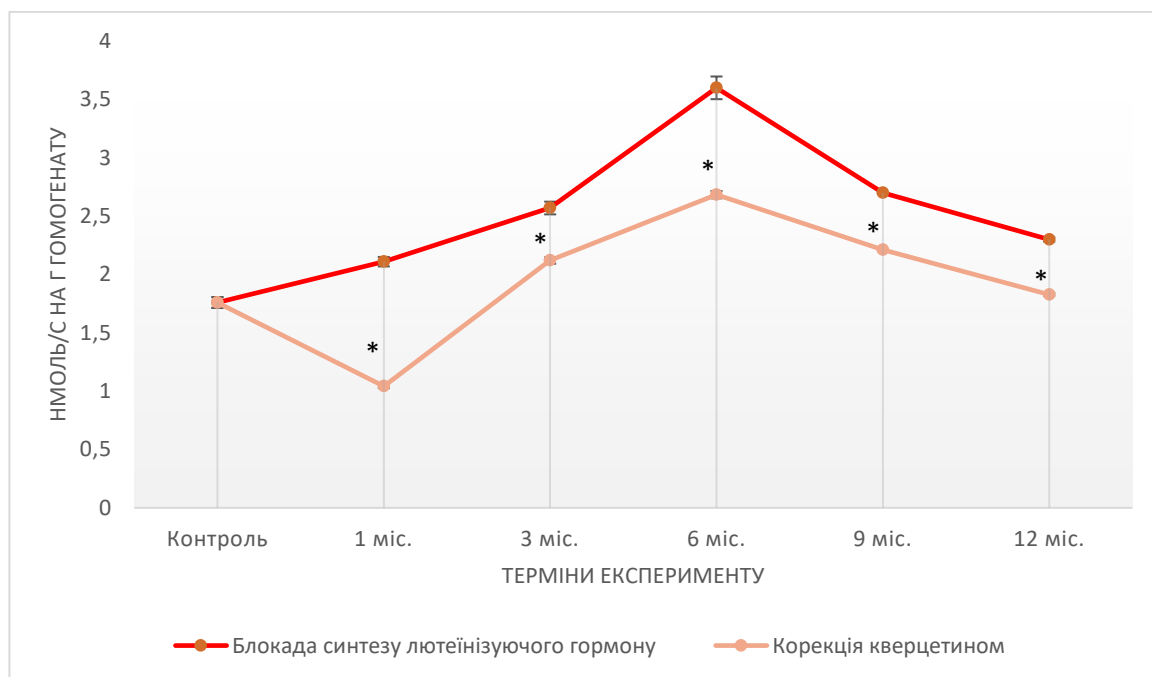


Рис. 6.2.1 Базова продукція САР в печінці щурів на за умов корекції блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном водорозчинною формою кверцетину. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від даних відповідного терміну блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

Введення ВФК протягом 3 місяців знижує базову продукцію САР на 17,51% порівняно із показниками 3 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону. Введення ВФК протягом 6 місяців знижує базову продукцію САР на 25,56% порівняно із показниками 6 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону. Введення ВФК протягом 9 місяців знижує базову продукцію САР на

18,15% порівняно із показниками 9 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону. Введення ВФК протягом 12 місяців знижує базову продукцію САР на 20,43% порівняно із показниками 12 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону.

Введення ВФК щурам за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом місяця знижує продукцію САР від мкЕТЛ в печінці щурів на 22,78% порівняно із показниками 1 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону (Рис. 6.2.2).

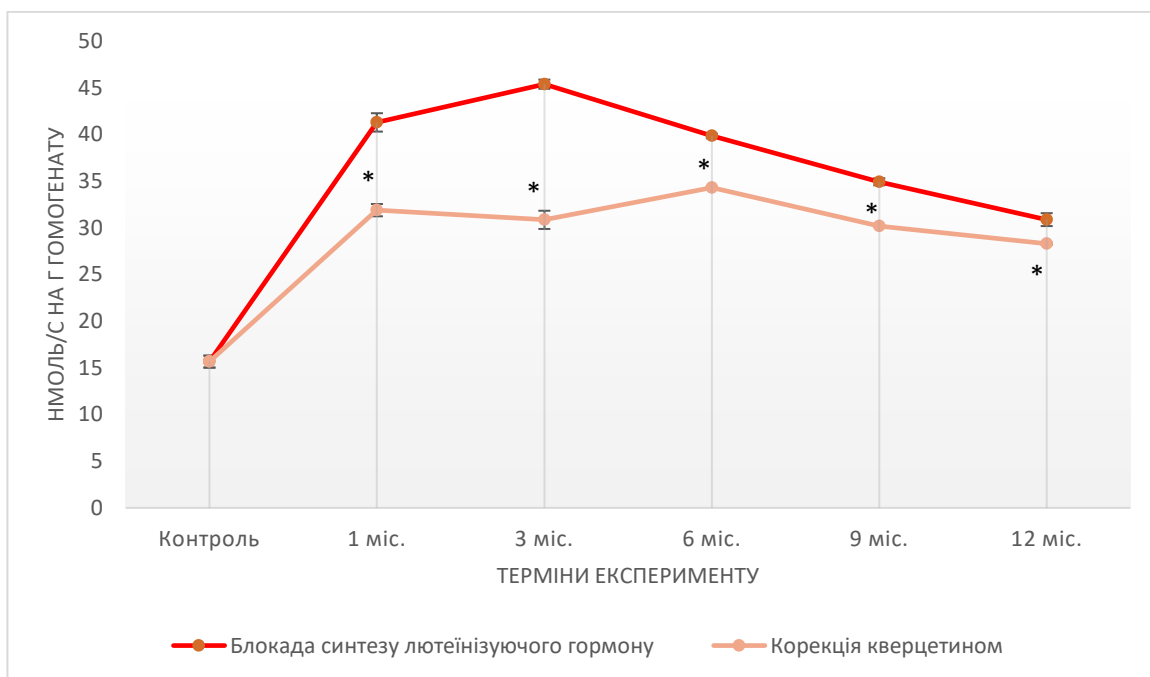


Рис. 6.2.2 Продукція САР від мкЕТЛ в печінці щурів на за умов корекції блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном водорозчинною формою кверцетину. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від даних відповідного терміну блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

При порівнянні показників продукції САР від мкЕТЛ в печінці щурів за умов застосування ВФК на фоні моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону на 3-й, 6-й, 9-й та 12-й місяці експерименту із показниками на відповідні терміни моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону було встановлено: введення ВФК знижує продукцію

САР від мкЕТЛ на 3-й місяць на 32,03%, на 6-й місяць на 13,91%, на 9-й місяць на 13,62%, на 12-й місяць на 8,32%, порівняно із відповідними місяцями моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону.

Введення ВФК щурам за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом місяця знижує продукцію САР від мТЕТЛ в печінці щурів на 19,35% порівняно із показниками 1 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону (Рис. 6.2.3).

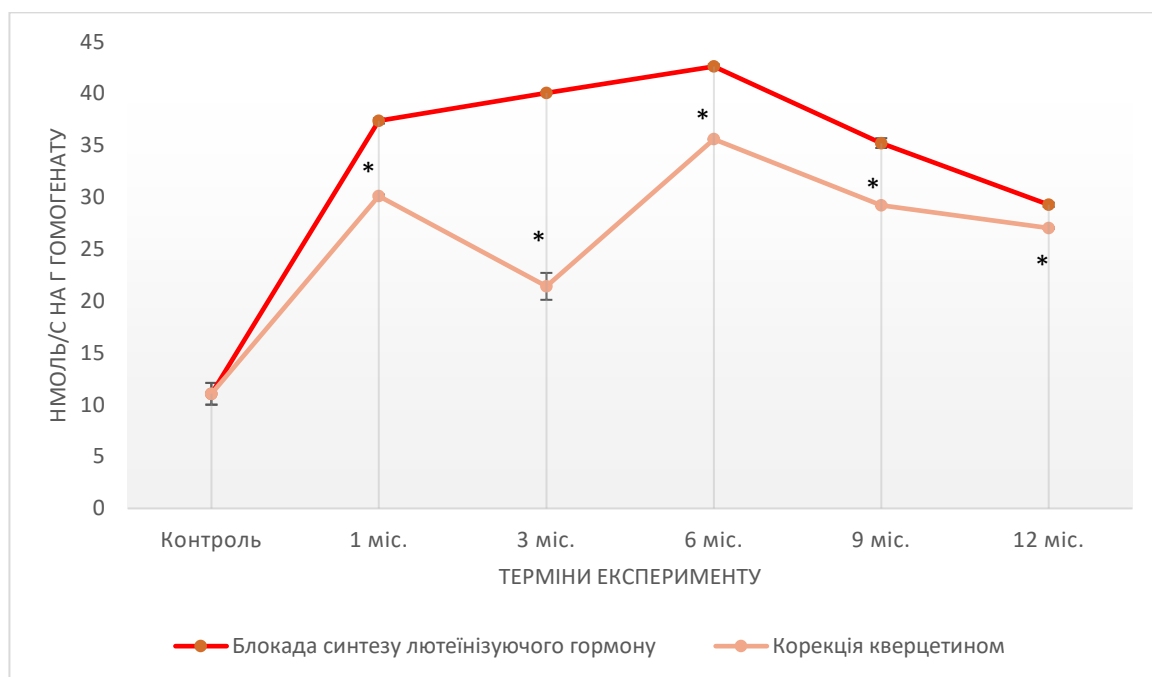


Рис. 6.2.3 Продукція САР від мТЕТЛ в печінці щурів на за умов корекції блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном водорозчинною формою кверцетину. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від даних відповідного терміну блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

При порівнянні показників продукції САР від мТЕТЛ в печінці щурів за умов застосування ВФК на фоні моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону на 3-й, 6-й, 9-й та 12-й місяці експерименту із показниками на відповідні терміни моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону було встановлено: введення ВФК знижує продукцію САР від мТЕТЛ на 3-й місяць на 46,57%, на 6-й місяць на 16,49%, на 9-й місяць

на 17,0%, на 12-й місяць на 7,72%, порівняно із відповідними місяцями моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону.

Отже, застосування водорозчинної форми кверцетину є ефективним засобом для зниження надмірної продукції активних форм кисню в печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

Введення ВФК щурам за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом місяця статистично значуще не змінює активність СОД в печінці щурів порівняно із показниками 1 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону (Рис. 6.2.4).

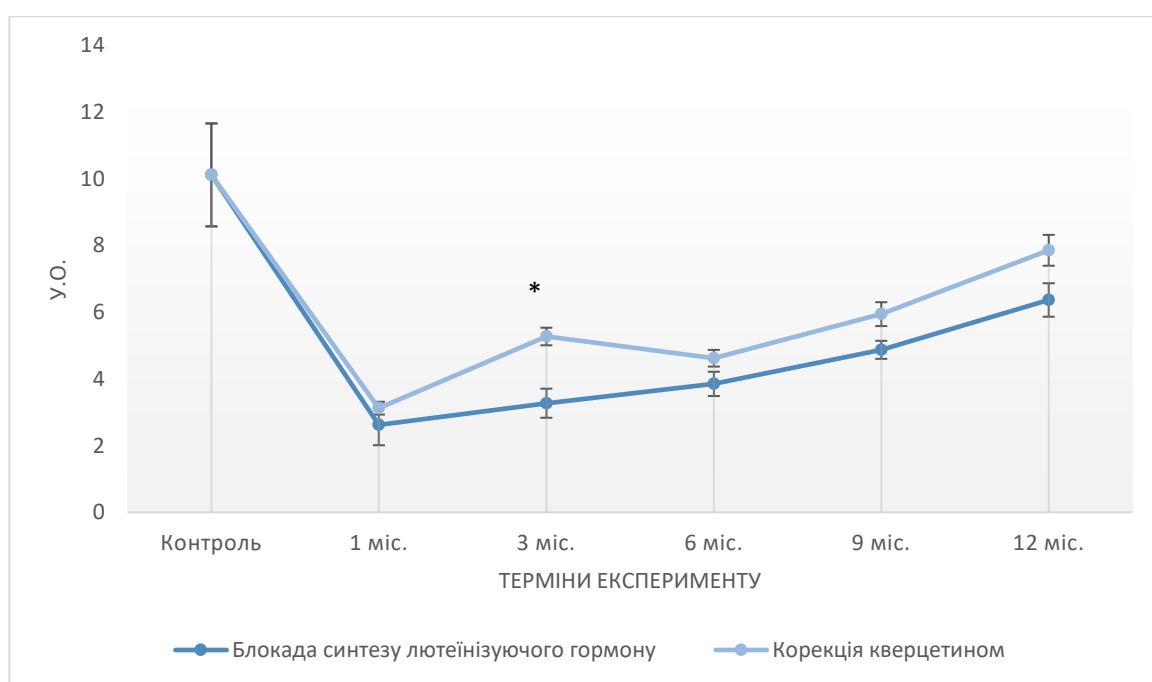


Рис. 6.2.4 Активність СОД в печінці щурів на за умов корекції блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном водорозчинною формою кверцетину. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від даних відповідного терміну блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

При порівнянні показників активності СОД в печінці щурів за умов застосування ВФК на фоні моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону на 3-й, 6-й, 9-й та 12-й місяці експерименту із показниками на відповідні терміни моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону

було встановлено: введення ВФК збільшує активність СОД на 3-й місяць на 61,16%, на 6-й місяць, 9-й місяць та 12-й місяць статистично значущих змін в активності СОД не виявлено, порівняно із відповідними місяцями моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону.

Введення ВФК щурам за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом місяця збільшує активність каталази в печінці щурів на 109,78% порівняно із показниками 1 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону (Рис. 6.2.5).

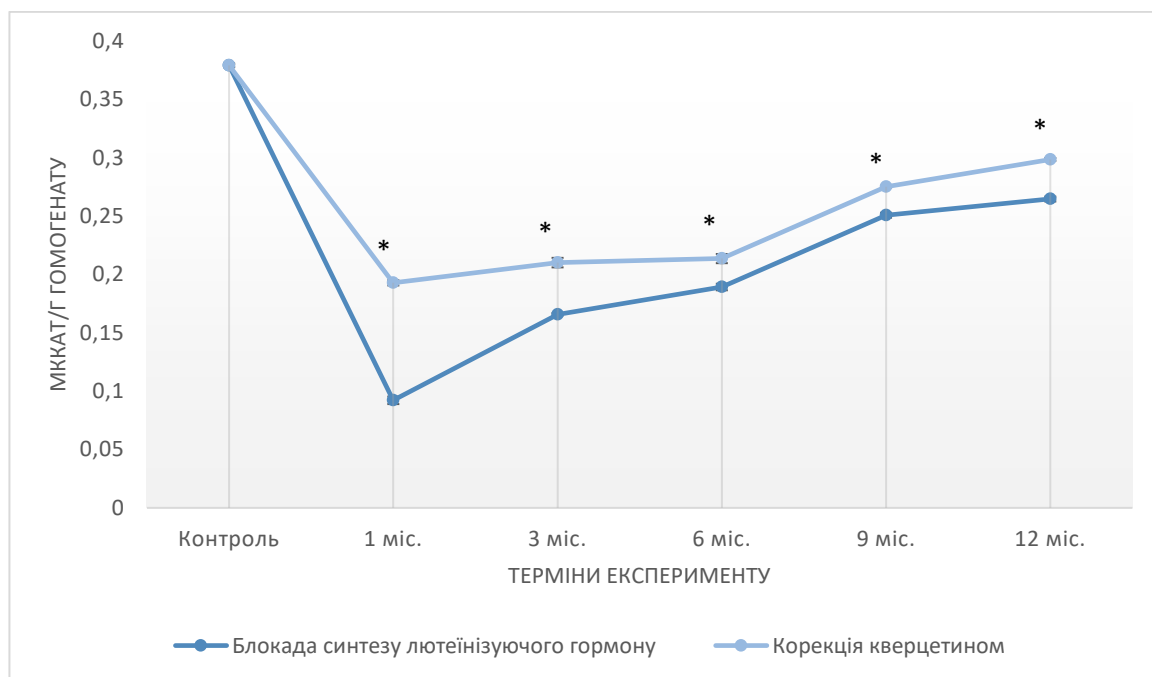


Рис. 6.2.5 Активність каталази в печінці щурів на за умов корекції блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном водорозчинною формою кверцетину. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від даних відповідного терміну блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

При порівнянні показників активності каталази в печінці щурів за умов застосування ВФК на фоні моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону на 3-й, 6-й, 9-й та 12-й місяці експерименту із показниками на відповідні терміни моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону було встановлено: введення ВФК збільшує активність каталази на 3-й місяць

на 26,51%, на 6-й місяць на 13,23%, на 9-й місяць на 9,56%, на 12-й місяць на 12,83%, порівняно із відповідними місяцями моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону.

Таким чином, застосування водорозчинної форми кверцетину є ефективним засобом для відновлення зниженої активності антиоксидантних ферментів в печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном, переважно за рахунок впливу кверцетину на активність каталази.

Введення ВФК щурам за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном протягом місяця зменшує концентрацію МДА в печінці щурів на 14,25% порівняно із показниками 1 місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону (Рис. 6.2.6).

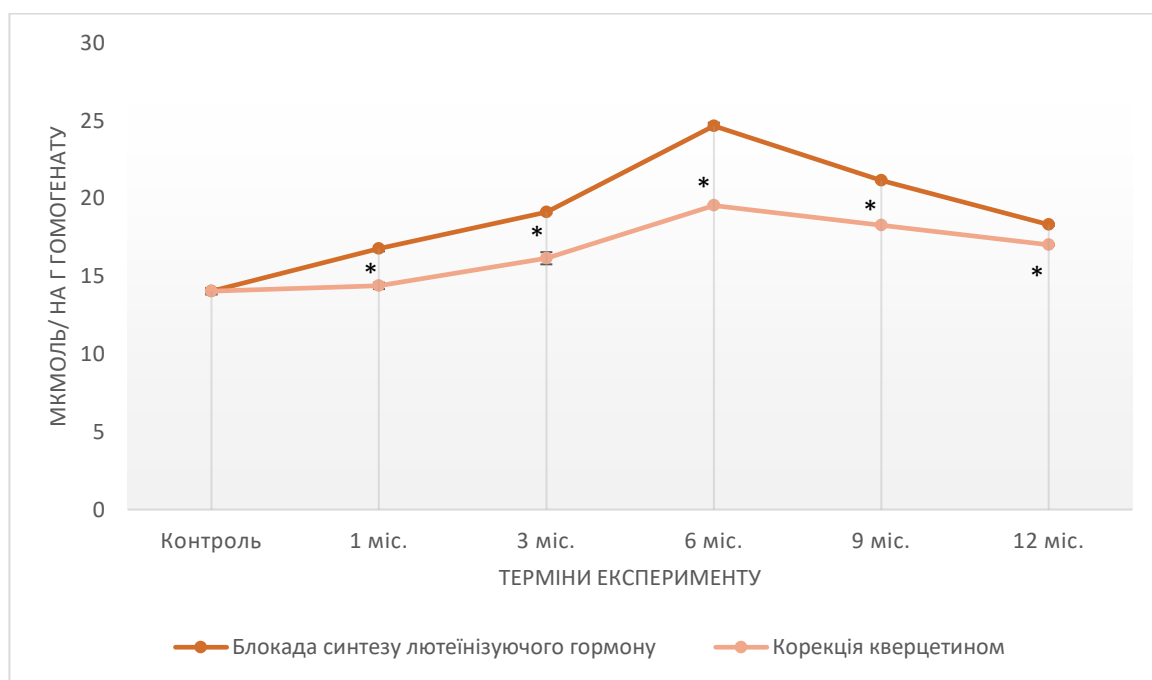


Рис. 6.2.6 Вміст МДА в печінці щурів на за умов корекції блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном водорозчинною формою кверцетину. Примітка: * - дані статистично значуще відрізняються від даних відповідного терміну блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

При порівнянні показників концентрації МДА в печінці щурів за умов застосування ВФК на фоні моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону на 3-й, 6-й, 9-й та 12-й місяці експерименту із показниками на відповідні терміни моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону було встановлено: введення ВФК знижує концентрацію МДА на 3-й місяць на 15,49%, на 6-й місяць на 20,76%, на 9-й місяць на 13,66%, на 12-й місяць на 7,05%, порівняно із відповідними місяцями моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону.

Таким чином, застосування водорозчинної форми кверцетину є ефективним засобом для зниження інтенсивності перекисного окиснення ліпідів в печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

Висновки до Розділу 6:

1. Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном від 1 до 12 місяців призводить до розвитку оксидативного ушкодження тканин печінки щурів на всіх досліджуваних термінах за рахунок посилення продукції активних форм кисню та зниження антиоксидантного захисту.

2. Застосування водорозчинної форми кверцетину (корвітин) за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном є ефективним засобом для корекції оксидативного ушкодження тканин печінки за рахунок зменшення утворення активних форм кисню та посилення антиоксидантного захисту.

РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Останнім часом в Україні спостерігається несприятлива епідеміологічна ситуація щодо захворювань органів травлення, що проявляється зростанням рівня захворюваності та смертності. Особливо помітне збільшення летальних випадків, пов'язаних із цирозом печінки та хронічним гепатитом, що може свідчити про певні соціально-економічні труднощі на загальнопопуляційному рівні [168].

За інформацією ВООЗ, за останні двадцять років кількість людей із захворюваннями печінки у світі значно зросла, перевищивши 2 мільярди осіб. У країнах СНД щорічно реєструють від 500 тисяч до 1 мільйона нових випадків патологій печінки. Висока поширеність токсичних гепатитів, тенденція до зниження вікового порогу хворих, а також зростання частки хронічних форм, що призводять до зниження працездатності, підкреслюють складність та актуальність цієї проблеми [169].

У структурі хронічних дифузних уражень печінки домінують токсичні (52,4 %) та вірусні (47 %) форми. [170].

При патологічних станах поліпліоїдизація печінки в основному вказує на тяжкість ураження: чим вище спостережувана швидкість поліпліоїдизації, тим значніше травма. «Трубопровід плорідності», характерний для печінки, розроблений для генерації генетичного різноманіття і дозволяє гепатоцитам адаптуватися до ксенобіотичних (чужорідних) і харчових пошкоджень. Однак збільшення диплоїдних клітин є характерною рисою гепатоцелюлярної карциноми через їх підвищену проліферативну здатність і сприйнятливості до подальших мутацій. Як базові, так і клінічні дослідження надали докази того, що тестостерон діє на паренхіму печінки як у стані здоров'я, так і при хворобі.

Як відомо, тестостерон сприяє глобальному покращенню енергетичного метаболізму, введення надлишкової кількості може

спричинити надлишок активних форм кисню разом із окисним пошкодженням, що свідчить про витік електронів із дихального ланцюга мітохондрій та метаболічне роз'єднання. Припускають, що вазопротекторні ефекти кверцетину реалізуються завдяки його здатності знижувати активність запального процесу в ендотелії судин, посилювати активність ендотеліальної NO-синтази (eNOS), що, в свою чергу, підвищує рівень оксиду азоту в ендотеліальних клітинах та приводить до покращення функції ендотелію [124].

Як відомо, що в ядрі зосереджена в основна маса ДНК - носія спадкової інформації і регулятора метаболічної функції. У ядрі найважливіші матричні процеси - реплікація ДНК, транскрипція (синтез РНК) і обробка (дозрівання) РНК. Накопичуючи генетичну інформацію, ядро передає її в цитоплазму в місці синтезу білка - рибосоми - за допомогою мРНК або інформаційної РНК. Ядро, обмінюючись інформацією з цитоплазмою гепатоцита, контролює і координує всю активність клітини: поділ, ріст, проміжний обмін речовин, синтез білка і його диференціювання [103].

Протягом життєвого циклу клітини, ядро зберігається в інтерфазі. У період мітозу в ядрі утворюються хромосоми хроматину, чий агрегат називається «мітотичним ядром». Велика варіація розмірів ядер гепатоцитів пояснюється тим, що при постнатальному зростанні деякі гепатоцити піддаються цитогенетичним перетворенням, що характеризуються поступовою поліплоїдією, при якій з'являються гепатоцити декількох класів захворювання. Поліплоїдія, або посилення цілого геному, відноситься до клітин/організмів, що містять більше 2 основних хромосомних наборів.

Основною клітиною печінки є гепатоцитарний дифтерон, на частку якого припадає 60-70% клітин і 78% обсягу. Серед них близько 25% гепатоцитів мають два ядра, 70% одноядерних гепатоцитів - тетраплоїдні ($4n$), близько 2% - окта-плоїди ($8n$) з 4 або 8-кратним набором хромосом.

Поліплоїдні гепатоцити з'являються в ранньому віці, їх кількість збільшується, а через 50 років поліплоїдизація збільшується. Дорослі особи мають близько 30-40% гепатоцитів - поліплоїдів з 4-кратним набором хромосом. Збільшення ядерної плоїдії супроводжується збільшенням розміру гепатоцитів. Збільшення плоїдії супроводжується збільшенням розміру гепатоцитів. Обсяг ядер гепатоцитів подвоюється з подвоєнням вмісту ДНК. Немає суттєвої різниці в обсязі поліплоїдних гепатоцитів, що містять одне або два ядра з однаковими наборами хромосом.

Поліплоїдизація - це стан, при якому клітини мають більше двох наборів гомологічних хромосом, що часто зустрічається в природі. У ссавців поліплоїдія всього організму, як правило, летальна, проте деякі тканини розвивають певний ступінь поліплоїдії протягом свого нормального життєвого циклу. Поліплоїдні клітини утворюються внаслідок злиття клітин або аномального поділу клітин (наприклад ендореplikація, зсув мітозу, збій цитокінезу). Поліплоїдні клітини часто з'являються на пізніх стадіях внутрішньоутробного розвитку або після різноманітних клітинних стресів (наприклад, механічних або метаболічного стресу). Тривожним є те, що проліферуючі поліплоїдні клітини, що проліферують, є генетично нестабільними [87].

Різні роботи чітко виявили значний внесок поліплоїдних проміжних продуктів у формування складу ракових геномів. У світлі цієї проблеми не дивно, що еволюціонували механізми, які обмеження проліферації поліплоїдного контингенту: активація запрограмованої загибелі або старіння, як тільки вони генеруються; викликати імунну відповідь, що призводить до їх елімінації .

Поліплоїдія є загальною характеристикою гепатоцитів ссавців гепатоцитів ссавців. Поліплоїдизація відбувається переважно під час розвитку печінки, але також у дорослих зі збільшенням віку або внаслідок клітинного стресу (наприклад, хірургічна резекція, токсичний вплив). У

печінці людини більшість поліплоїдних гепатоцитів є тетраплоїдними з двома ядрами (двоядерні клітини). Гепатоцити стають поліплоїдними, як правило, через збій у цитокінезі. Під час постнатального розвитку печінки, інсулін/АКТ-шлях та фактори транскрипції E2F відіграють важливу роль в утворенні поліплоїдних клітин печінки [132]. Було запропоновано низку ідей для пояснення функціонального значення фізіологічної поліплоїдії в печінці в результаті багатьох патологічних чинників впливаючи на гомеостаз печінки. Останні дослідження показали, що головним індуктором двоядерності (бинуклеації) гепатоцитів є цитокін TGF- β 1, який бере участь у ранньому розвитку печінки. Було доведено, що пригнічення сигналізації TGF- β 1 у здорових мишей знижувало рівень бінуклеації без впливу на клітинну проліферацію.

Значні патологічні зміни також відзначені у мітохондріях гепатоцитів, що підтверджується електронною мікроскопією.

Враховуючи вищевикладене, стає очевидно, що проблема змін гепатоців та є актуальною. Важливим для сучасної медицини є розробка і впровадження нових схем лікування, які поряд з потужною гепатопротекторною дією мають здатність до позитивного результату в лікуванні хворих.

Тому, метою нашого дослідження було встановити механізми пошкодження та відновлення гепатоцитів та ГМЦР печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та з додаванням біофлаваноїду кверцетину.

На першому етапі нашого дослідження ми з'ясували зміни в динаміці ГМЦР печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та з додаванням кверцетину (Розділ.3 та 4) і встановили, що синусоїдні капіляри у перші 3-и місяці група з кверцетином мала нижчі значення, без додавання кверцетину. На 6-й місяць експерименту відзначається підвищення в групі з додаванням кверцетину на

12,1%. З 9-го місяця показник характеризувався поступовим відновленням до значень контрольної групи. На 12 місяці у групі з кверцетином значення значно перевищують групу "Трипторелін" (+35,8%) див. рис.7.1.

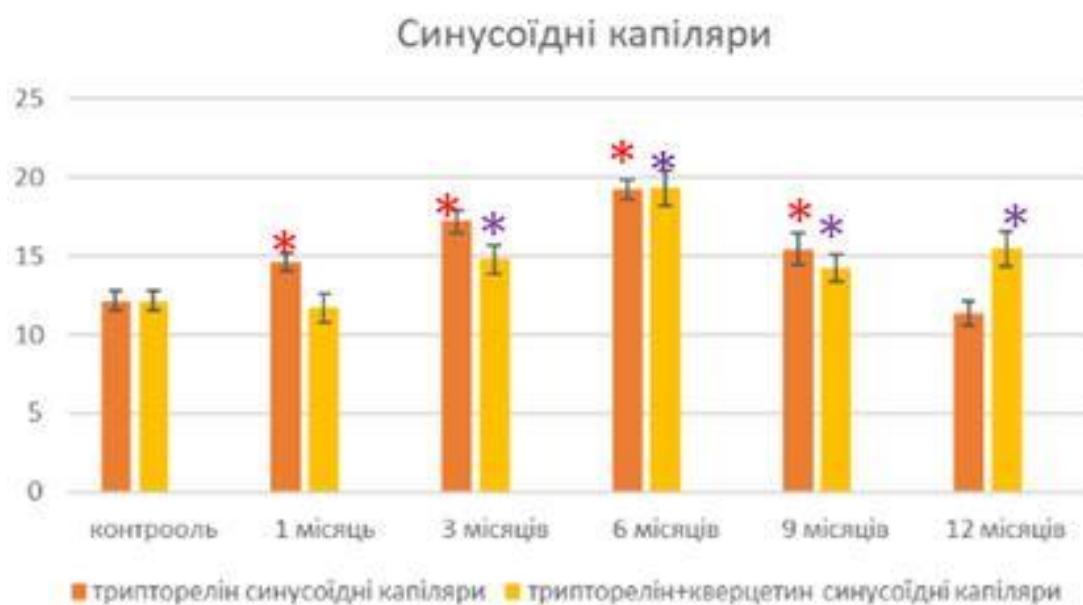


Рис. 7.1. Динаміка показника діаметру синусоїдних капілярів печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

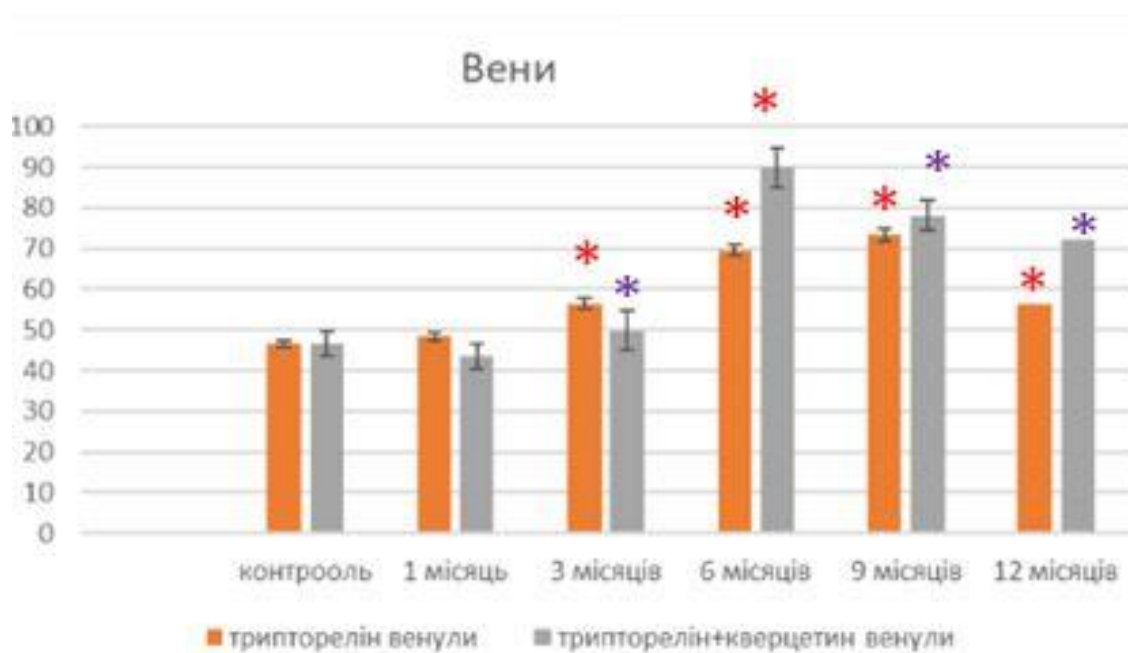


Рис. 7.2. Динаміка показника діаметру вен печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та з додаванням кверцетину. * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$ порівняно з контрольною групою.

При порівнянні двох експериментальних моделей по показнику діаметра вен нами було встановлено, що з 1-го по 3-й місяці – у групі з кверцетином значення нижчі, ніж у групі з додаванням кверцетину див. рис.7.2.

6-й місяць – у групі з кверцетином значення значно вищі (+29,2%) в порівняно з групою корекцією кверцетином. 9 місяців – приріст менший, але все ще виражений (+6,6%). 12 місяців – значення у групі "Трипторелін + Кверцетин" знову значно перевищують групу "Трипторелін" (+28,3%).

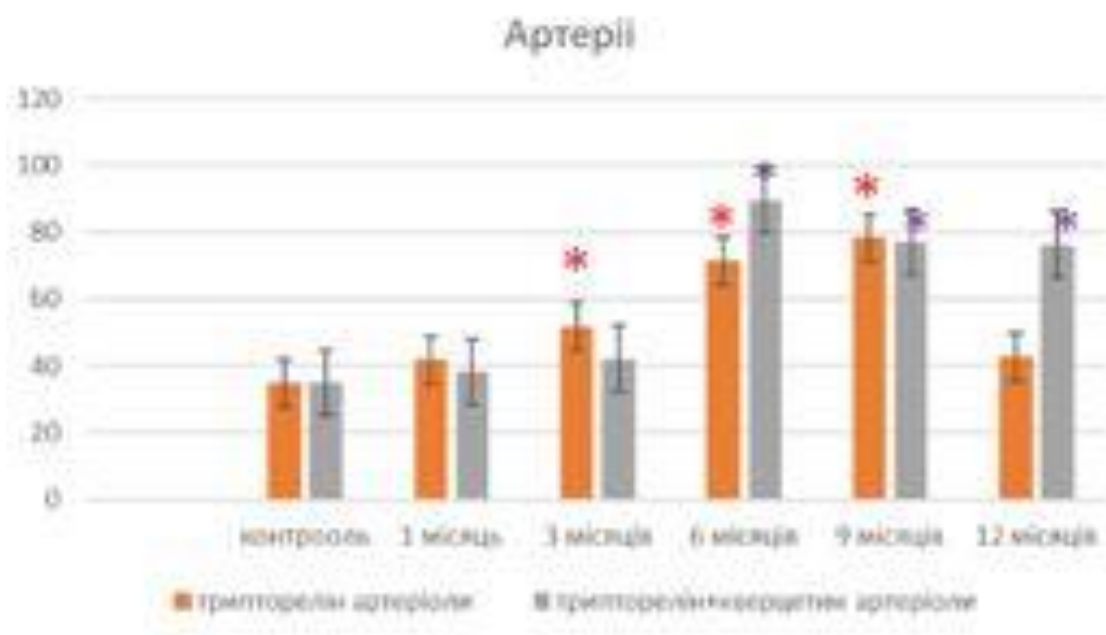


Рис. 7.3. Динаміка показника діаметру артерій печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та з додаванням кверцетину. * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$ порівняно з контрольною групою.

При дослідженні і порівнянні нами двох експериментальних груп по показнику діаметру артеріол встановлено, що у перші 3 місяці артеріоли у групі з додаванням кверцетину менші, ніж у групі в першій групі. На 6 місяці значення в групі II значно перевищує аналогічний показник у групі I на 25,6%. Після 12 місяців у групі з кверцетином значення вдвічі більше (+78,7%) порівняно з групою без кверцетину. Та все ж таки повного відновлення не відбувається, про що говорить зниження середніх показників морфометричного дослідження параметрів ГМЦР печінки, яке насамперед пов'язане на нашу думку з постійною дією відсутності тестостерону, який був заблокований триптореліном.

Отримані нами результати узгоджуються з даними деяких інших експериментальних та клінічних досліджень, у яких звертають увагу на те, що застосування кверцетину призводить до антиоксидантних, протизапальних, гіполіпідемічних, антистеатотичних та антифібротичних властивостей. Вищезазначене свідчить про потенційну користь цього флавоноїду у терапії різних захворювань печінки, зокрема неалкогольної жирової хвороби печінки, хронічних гепатитів різної етіології та медикаментозно-асоційованих захворювань печінки.

Нещодавня робота Duncan et al. Елегантно показала, що поліплоїдні гепатоцити можуть принаймні сприяти адаптації до пошкоджень печінки шляхом збільшення генетичного різноманіття. Важливо відзначити, що довгостроковим наслідком переходу в режим поліплоїдизації при патологічному рості печінки патологічного росту печінки все ще є предметом дискусій.

Поліплоїдних мононуклеарних клітин ($\geq 8n$), які рідко спостерігаються в нормальній печінковій паренхімі. Нещодавні дослідження свідчать, що патологічна поліплоїдизація є адаптивною відповіддю на геномний стрес. Клітини реагують на різноманітні пошкодження ДНК еволюційно консервативною реакцією на пошкодження ДНК. У нашій системі ми оцінювали, чи були активовані контрольні точки

пошкодження ДНК активовані. У жирових гепатоцитах ми спостерігали, що шлях пошкодження ДНК під контролем ATR/p53/ p21 запускає зупинку G2/M. Кілька десятиліть тому було добре кілька десятиліть тому, що окислювальний стрес відіграє важливу роль у одну з ключових ролей.

Ми знайшли докази оксидативного стресу в гепатоцитах див. розділ 6. Це піднімає питання про те, як окислювальний стрес може бути залучений до пошкодження ДНК, що сприяє патологічній поліплоїдизації. Щоб з'ясувати цю роль, ми продемонстрували, що антиоксидантна терапія рятує повний клітинний цикл прогресування клітинного циклу та зменшує активацію ATR *in vitro*.

Нарешті, чи змінює довготривале пригнічення тестостерону з додаванням антиоксидантів, а саме кверцетину на поліплоїдизацію в паренхімі печінки щурів.

На другому етапі для досягнення нами мети ми розділили гепатоцити на одноядерцеві, двоядерцеві та двоядерні, які ми спостерігали на всіх місяцях спостереження в обох експериментальних групах.

Насамперед ми дослідили одноядерцеві одноядерні гепатоцити за показниками площі та об'єму ядер та цитоплазми гепатоцитів і встановили, що середня площа ядра гепатоцитів знижується з 64,43 мкм² (контроль) до 51,93 мкм² на 9 місяці (зменшення на 19,4%). Невелике збільшення до 54,33 мкм² на 12 місяці, але все ще менше контролю. Середній об'єм ядра гепатоцитів зменшення з 3412,21 мкм³ (контроль) до 2322,22 мкм³ на 9 місяці (зменшення на 31,9%). Відновлення на 12 місяці до 2698,45 мкм³, але все ще значно менше за контроль.

Середня площа цитоплазми гепатоцитів: значне збільшення з 394,66 мкм² (контроль) до 543,33 мкм² на 12 місяці (на 37,7% більше). Найбільший приріст відбувається між 3 і 6 місяцем. Середній об'єм цитоплазми гепатоцитів: прогресивне збільшення з 8323,55 мкм³ (контроль) до 14307,31

мкм³ на 9 місяці (на 72% більше). На 12 місяці різке падіння до 1456,41 мкм³, що може бути помилкою у даних (розділ 3 та 4).

Отже блокада ЛГ триптореліном призводить до зменшення розмірів ядра одноядерцевих (генетично не модифікованих) та його об'єму, що може свідчити про зниження функціональної активності гепатоцитів. Одночасно спостерігається гіпертрофія цитоплазми, що вказує на адаптаційно-компенсаторні механізми. Дані на 12 місяці щодо об'єму цитоплазми (1456,41 мкм³) виглядають аномальними та, ймовірно, містять помилку. Додавання кверцетину зменшує показники ядер та цитоплазми в порівняно з групою самостійного кверцетину.

Наступним етапом (**третім**) ми порахували двоядерцеві та двоядерні гепатоцити в обох експериментальних групах і встановили, що на 1 місяці у групі "Трипторелін" (2,4) більше двоядерних клітин, ніж у групі "Т + К" (2,2), що вказує на менш виражене стимулювання проліферації при додаванні кверцетину. На 3 місяці різниця стає ще більш помітною: у групі "Т" (4,78), тоді як у групі "Т + К" – 3,66 (на 23,4% менше).

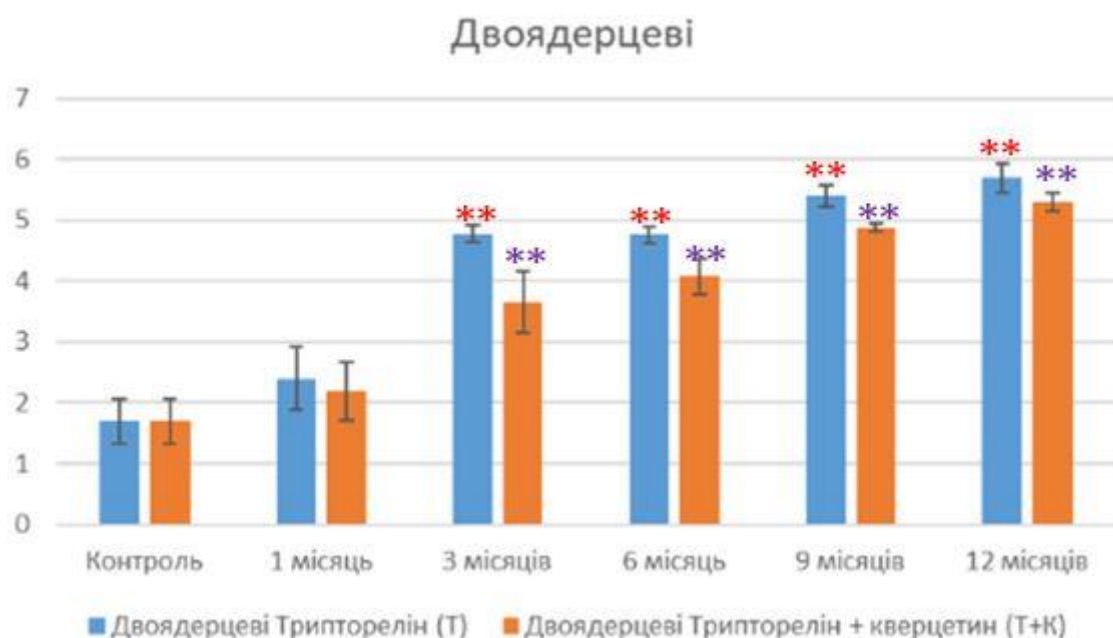


Рис. 7.4. Динаміка показника двоядерцевих гепатоцитів печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону

триптореліном та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

На 6 місяці спостерігається деяке зниження в обох групах, але тенденція зберігається: "Т" – 4,76, а "Т + К" – 4,08. На 9 місяці у групі "Т" (5,4) більше двоядерних гепатоцитів, ніж у групі "Т + К" (4,88). На 12 місяці показники в обох групах майже вирівнюються: 5,7 ("Т") та 5,3 ("Т + К"). У групі трипторелін + кверцетин значення нижчі на кожному етапі: від $1,7 \pm 0,37$ до $5,3 \pm 0,156$ на 12-му місяці.

Найбільша різниця між групами спостерігається на 3–12 місяцях, що може вказувати на гальмуючий ефект кверцетину на збільшення двоядерцевих гепатоцитів.

Отримані нами результати є теоретичним обґрунтуванням розробки методів корекції порушень в печінці при патологічному впливі на організм дисгормонального стану центрального генезу: "гіпоталамус–гіпофіз–сім'яник – печінка". Дані про функціональну морфологію ядер гепатоцитів на етапах адаптації до змін ендокринної ланки, розширюють наявні уявлення про причини, що викликають порушення гомеостазу печінки.

Таким чином ми можемо припустити, що зміни в кількості ядер та ядерців гепатоцитів в процесів дисгормонального розладу захищають від оксидативного стресу і гепатоксичного пошкодження клітини і збільшують транскрипційні моменти в процесі поділу, росту, проміжного обміну речовин, синтезу білка і його диференціювання.

На 1 місяці кількість двоядерних клітин зростає, але в групі "Т" (1,7) вона трохи вища, ніж у групі "Т + К" (1,54). На 3 місяці розрив збільшується: "Т" – 3,1, "Т + К" – 2,52 (на 18,7% менше). На 6 місяці вперше спостерігається незначне перевищення показника у групі "Т + К" (3,9) у порівнянні з "Т" (3,8). На 9 місяці в групі "Т" (7,0) значно більше двоядерних клітин, ніж у групі "Т + К" (5,3) (на 24,3% менше). На 12 місяці різниця між групами скорочується: "Т" – 7,14, "Т + К" – 6,6 (на 7,6% менше). На ранніх

етапах (1-3 місяці) група "Т" має більше двоядерних клітин, що свідчить про активнішу проліферацію гепатоцитів. На 6 місяці ситуація вирівнюється, що може вказувати на компенсаторні процеси. На 9 місяці показник у групі "Т" значно вищий, що може вказувати на надмірне навантаження на печінку без кверцетину. На 12 місяці тенденція збережена, але розрив між групами зменшується. Кверцетин, імовірно, пом'якшує надмірну регенеративну активність, що може мати протекторний ефект для тканини печінки.

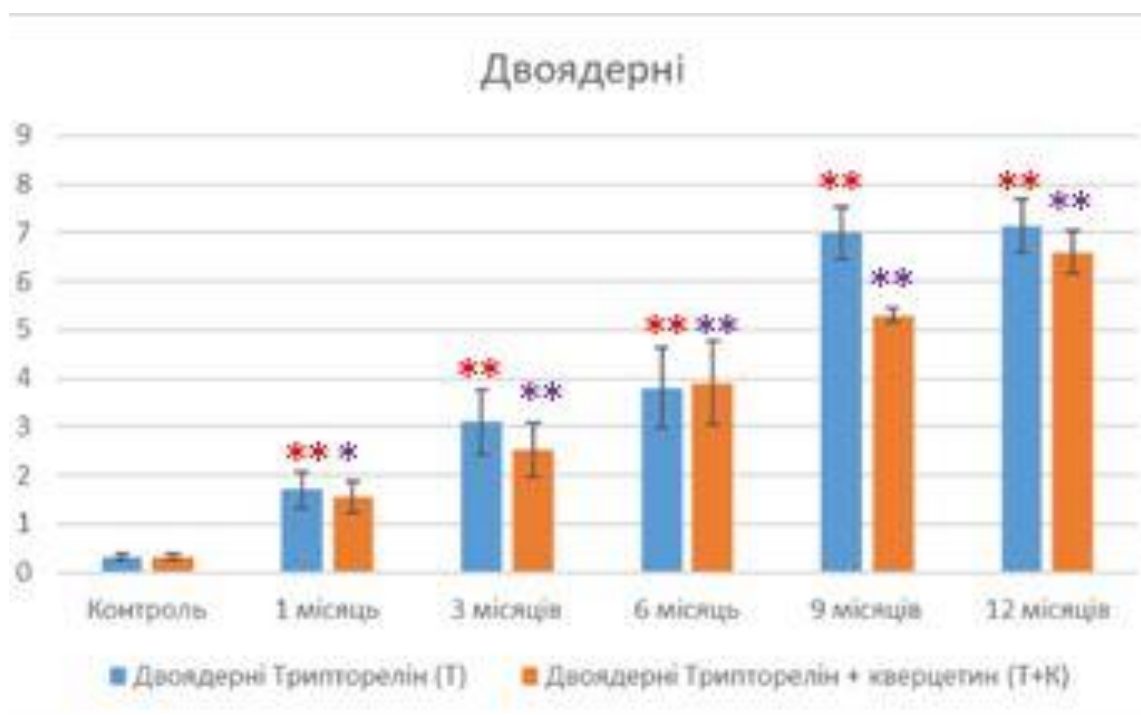


Рис. 7.5. Динаміка показника двоядерних гепатоцитів печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

Є кілька гіпотез пояснення поліплоїдії. Деякі припускають, що плідність печінки необхідна для поліпшення функції гепатоцитів. Поліплоїд може дозволити збільшити в два або чотири рази експресію деяких генів і тим самим посилити певні метаболічні функції. Однак порівняння профілів експресії генів ізольованих диплоїдів, тетраплід і

октаплоїдів за допомогою аналізу мікрочіпів показало, що тільки 50 генів-кандидатів з широкого спектру різних біологічних процесів були виражені по-різному.

Поліплоїдно-активовані гени присутні у всіх основних специфічних функціях печінки, включаючи азотний обмін, синтез білка, підтримання окисного та відновного стану, ксенобіотичний метаболізм та імунітет. Встановлено схильність поліплоїдних гепатоцитів до збільшення виробництва анаеробної енергії шляхом виробництва АТФ з вуглеводів, а не жирних кислот, що свідчить про те, що поліплоїдія пов'язана з переходом специфічних для печінки функцій у режим економії, замість того, щоб вставляти їх у поділ клітини.

Згідно з іншими гіпотезами, поліплоїдія забезпечує захист гепатоцитів від окисативного стресу і генотоксичного пошкодження. Поліплоїдні набори хромосом можуть служити буфером проти мутацій, які інактивують гени шкідливими для ДНК агентами. Наприклад, ранні пухлинні ураження в печінці характеризуються збільшенням диплоїдних клітин, менш захищених від мутацій, ніж поліплоїдні клітини печінки. Примітно, що порівняння диплоїдних і поліплоїдних гепатоцитів в геномному масштабі показує, що поліплоїди індують гени, спрямовані проти патогенів, пошкодження ДНК і окисного стресу, і пригнічують гени, що сприяють апоптозу. Крім того, прогресивна поліплоїдизація дозволяє печінці адаптуватися до втрати клітин під час процесу старіння або може бути захисною відповіддю на накопичення пошкодженої ДНК. При патологічних станах, що супроводжуються втратою функції печінки, печінка здатна компенсувати свою втрату маси за рахунок збільшення кількості геномів.

В нашій роботі ми спостерігали тенденцію до поступового наростаючого збільшення кількості ядерців та ядер гепатоцитів на всіх сроках експерименту в обох експериментальних групах. Що на нашу думку свідчить про компенсаторну дію в додаванні в раціон харчування піддослідних тварин препарату кверцетину який завдяки своїм

вазопротекторним та антиоксидантним властивостям, зниженню запального процесу в ендотелії та в гепатоцитах сприяючи підвищенню рівня оксиду азоту.

Четвертим етапом було дослідження фігур мітозу в тканинах печінки та розповсюдженості ензиму каспаза-3 в тканинах печінки.

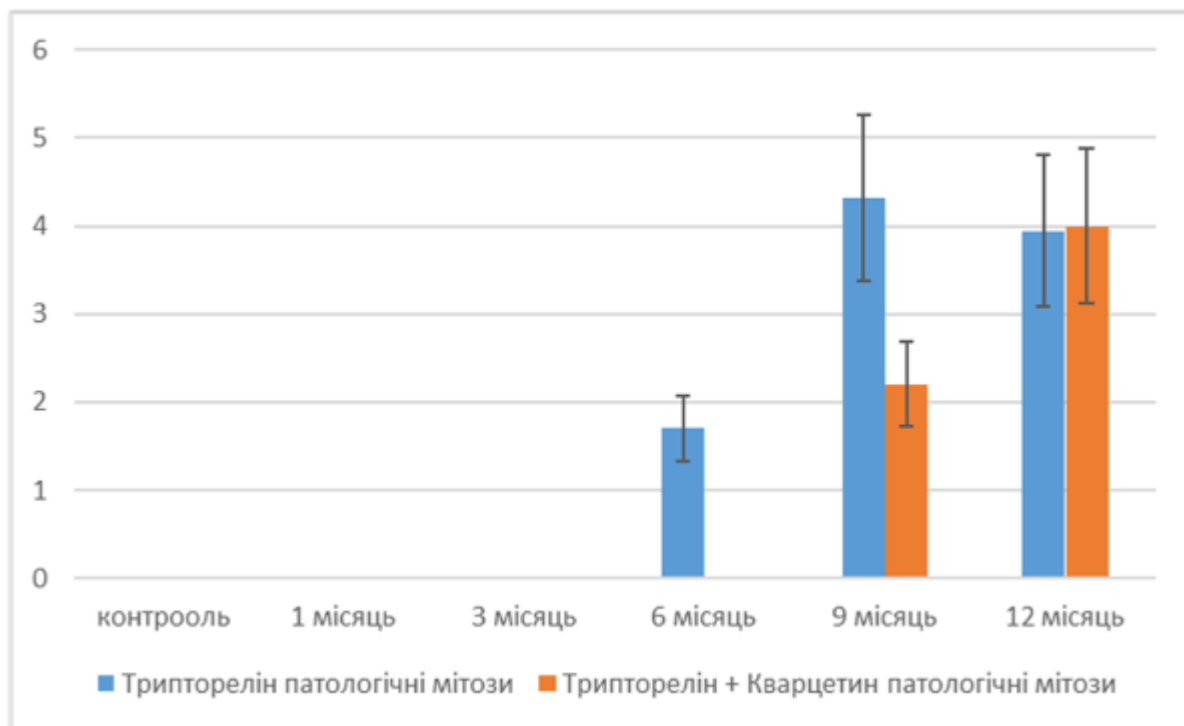


Рис. 7.6. Динаміка показника мітозів в полі зору в гепатоцитах печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

Так при візуальному обстеженні напівтонких зрізів печінки двох експериментальних групах фігур мітозу до 6-го місяця спостереження нами не виявлено, у групі «Т» різке підвищення до близько 1-2 одиниці в полі зору. У групі з додаванням кверцетину фігури мітозу в гепатоцитах виявлялись 1-2 в полі зору тільки на 9-й місяць спостереження. У групі «т + к» (помаранчевий) значно більше 4-5 в полі зору. На 12-й місяць спостереження показник статистично достовірно схожий в обох експериментальних групах.

Отже, трипторелін призводить до значного зростання патологічних мітозів у печінці, що може свідчити про порушення клітинного поділу. Кверцетин частково знижує патологічні мітози, що вірогідно на 9-й місяць, однак на 12 місяці показники груп зрівнюються, що може свідчити про виснаження його захисного ефекту.

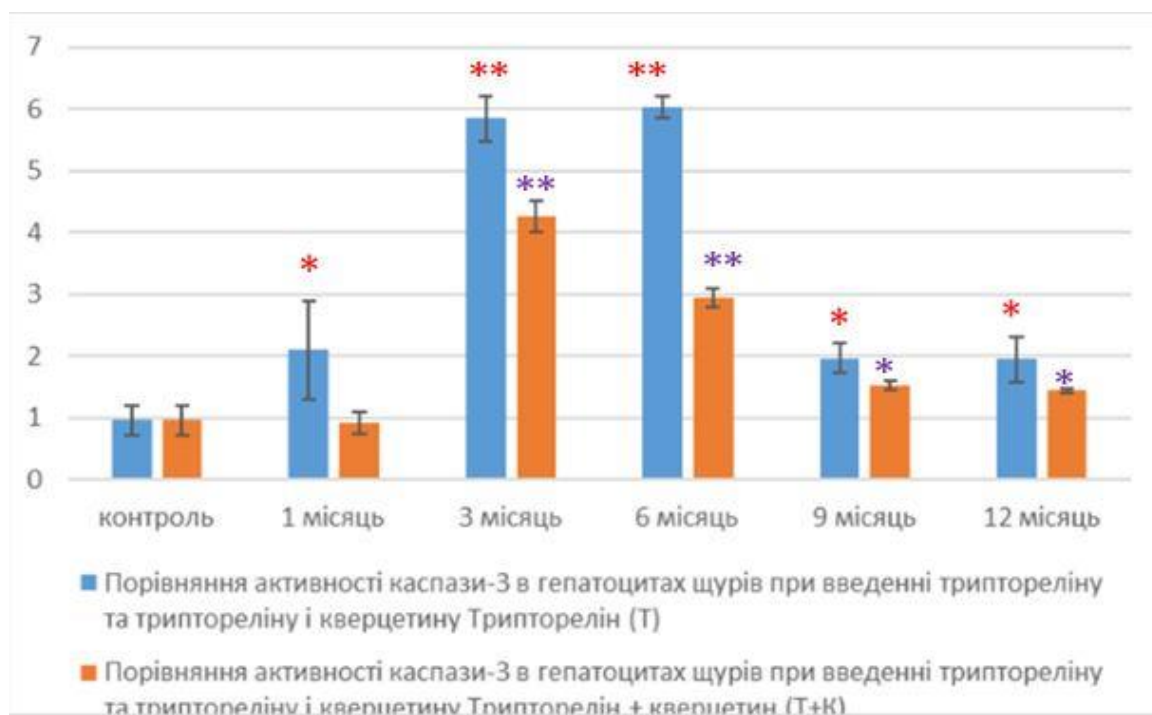


Рис. 7.7. Динаміка активності каспази-3 в гепатоцитах печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном та з додаванням кверцетину. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

На початкових стадіях апоптозу спостерігається конденсація хроматину з утворенням повних або неповних кілець уздовж внутрішньої поверхні ядерної мембрани. Мішенями каспаз у ядрі є ламіни, полі-АДФ-рибозилполімераза, білок ретинобластоми, ДНК-залежна протеїнкіназа та інші білки. Водночас відбувається фрагментація ДНК. Мітохондрії та ендоплазматичний ретикулум формують агрегати, залишаючись при цьому інтактними. Згодом відбувається фрагментація ядер і цитоплазми, ретракція клітин та утворення структур, що містять інтактні органели.

Динаміка апоптозу протягом експерименту: На 1-му місяці рівень каспази-3 зріс у 2,1 рази порівняно з контролем ($p < 0,01$). На 3-му місяці активність ферменту продовжувала зростати в обох експериментальних групах ($5,84 \pm 0,36$ у групі триптореліну, $4,26 \pm 0,26$ у на 9-му та 12-му місяцях відзначалося зниження рівня каспази-3, однак показник залишався вищим, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$).

Додавання кверцетину в раціон тварин сприяло зменшенню активності каспази-3 у порівнянні з групою триптореліну без додаткового введення антиоксиданту. Найбільша відмінність спостерігалася на 6-му місяці ($2,94 \pm 0,16$ проти $6,02 \pm 0,18$ у групі триптореліну; $p < 0,01$).

Кількість гепатоцитів, що перебували в стані апоптозу, залишалася стабільною після 9-го місяця експерименту, проте не поверталася до показників контрольної групи, що може свідчити про довготривалі ефекти блокади ЛГ на печінкову тканину.

Наше дослідження підтвердило, що тривале введення триптореліну призводить до активації апоптозу в печінці, про що свідчить підвищена експресія каспази-3. Введення кверцетину знижувало апоптотичну активність, що вказує на його потенційний гепатопротекторний ефект у даній експериментальній моделі.

Значне збільшення патологічних мітозів відзначається в тканинах зі злоякісною трансформацією. Існують різні погляди на значення поліплоїдії: вона може захищати гепатоцити від пошкодження генетичного матеріалу, збільшуючи кількість копій генів, що важливо для детоксикаційної функції печінки. поліплоїдія може бути енергозберігаючою адаптацією, що дозволяє органу функціонувати на межі своїх можливостей без активного клітинного поділу. зміни в копійності геному можуть впливати на експресію певних генів, що сприяє метаболічній пластичності та виживанню клітин у стресових умовах. При хронічних ураженнях печінки одночасно реалізуються програми фіброгенезу, неопластичної трансформації, апоптозу та регенерації клітинного потенціалу. Їхні механізми та строки

реалізації є індивідуальними і потребують подальшого вивчення. Оптимізація морфологічної діагностики хронічних уражень печінки має базуватися на комплексному аналізі клітинних популяцій у поєднанні з іншими показниками.

Отже, печінка є єдиним органом, який модулює вміст плоїдності як протягом свого життя так і після різних видів стресу. У сукупності наші результати свідчать про те, що зміна профілю плоїдності тепер можна розглядати як нову ознаку метаболічних порушень печінки.

Наступний етап (п'ятий) – з'ясування механізму розвитку оксидативного стресу в печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

При моделюванні блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном ми спостерігали статистично значуще підвищення продукції супероксидного аніон-радикалу (САР) в печінці щурів на всіх термінах експерименту відносно контрольної групи тварин. Наукова література наводить обмежену кількість даних щодо наявності прямого токсичного впливу триптореліну на тканини печінки. Проте дослідження Zou S. та інш. у 2024 наводить дані власного аналізу застосування триптореліну у пацієнтів та вказує, що препарат в рекомендованих дозах має 6 побічних ефектів, які не описані у паспорті препарату [171]. Тому описані нами зміни у продукції можуть бути пов'язані із гормональними змінами в організмі, які провокуються введенням триптореліну.

Основним фармакологічним ефектом застосування триптореліну є зниження продукції гонадотропних гормонів гіпофізом. Наша експериментальна модель включала в себе дослідження виключно самців лінії «Вістар», тому головним ефектом триптореліну буде зниження продукції саме лютеїнізуючого гормону [172]. Варто зазначити, що дія триптореліну є двофазною та на початку його введення (до 1 тижня) може спостерігатись підвищення рівнів лютеїнізуючого гормону в крові, що

пов'язано із особливостями його фармакодинаміки [173]. Проте наше дослідження охоплює тривалі терміни (>30 діб) застосування триптореліну, тому вплив першої фази його фармакологічної активності є мінімальним.

Лютеїнізуючий гормон за фізіологічних умов стимулює інтерстиціальні ендокриноцити сім'яників (клітини Лейдіга) до утворення тестостерону, тому за умов блокади продукції лютеїнізуючого гормону відбудеться і різке зниження рівнів тестостерону в організмі, що є переважаючою метою при застосування триптореліну [174].

Системний дефіцит тестостерону в організмі може бути етіологічним фактором посилення продукції активних форм кисню (АФК) у печінці [175]. Варто зауважити, що дефіцит тестостерону призводить до посиленого утворення АФК не тільки в сім'яниках щурів, а й у віддалених органах, таких як серце [176]. А введення тестостерону при його дефіциті сприяє зменшенню продукції АФК та посилює антиоксидантний захист тканин [177].

Дефіцит тестостерону призводить до розвитку жирової хвороби печінки та сприяє розвитку запалення [178, 179]. За умов недостатнього рівня тестостерону в крові розвивається гіперхолістеринемія внаслідок змін у функціонуванні AR/PCSK9/LDLR шляху [180]. На фоні накопичення ліпідів у тканинах печінки дефіцит тестостерону призводить до активації загибелі клітин печінки ферроптозом [181]. Ферроптоз характеризується одночасним надмірним утворенням кисневих вільних радикалів в реакції Фентона та накопиченням великої кількості радикалів поліненасичених жирних кислот (PUFA). Важливим регулятором ферроптозу є глутатіонпероксидаза-4 (КФ 1.11.1.9, ГПР-4), яка запобігає розгалуженню реакції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) за рахунок ліквідації кисневих радикалів та радикалів PUFA [182]. ГПР-4 також бере участь у синтезі тестостерону в клітинах Лейдіга під впливом лютеїнізуючого гормону [183]. В науковій літературі наведені дані щодо здатності тестостерону стимулювати активність та експресію генів глутатіонпероксидаз [184].

Тому за умов дефіциту тестостерону можливий розвиток ферроптозу за рахунок зниження активності ГПР-4.

Результати наших досліджень вказують на зростання стимульованої продукції САР від мікосомального електроно-транспортного ланцюга (мкЕТЛ) в печінці щурів з першого місяця блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. Такі зміни можуть бути пов'язані із активацією системи цитохромів печінки, особливо сімейства р450. Причиною надмірної активації цього сімейства цитохромів є не трипторелін, а активація, в умовах дефіциту тестостерону, транскрипційного фактора NF-κB [185, 186]. Тестостерон, у свою чергу може блокувати активацію транскрипційного фактора NF-κB, що може зменшувати продукцію САР від мкЕТЛ [187].

Іншим негативним наслідком надмірної активації транскрипційного фактора NF-κB є посилення експресії індукцибельної ізоформи NO-синтази (К.Ф. 1.14.13.39, iNOS) [188]. За умов надмірної активації або посиленої експресії iNOS можливим є виникнення дефіциту субстрату (L-аргінін) та коферменту (тетрагідробіоптерин, BH₄), що призведе до «роз'єднання спряження» (англ. Uncoupling) цього ферменту. Фермент iNOS, який знаходиться в стані «роз'єднання спряження» продовжує використовувати донори електронів клітини (переважно НАДФН відновлений) та кисень, проте змінює свій продукт реакції з монооксиду азоту (NO) на супероксидний аніон-радикал [189].

Дефіцит тестостерону також впливає на функціональний стан мітохондрій, що призводить до зростання продукції САР від мітохондріального електроно-транспортного ланцюга (мтЕТЛ) [190, 191]. Екзогенне введення тестостерону до організму призводить до покращення роботи мітохондрій та зменшення утворення САР від мтЕТЛ [192]. Основними механізмами позитивного впливу тестостерону на мітохондрії є активація транскрипційних каскадів Nrf-2/ARE та AMPK [193, 194]. Тестостерон-індукована активація каскаду Nrf-2/ARE сприяє посиленню антиоксидантного захисту мітохондрій та зменшує ушкодження мембран

мітохондрій, яке спричинюється надмірною продукцією САР від мТЕТЛ [195]. Як вже зазначалось вище, за умов тривалої блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном розвивається жирова хвороба печінки, що може бути наслідком зменшення активності АМРК, яка активує ліполіз та посилює утилізацію енергетичних метаболітів з метою збільшення утворення АТФ [196].

З першого місяця експерименту в серії груп блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном спостерігається зниження активності антиоксидантних ферментів в печінці щурів. Піком зниження активності ферментів є саме 1 місяць моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном, що може свідчити про втрату стимуляції синтезу ферментів, яка за фізіологічних умов забезпечувалась впливом тестостерону на вісь Nrf-2/ARE, під прямим контролем якої знаходяться гени СОД та каталази. Динаміка зростання інтенсивності перекисного окиснення ліпідів, про що свідчить зростання концентрації МДА, в печінці щурів підчас моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном відповідає такій, що спостерігалась в базовій продукції САР, що свідчить про більшу залежність інтенсивності ПОЛ саме від продукції АФК.

Патогенез змін в печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном зображений на Рис. 7.1.1.



Рис. 7.1.1 Патогенетична схема розвитку оксидативного ушкодження печінки за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном (пояснення в тексті).

Шостий етап – з'ясування механізми впливу водорозчинної форми кверцетину на параметри оксидативного стресу в печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном.

Застосування водорозчинної форми кверцетину (корвітин) за даними нашого дослідження суттєво знижує продукцію АФК у печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном. За

отриманими даними знижується як базова продукція САР, так і його продукція від мкЕТЛ та мтЕТЛ. Причинами зменшення продукції САР може бути пряма антиоксидантна дія кверцетину як поліфенольної сполуки, що здатна поглинати надлишкові електрони присутні у кисневих вільних радикалів загальною електронною хмарою фенольних кілець (Рис. 7.2.1).

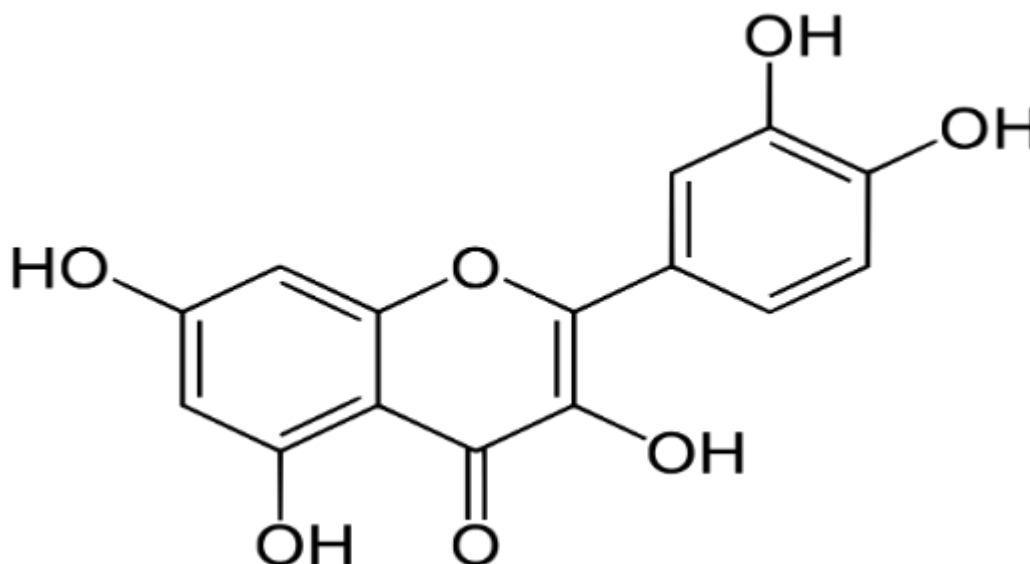


Рис. 7.2.1. Структурна формула кверцетину.

Наявність прямих антиоксидантних властивостей кверцетину підтверджується даними наукової літератури [197-200]. Також кверцетин здатен впливати на перебіг ферроптозу за рахунок посилення активності ГПР-4 [201, 202].

За даними наших досліджень, введення водорозчинної форми кверцетину за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном призводить до посилення активності антиоксидантних ферментів в печінці щурів. Кверцетин здатен посилювати активність антиоксидантних ферментів у різних органах за рахунок активації транскрипційних каскадів Nrf-2/ARE та SIRT/Nrf-2 [203-205]. Під контролем генів ARE (antioxidant responsive element) знаходяться антиоксидантні ферменти, такі як СОД, каталаза та ГПР-4. Оскільки тестостерон стимулює активність ГПР-4, яка необхідна клітинам Лейдіга для синтезу тестостерону, то кверцетин може частково компенсувати

недостатність лютеїнізуючого гормону посилюючи синтез тестостерону [206- 211].

Сумарний механізм впливу кверцетину на зміни в печінці щурів за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном зображений на Рис. 7.2.2.

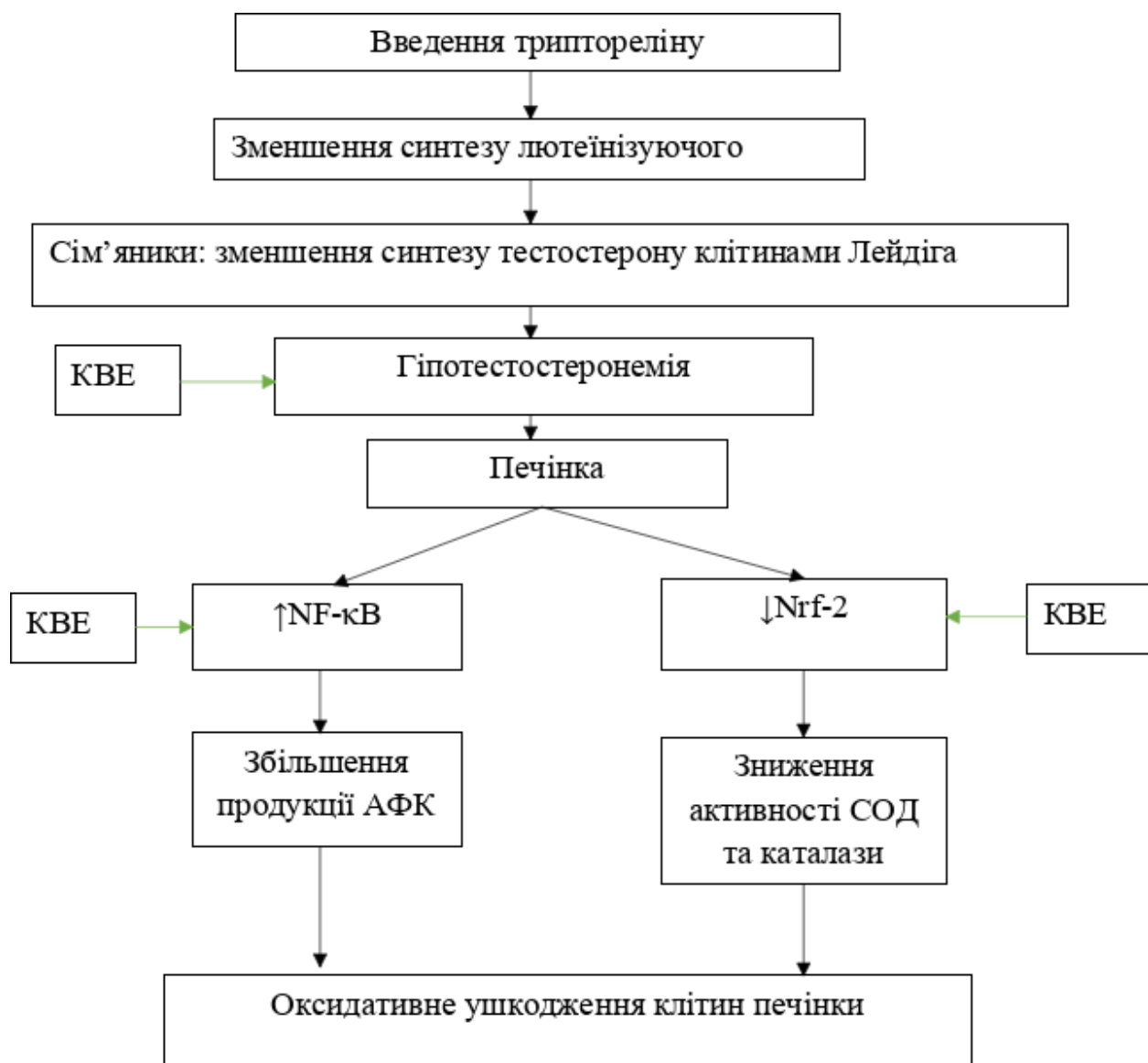


Рис. 7.2.2. Схема впливу кверцетину на розвиток оксидативного ушкодження печінки за умов блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном (пояснення в тексті). Примітка: КВЕ – кверцетин.

Отже, печінка є єдиним органом, який модулює вміст плоїдності як протягом свого життя так і після різних видів стресу. У сукупності наші результати свідчать про те, що зміна профілю плоїдності тепер можна розглядати як нову ознаку метаболічних порушень печінки. Майбутні дослідження повинні бути спрямовані на розуміння наслідків патологічної поліплоїдизації під час дисгормональних порушень, пов'язаного наприклад з виробленням тестостерону, що є основною проблемою громадського здоров'я сьогодення.

ВИСНОВКИ:

У дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення та нове вирішення наукової задачі – комплексного дослідження динаміки структурних компонентів печінки, а саме ГМЦР та гепатоцитів печінки за умов моделювання блокади синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном з додаванням кверцетину.

1. При моделюванні пригнічення синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном уже на першому місяці дослідження спостерігаються порушення кровотоку в печінкових судинах. Судини печінкових триад зазнали статистично значущих змін ($41,75 \pm 1,26$ мкм, $48,37 \pm 1,04$ мкм, $14,61 \pm 0,79$ мкм) з максимумом на 9-й місяць спостереження ($78,34 \pm 2,37$ мкм, $73,29 \pm 2,62$ мкм, $15,45 \pm 1,52$ мкм) в порівнянні з контрольною групою. Виявляються зміни морфологічних властивостей печінки, що спричиняє значну перебудову її структури. Це проявляється дезорганізацією судинної архітектури, зміною кількісного співвідношення між одноядерними, двоядерцевими і двоядерними гепатоцитами, зокрема поступовим збільшенням кількості двоядерних гепатоцитів ($5,7 \pm 0,24$ та $7,14 \pm 0,55$) у полі зору з максимумом на 12-й місяць, а також змінами розмірів цитоплазми і ядер цих клітин. Така просторово-функціональна перебудова гепатоцитів зумовлена змінами у кровопостачанні печінки, центральні ділянки якої отримують менше кисню та поживних речовин, що змушує клітини адаптуватися шляхом зміни фенотипу. Порушення розподілу навантаження між різними зонами печінкової часточки призводить до того, що центральні клітини зазнають більшого стресового впливу, що може викликати їх ушкодження або зміну функціонального стану.

2. Блокування синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном у поєднанні з кверцетином викликає помітні морфометричні зміни в печінці

щурів. Виявлено поступове розширення діаметру артеріол, венул і синусоїдальних капілярів, що вказує на порушення циркуляції крові та трансформацію структури мікроциркуляторного русла з максимумом показників на 6-й місяць спостереження ($89,63 \pm 7,82$ мкм, $89,89 \pm 8,78$ мкм та $19,31 \pm 2,54$ мкм). Зафіксовано збільшення кількості двоядерцевих і двоядерних гепатоцитів (максимум на 12-й місяць - $5,3 \pm 0,156$, $6,6 \pm 0,44$) в полі зору, що є свідченням активації процесів регенерації в печінці. Відзначено зміни в розмірах ядер і цитоплазми гепатоцитів, що відображає захисно-адаптивні реакції клітин у відповідь на оксидативний стрес, що пов'язано з компенсаторними механізмами та підвищенням функціонального навантаження.

3. Тривале введення триптореліну призводить до активації апоптозу в печінці, про що свідчить підвищена експресія каспази-3 на ранніх стадіях експерименту (з 1-го до 3-го місяця). Введення кверцетину знижує апоптотичну активність одноядерцевих гепатоцитів, що вказує на його потенційний гепатопротекторний ефект у даній експериментальній моделі.

4. Блокада синтезу лютеїнізуючого гормону триптореліном у період від 1-го до 12-го місяця призводить до розвитку оксидативного ушкодження тканин печінки щурів на всіх досліджуваних етапах за рахунок посиленої генерації активних форм кисню та зниження рівня антиоксидантного захисту. Застосування водорозчинної форми кверцетину в умовах блокади синтезу лютеїнізуючого гормону є ефективним засобом корекції оксидативного ушкодження тканин печінки.

5. Корируючий вплив водорозчинної форми кверцетину зумовлює зменшення структурних змін у печінці при патологічному впливі дисгормонального стану центрального походження "гіпоталамус – гіпофіз – сім'яники – тестостерон – печінка", що впливає на рівень плоідності клітин після дії різних стресорних чинників.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ:

Отримані дані є теоретичною передумовою для розробки діагностичного алгоритму вивчення біоптатів печінки для морфологічної експрес-діагностики ступеня адаптаційних і компенсаторних резервів тканин органа при патологічних процесах. Отримані нові наукові дані щодо використання біофлаваноїду кверцетину, який ефективно зменшує гіпоксичне ушкодження печінки при дисгормональному розладі, про що свідчить зниження вмісту малонового діальдегіду на всіх термінах експерименту порівняно із показниками групи введення триптореліну. Отримані результати визначають важливість вивчення структурної організації паренхіми печінки, а саме в зміні кількості ядер та ядерців гепатоцитів в процесів дисгормонального розладу захищають від оксидативного стресу і гепатоксичного пошкодження клітини і збільшують транскрипційні моменти в процесі поділу, росту, проміжного обміну речовин, синтезу білка і його диференціювання.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Abegunde D.O. et al., 2007; Князевич В.М., Москаленко В.Ф (ред.), 2009; World Health Organization, 2010
2. Nadler R.B., Humphrey P.A., Smith D.S., Catalona W.J., Ratliff T.L. Effect of inflammation and benign prostatic hyperplasia on elevated serum prostate specific antigen levels. J Urol. 1995. Vol. 154. P. 407– 413.
3. Basaria S, Dobs AS. Hypogonadism and androgen replacement therapy in elderly men. Am J Med 2001; 110: 563–572. doi: dx.doi.org/10.1016/S0002-9343(01)00663-5.
4. Mooradian AD, Morey JE, Korenman SG. Biological actions of androgens. Endocrinol Rev 1987; 8: 1–28. doi: dx.doi.org/10.1210/edrv-8-1-1.
5. Andrology. [Eds. E. Nieschlag, H.M. Behre]. 2nd Edition Male Reproductive Health and Dysfunction, 2001: 52-70.
6. Aub JC. Endocrines: The Use of Testosterone. N Engl J Med 1940;222(21):877-881. doi: 10.1056/nejm194005232222104 .
7. Brien, J.C., et al. Preoperative hydronephrosis, ureteroscopic biopsy grade and urinary cytology can improve prediction of advanced upper tract urothelial carcinoma. J Urol, 2010. 184: 69.
8. Marchioni, M., et al. Impact of diagnostic ureteroscopy on intravesical recurrence in patients undergoing radical nephroureterectomy for upper tract urothelial cancer: a systematic review and meta-analysis. BJU Int, 2017. 120: 313.

9. Guo, R.Q., et al. Impact of ureteroscopy before radical nephroureterectomy for upper tract urothelial carcinomas on oncological outcomes: a meta-analysis. *BJU Int*, 2018. 121: 184.
10. Lee, H.Y., et al. The diagnostic ureteroscopy before radical nephroureterectomy in upper urinary tract urothelial carcinoma is not associated with higher intravesical recurrence. *World J Surg Oncol*, 2018. 16: 135.
11. Khmil, M. S., Khmil, S. V., Chudiyovych, N. Y., & Khmil-Doswald, A. S. (2019).
12. Порівняльна характеристика протоколів стимуляції овуляції з використанням агоністів та антагоністів гонадотропін-рилізінг-гормонів у програмах допоміжних репродуктивних технологій (огляд літератури). *Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України*, (4), 90–96.
13. Жук С. І., Грищенко М. Г., Стрелко Г. В., Сіренко В. Ю., Веселовський В. В., Сучасні принципи контрольованої стимуляції яєчників»: Методичні рекомендації. Київ: Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, 2013. 23 с.
14. Soloviov, S. O., Stakhovsky, E. O., Leleka, M. V., & Hladkykh, F. V. (2022). Cost minimization and budget impact analysis of the use of a new 6-month form of triptorelin in the treatment of patients with prostate cancer in Ukraine. *Farmatsevtichnyi Zhurnal*, (6), 40-52.
15. Babjuk, M., et al. EAU Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (T1, T1 and CIS), in EAU Guidelines, Edn. presented at the 35th EAU Annual Congress Amsterdam. 2020, EAU Guidelines Office.

16. Witjes, J.A., et al. EAU Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer in EAU Guidelines, Edn. presentat at the 35th EAU Annual Congress Amsterdam. 2020, EAU Guidelines Office
17. Gakis, G., et al. EAU Guidelines on Primary Urethral Carcinoma, in EAU Guidelines, Edn. presented at the 35th EAU Annual Congress, Amsterdam. 2020, EAU Guidelines Office
18. Takahashi, N., et al. Gadolinium enhanced magnetic resonance urography for upper urinary tract malignancy. J Urol, 2010. 183: 1330.
19. Варенюк І.М., Дзержинський М.Е. Методи цито-гістологічної діагностики: навчальний посібник.– Київ: Інтерсервіс, 2019.– 256 с.
20. Bhandarkar, N. S., Kumar, S. A., Martin, J., Brown, L., Panchal, S. K. (2018). Attenuation of metabolic syndrome by EPA/DHA ethyl esters in testosterone-deficient obese rats. Mar Drugs, (16(6), 182. <https://doi.org/10.3390/md16060182>
21. Wang, X., Huang, L., Jiang, S., Cheng, K., Wang, D., Luo, Q., Wu, X., Zhu, L. (2021). Testosterone attenuates pulmonary epithelial inflammation in male rats of COPD model through preventing NRF1-derived NF-κB signaling. J Mol Cell Biol. mjaa079. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjaa079>.
22. Гістологія. Цитологія. Ембріологія. Національний підручник // Луцик О.Д., Чайковський Ю.Б.
23. Crawford ED, Schally AV. The role of FSH and LH in prostate cancer and cardiometabolic comorbidities. Can J Urol. 2020 Apr;27(2):10167-10173. PMID: 32333736.
24. Fernandes Corrêa RA, Ribeiro Júnior RF, Mendes SBO, Dos Santos PM, da Silva MVA, Silva DF, Biral IP, de Batista PR, Vassallo DV, Bittencourt AS, Stefanon I, Fernandes AA. Testosterone deficiency reduces the effects of late

cardiac remodeling after acute myocardial infarction in rats. PLoS One. 2019 Mar 21; 14(3):e0213351. doi: 10.1371/journal.pone.0213351.

25. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. — Х., 2000.

26. Аспекти безпеки замісної терапії препаратами тестостерону у чоловіків із цукровим діабетом 2-го типу і тестостероновою недостатністю. Лучицький В.Є., Тронько М.Д., Лучицький Є.В. ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, Україна. DOI: 10.22141/2224-0721.15.2.2019.166099

27. Гіпогонадизм, індукований прийомом анаболічних стероїдів (огляд літератури) Лучицький Є.В. ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, Україна DOI: 10.22141/2224-0721.15.3.2019.172112

28. do Val Lima, P. R., Ronconi, K. S., Morra, E. A., Rodrigues, P. L., Ávila, R. A., Merlo, E., & Ribeiro Júnior, R. F. (2023). Testosterone deficiency impairs cardiac interfibrillar mitochondrial function and myocardial contractility while inducing oxidative stress. Frontiers in Endocrinology, 14, 1206387. doi: 10.3389/fendo.2023.1206387

29. Huang, Y. P., Peng, C., & Peter, R. E. (1991). Metabolism of gonadotropin-releasing hormone in goldfish: serum clearance and tissue uptake studies. General and comparative endocrinology, 84(1), 67-75. doi: 10.1016/0016-6480(91)90065-e

30. Akseh S, Karimi MA, Safaie N, Valizadeh A, Rahmanpour D, Pezeshkian M, Nouri M, Faridvand Y, Jodati A. The serum levels of testosterone in coronary artery disease patients; relation to NO, eNOS, endothelin-1, and disease severity. Horm Mol Biol Clin Investig. 2021 Sep 9. doi: 10.1515/hmbci-2021-0026

31. Quercetin and Cancer Chemoprevention. Lara Gibellini,¹ Marcello Pinti,¹ Milena Nasi,¹ Jonas P. Montagna,¹ Sara De Biasi,¹ Erika Roat,¹ Linda Bertoncelli,¹ Edwin L. Cooper,² and Andrea Cossarizza Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2011, Article ID 591356, 15 pages doi:10.1093/ecam/nej053

32. Multitargeted cancer prevention by quercetin. Author links open overlay panel Akira Murakami a 1, Hitoshi Ashida b 1, Junji Terao. Cancer Letters Volume 269, Issue 2, 8 October 2008, Pages 315-325 <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.03.046>

33. Baba RA, Mir HA, Mokhdomi TA, Bhat HF, Ahmad A, Khanday FA. Quercetin suppresses ROS production and migration by specifically targeting Rac1 activation in gliomas. *Front Pharmacol.* 2024 Jan 31;15:1318797. doi: 10.3389/fphar.2024.1318797.

34. Han X, Xu T, Fang Q, Zhang H, Yue L, Hu G, Sun L. Quercetin hinders microglial activation to alleviate neurotoxicity via the interplay between NLRP3 inflammasome and mitophagy. *Redox Biol.* 2021 Aug;44:102010. doi: 10.1016/j.redox.2021.102010

35. Yang J, Lin S, Zhang Y, Wu G, Yang Q, Lv Q, Hu J. Taurine Improves Sexual Function in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Adv Exp Med Biol.* 2017; 975 Pt 1:307-318. doi: 10.1007/978-94-024-1079-2_27.

36. Zhao, H., Morimoto, T., Sasa, M., Tanaka, T., and Izumi, K. Immunohistochemical expression of uPA, PAI-1, cathepsin D and apoptotic cells in ductal carcinoma in situ of the breast. *Breast Cancer*, 9: 118–126, 2002.

37. Parton, M., Krajewski, S., Smith, I., Krajewska, M., Archer, C., Naito, M., Ahern, R., Reed, J., and Dowsett, M. Coordinate expression of apoptosis-associated proteins in human breast cancer before and during chemotherapy. *Clin. Cancer Res.*, 8: 2100–2108, 2002.

38. Orth, J.D., Loewer, A., Lahav, G., and Mitchison, T.J. (2012). Prolonged mitotic arrest triggers partial activation of apoptosis, resulting in DNA damage and p53 induction. *Mol. Biol. Cell* 23, 567–576
39. Chen, L., Park, S.M., Tumanov, A.V., Hau, A., Sawada, K., Feig, C., Turner, J.R., Fu, Y.X., Romero, I.L., Lengyel, E., and Peter, M.E. (2010). CD95 promotes tumour growth. *Nature* 465, 492–496
40. Fujioka, M., Tokano, H., Fujioka, K.S., Okano, H., and Edge, A.S. (2011). Generating mouse models of degenerative diseases using Cre/lox-mediated in vivo mosaic cell ablation. *J. Clin. Invest.* 121, 2462–2469
41. Hanahan, D., and Weinberg, R.A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646–674
42. Bhandarkar, N. S., Kumar, S. A., Martin, J., Brown, L., Panchal, S. K. (2018). Attenuation of metabolic syndrome by EPA/DHA ethyl esters in testosterone-deficient obese rats. *Mar Drugs*, (16(6), 182
43. Wang, X., Huang, L., Jiang, S., Cheng, K., Wang, D., Luo, Q., Wu, X., Zhu, L. (2021). Testosterone attenuates pulmonary epithelial inflammation in male rats of COPD model through preventing NRF1-derived NF-κB signaling. *J Mol Cell Biol.* mjaa079.
44. Гістологія. Цитологія. Ембріологія. Національний підручник // Луцик О.Д., Чайковський Ю.Б.
45. Crawford ED, Schally AV. The role of FSH and LH in prostate cancer and cardiometabolic comorbidities. *Can J Urol.* 2020 Apr;27(2):10167-10173. PMID: 32333736
46. Fernandes Corrêa RA, Ribeiro Júnior RF, Mendes SBO, Dos Santos PM, da Silva MVA, Silva DF, Biral IP, de Batista PR, Vassallo DV, Bittencourt AS, Stefanon I, Fernandes AA. Testosterone deficiency reduces the effects of late

cardiac remodeling after acute myocardial infarction in rats. PLoS One. 2019 Mar 21; 14(3):e0213351. doi: 10.1371/journal.pone.0213351

47. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. *Біологічна хімія*. — Х., 2000

48. Аспекти безпеки замісної терапії препаратами тестостерону у чоловіків із цукровим діабетом 2-го типу і тестостероновою недостатністю. *Лучицький В.Є., Тронько М.Д., Лучицький Є.В. ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, Україна. DOI: 10.22141/2224-0721.15.2.2019.166099*

49. Гіпогонадизм, індукований прийомом анаболічних стероїдів (огляд літератури) *Лучицький Є.В. ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, Україна DOI: 10.22141/2224-0721.15.3.2019.172112*

50. do Val Lima, P. R., Ronconi, K. S., Morra, E. A., Rodrigues, P. L., Ávila, R. A., Merlo, E., ... & Ribeiro Júnior, R. F. (2023). Testosterone deficiency impairs cardiac interfibrillar mitochondrial function and myocardial contractility while inducing oxidative stress. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1206387. doi: 10.3389/fendo.2023.1206387

51. Huang, Y. P., Peng, C., & Peter, R. E. (1991). Metabolism of gonadotropin-releasing hormone in goldfish: serum clearance and tissue uptake studies. *General and comparative endocrinology*, 84(1), 67-75. doi: 10.1016/0016-6480(91)90065-e

52. Akseh S, Karimi MA, Safaie N, Valizadeh A, Rahmanpour D, Pezeshkian M, Nouri M, Faridvand Y, Jodati A. The serum levels of testosterone in coronary artery disease patients; relation to NO, eNOS, endothelin-1, and disease severity. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2021 Sep 9. doi: 10.1515/hmbci-2021-0026.

53. Quercetin and Cancer Chemoprevention. Lara Gibellini,¹ Marcello Pinti,¹ Milena Nasi,¹ Jonas P. Montagna,¹ Sara De Biasi,¹ Erika Roat,¹ Linda Bertoncelli,¹ Edwin L. Cooper,² and Andrea Cossarizza Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2011, Article ID 591356, 15 pages doi:10.1093/ecam/nej053

54. Multitargeted cancer prevention by quercetin. Author links open overlay panel Akira Murakami a 1, Hitoshi Ashida b 1, Junji Terao. Cancer Letters Volume 269, Issue 2, 8 October 2008, Pages 315-325 <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.03.046>

55. Baba RA, Mir HA, Mokhdomi TA, Bhat HF, Ahmad A, Khanday FA. Quercetin suppresses ROS production and migration by specifically targeting Rac1 activation in gliomas. *Front Pharmacol.* 2024 Jan 31;15:1318797. doi: 10.3389/fphar.2024.1318797.

56. Han X, Xu T, Fang Q, Zhang H, Yue L, Hu G, Sun L. Quercetin hinders microglial activation to alleviate neurotoxicity via the interplay between NLRP3 inflammasome and mitophagy. *Redox Biol.* 2021 Aug;44:102010. doi: 10.1016/j.redox.2021.102010

57. Zhao, H., Morimoto, T., Sasa, M., Tanaka, T., and Izumi, K. Immunohistochemical expression of uPA, PAI-1, cathepsin D and apoptotic cells in ductal carcinoma in situ of the breast. *Breast Cancer*, 9: 118–126, 2002.

58. Parton, M., Krajewski, S., Smith, I., Krajewska, M., Archer, C., Naito, M., Ahern, R., Reed, J., and Dowsett, M. Coordinate expression of apoptosis-associated proteins in human breast cancer before and during chemotherapy. *Clin. Cancer Res.*, 8: 2100–2108, 2002

59. Orth, J.D., Loewer, A., Lahav, G., and Mitchison, T.J. (2012). Prolonged mitotic arrest triggers partial activation of apoptosis, resulting in DNA damage and p53 induction. *Mol. Biol. Cell* 23, 567–576.

60. Chen, L., Park, S.M., Tumanov, A.V., Hau, A., Sawada, K., Feig, C., Turner, J.R., Fu, Y.X., Romero, I.L., Lengyel, E., and Peter, M.E. (2010). CD95 promotes tumour growth. *Nature* 465, 492–496
61. Fujioka, M., Tokano, H., Fujioka, K.S., Okano, H., and Edge, A.S. (2011). Generating mouse models of degenerative diseases using Cre/lox-mediated in vivo mosaic cell ablation. *J. Clin. Invest.* 121, 2462–2469
62. Hanahan, D., and Weinberg, R.A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646–674
63. Павловський А. С. Морфометрична картина печінки при неалкогольній жировій хворобі печінки, поєднаній із цукровим діабетом типу 2. *Військова медицина України*. 2018. №2(18). С. 56-61.
64. Рябоконт О. В., Білокобила С. О., Фірюліна О. М., Рябоконт Ю. Ю. Особливості ураження печінки у дорослих хворих на кір залежно від тяжкості перебігу. *Гепатологія*. 2019. № 1. С. 47-55.
65. Cichoż-Lach, H., & Michalak, A. (2014). Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World journal of gastroenterology*, 20(25), 8082–8091. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i25.8082>
66. López-Luque, J., & Fabregat, I. (2018). Revisiting the liver: from development to regeneration - what we ought to know!. *The International journal of developmental biology*, 62(6-7-8), 441–451. <https://doi.org/10.1387/ijdb.170264JL>
67. Богданов ПВ. Морфологічні особливості печінки щурів після внутрішньоутробного введення антигену та глюкокортикоїду (анатомо-експериментальне дослідження) [дисертація]. Запоріжжя: Запорізький державний медичний університет; 2019. 214 с

68. Gissen, P., & Arias, I. M. (2015). Structural and functional hepatocyte polarity and liver disease. *Journal of hepatology*, 63(4), 1023–1037. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.06.015>
69. The Liver Biology and Pathobiology / eds : I. M. Arias, A. W. Wolkoff, J. L. Boyer et al. 5th ed. Singapore, 2009. 1191 p.
70. Vinnakota S., Jayasree N. A New Insight into the Morphology of the Human Liver: A Cadaveric Study. *ISRN Anatomy*. 2013. Vol. 2013, Article ID 689564, 6 p. URL : <http://dx.doi.org/10.5402/2013/689564>.
71. Vays, V., Vangeli, I., Eldarov, C., Popkov, V., Holtze, S., Hildebrandt, T., Averina, O., Zorov, D., & Bakeeva, L. (2022). Unique Features of the Tissue Structure in the Naked Mole Rat (*Heterocephalus glaber*): Hypertrophy of the Endoplasmic Reticulum and Spatial Mitochondrial Rearrangements in Hepatocytes. *International journal of molecular sciences*, 23(16), 9067. <https://doi.org/10.3390/ijms23169067>
72. Huppert S. S., Iwafuchi-Doi M. Molecular regulation of mammalian hepatic architecture. 2018. URL : 10.1016/bs.ctdb.2018.12.003.
73. Gartner LP. Color atlas and text of histology. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; [2018]. xii, 599 p
74. Metwally ES, Negm FA, Shams El-din RA, Nabil EM. Anatomical and Histological Study of the Effect of Lead on Hepatocytes of Albino Rats. *IJBMR*. 2015;3(4):34-45
75. Häussinger, D., & Kordes, C. (2019). Space of Disse: a stem cell niche in the liver. *Biological chemistry*, 401(1), 81–95. <https://doi.org/10.1515/hsz-2019-0283>

76. Qu, J., Wang, L., Li, Y., & Li, X. (2024). Liver sinusoidal endothelial cell: An important yet often overlooked player in the liver fibrosis. *Clinical and molecular hepatology*, 30(3), 303–325. <https://doi.org/10.3350/cmh.2024.0022>
77. Liu, Q., Wang, S., Fu, J., Chen, Y., Xu, J., Wei, W., Song, H., Zhao, X., & Wang, H. (2024). Liver regeneration after injury: Mechanisms, cellular interactions and therapeutic innovations. *Clinical and translational medicine*, 14(8), e1812. <https://doi.org/10.1002/ctm2.1812>
78. Li, W., Li, L., & Hui, L. (2020). Cell Plasticity in Liver Regeneration. *Trends in cell biology*, 30(4), 329–338. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.01.007>
79. Chen, T., Oh, S., Gregory, S., Shen, X., & Diehl, A. M. (2020). Single-cell omics analysis reveals functional diversification of hepatocytes during liver regeneration. *JCI insight*, 5(22), e141024. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.141024>
80. Hyun, J., Han, J., Lee, C., Yoon, M., & Jung, Y. (2021). Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver. *International journal of molecular sciences*, 22(11), 5717. <https://doi.org/10.3390/ijms22115717>
81. Holstege, A.; Bedossa, P.; Poynard, T.; Kollinger, M.; Chaput, J.C.; Houglum, K.; Chojkier, M. Acetaldehyde-modified epitopes in liver biopsy specimens of alcoholic and nonalcoholic patients: Localization and association with progression of liver fibrosis. *Hepatology* 1994, 19, 367–374.
82. Lieber, C.S. Hepatic and metabolic effects of ethanol: Pathogenesis and prevention. *Ann. Med.* 1994, 26, 325–330.
83. Lieber, C.S. Mechanism of ethanol induced hepatic injury. *Pharmacol. Ther.* **1990**, 46, 1–41

84. Setshedi, M.; Wands, J.R.; Monte, S.M. Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2010, 3, 178–185.
85. Tuma, D.J.; Casey, C.A. Dangerous byproducts of alcohol breakdown--focus on adducts. *Alcohol Res. Health* 2003, 27, 285–290
86. Israel, Y.; Hurwitz, E.; Niemelä, O.; Arnon, R. Monoclonal and polyclonal antibodies against acetaldehyde-containing epitopes in acetaldehyde-protein adducts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1986, 83, 7923–7927.
87. Wu, D.; Cederbaum, A.I. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol Res. Health* 2003, 27, 277–284
88. Niemelä, O.; Parkkila, S.; Pasanen, M.; Iimuro, Y.; Bradford, B.; Thurman, R.G. Early alcoholic liver injury: Formation of protein adducts with acetaldehyde and lipid peroxidation products, and expression of CYP2E1 and CYP3A. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 1998, 22, 2118–2124.
89. Ceni, E., Mello, T., & Galli, A. (2014). Pathogenesis of alcoholic liver disease: role of oxidative metabolism. *World journal of gastroenterology*, 20(47), 17756–17772. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i47.17756> .
90. Jeon, S., & Carr, R. (2020). Alcohol effects on hepatic lipid metabolism. *Journal of lipid research*, 61(4), 470–479. <https://doi.org/10.1194/jlr.R119000547>
91. Bi, L., Jiang, Z., & Zhou, J. (2015). The role of lipin-1 in the pathogenesis of alcoholic fatty liver. *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 50(2), 146–151. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agu102>
92. You, M., & Arteel, G. E. (2019). Effect of ethanol on lipid metabolism. *Journal of hepatology*, 70(2), 237–248. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.10.037>

93. Adolph, T. E., Grander, C., Moschen, A. R., & Tilg, H. (2018). Liver-Microbiome Axis in Health and Disease. *Trends in immunology*, 39(9), 712–723. <https://doi.org/10.1016/j.it.2018.05.002>
94. Agarwal, V. K., McHutchison, J. G., Hoofnagle, J. H., & Drug-Induced Liver Injury Network (2010). Important elements for the diagnosis of drug-induced liver injury. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, 8(5), 463–470. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2010.02.008>
95. Aithal, G. P., Watkins, P. B., Andrade, R. J., Larrey, D., Molokhia, M., Takikawa, H., Hunt, C. M., Wilke, R. A., Avigan, M., Kaplowitz, N., Bjornsson, E., & Daly, A. K. (2011). Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 89(6), 806–815. <https://doi.org/10.1038/clpt.2011.58>
96. Andrade, R. J., Chalasani, N., Björnsson, E. S., Suzuki, A., Kullak-Ublick, G. A., Watkins, P. B., Devarbhavi, H., Merz, M., Lucena, M. I., Kaplowitz, N., & Aithal, G. P. (2019). Drug-induced liver injury. *Nature reviews. Disease primers*, 5(1), 58. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0105-0>
97. Bao Q, Yu L, Chen D, Li L. Variation in the gut microbial community is associated with the progression of liver regeneration. *Hepatol Res*. 2020 Jan;50(1):121-136. doi: 10.1111/hepr.13424. Epub 2019 Nov 13. PMID: 31465626
98. Garcia-Cortes, M., Robles-Diaz, M., Stephens, C., Ortega-Alonso, A., Lucena, M. I., & Andrade, R. J. (2020). Drug induced liver injury: an update. *Archives of toxicology*, 94(10), 3381–3407. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02885-1>
99. Sato, K., Marzioni, M., Meng, F., Francis, H., Glaser, S., & Alpini, G. (2019). Ductular Reaction in Liver Diseases: Pathological Mechanisms and

Translational Significances. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 69(1), 420–430.
<https://doi.org/10.1002/hep.30150>

100. Tarlow, B. D., Pelz, C., Naugler, W. E., Wakefield, L., Wilson, E. M., Finegold, M. J., & Grompe, M. (2014). Bipotential adult liver progenitors are derived from chronically injured mature hepatocytes. *Cell stem cell*, 15(5), 605–618. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.09.008>

101. Gadd, V. L., Skoien, R., Powell, E. E., Fagan, K. J., Winterford, C., Horsfall, L., Irvine, K., & Clouston, A. D. (2014). The portal inflammatory infiltrate and ductular reaction in human nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 59(4), 1393–1405.
<https://doi.org/10.1002/hep.26937>

102. Michalopoulos, G. K., Bowen, W. C., Mulè, K., Lopez-Talavera, J. C., & Mars, W. (2002). Hepatocytes undergo phenotypic transformation to biliary epithelium in organoid cultures. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 36(2), 278–283.
<https://doi.org/10.1053/jhep.2002.34858>

103. Gouw, A. S., van den Heuvel, M. C., Boot, M., Slooff, M. J., Poppema, S., & de Jong, K. P. (2006). Dynamics of the vascular profile of the finer branches of the biliary tree in normal and diseased human livers. *Journal of hepatology*, 45(3), 393–400. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2006.03.015>

104. Lorenzini, S., Bird, T. G., Boulter, L., Bellamy, C., Samuel, K., Aucott, R., Clayton, E., Andreone, P., Bernardi, M., Golding, M., Alison, M. R., Iredale, J. P., & Forbes, S. J. (2010). Characterisation of a stereotypical cellular and extracellular adult liver progenitor cell niche in rodents and diseased human liver. *Gut*, 59(5), 645–654. <https://doi.org/10.1136/gut.2009.182345>

105. Barkin, J. M., Jin-Smith, B., Torok, K., & Pi, L. (2023). Significance of CCNs in liver regeneration. *Journal of cell communication and signaling*, 17(2), 321–332. <https://doi.org/10.1007/s12079-023-00762-x>

106. Paradies, G., Paradies, V., Ruggiero, F. M., & Petrosillo, G. (2014). Oxidative stress, cardiolipin and mitochondrial dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease. *World journal of gastroenterology*, 20(39), 14205–14218. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i39.14205>
107. Murphy M. P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *The Biochemical journal*, 417(1), 1–13. <https://doi.org/10.1042/BJ20081386>
108. Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G., Tognetti, V. B., Vandepoele, K., Gollery, M., Shulaev, V., & Van Breusegem, F. (2011). ROS signaling: the new wave?. *Trends in plant science*, 16(6), 300–309. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.03.007>
109. D’Autréaux, B., & Toledano, M. B. (2007). ROS as signalling molecules: mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 8(10), 813–824. <https://doi.org/10.1038/nrm2256>
110. Shi, B., Xu, T., Chen, T., Xu, S., & Yao, Y. (2024). Co-exposure of decabromodiphenyl ethane and polystyrene nanoplastics damages grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) hepatocytes: Focus on the role of oxidative stress, ferroptosis, and inflammatory reaction. *The Science of the total environment*, 940, 173575. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173575>.
111. Ridruejo, E., & Soza, A. (2020). The liver in times of COVID-19: What hepatologists should know. *Annals of hepatology*, 19(4), 353–358. <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2020.05.001>.
112. Bestle, D., Heindl, M. R., Limburg, H., Van Lam van, T., Pilgram, O., Moulton, H., Stein, D. A., Hards, K., Eickmann, M., Dolnik, O., Rohde, C., Klenk, H. D., Garten, W., Steinmetzer, T., & Böttcher-Friebertshäuser, E. (2020). TMPRSS2 and furin are both essential for proteolytic activation of SARS-CoV-2

in human airway cells. Life science alliance, 3(9), e202000786.
<https://doi.org/10.26508/lsa.202000786>.

113. Wang, Y., Liu, S., Liu, H., Li, W., Lin, F., Jiang, L., Li, X., Xu, P., Zhang, L., Zhao, L., Cao, Y., Kang, J., Yang, J., Li, L., Liu, X., Li, Y., Nie, R., Mu, J., Lu, F., Zhao, S., Zhao, J. (2020). SARS-CoV-2 infection of the liver directly contributes to hepatic impairment in patients with COVID-19. Journal of hepatology, 73(4), 807–816. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.05.002>

114. Jothimani, D., Venugopal, R., Abedin, M. F., Kaliamoorthy, I., & Rela, M. (2020). COVID-19 and the liver. Journal of hepatology, 73(5), 1231–1240. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.06.006>

115. Baroiu, L., Dumitru, C., Iancu, A., Leșe, A. C., Drăgănescu, M., Baroiu, N., & Anghel, L. (2021). COVID-19 impact on the liver. World journal of clinical cases, 9(16), 3814–3825. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v9.i16.3814>.

116. Dawood, D. R. M., Salum, G. M., & El-Meguid, M. A. (2022). The Impact of COVID-19 on Liver Injury. The American journal of the medical sciences, 363(2), 94–103. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2021.11.001>.

117. Loria, P., Carulli, L., Bertolotti, M., & Lonardo, A. (2009). Endocrine and liver interaction: the role of endocrine pathways in NASH. Nature reviews. Gastroenterology & hepatology, 6(4), 236–247. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2009.33>.

118. Fedor, I., Zold, E., & Barta, Z. (2022). Liver Abnormalities in Turner Syndrome: The Importance of Estrogen Replacement. Journal of the Endocrine Society, 6(10), bvac124. <https://doi.org/10.1210/jendso/bvac124>.

119. Zhang, D., Fan, J., Liu, H., Qiu, G., & Cui, S. (2023). Testosterone enhances taurine synthesis by upregulating androgen receptor and cysteine sulfinic acid decarboxylase expressions in male mouse liver. American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology, 324(4), G295–G304. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00076.2022>.

120. Ma, Q., Zhao, J., Cao, W., Liu, J., & Cui, S. (2015). Estradiol decreases taurine level by reducing cysteine sulfinic acid decarboxylase via the

estrogen receptor- α in female mice liver. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 308(4), G277-G286.

121. Ahmadi, S., & Mehranjani, M. S. (2021). Taurine improves follicular survival and function of mice ovarian grafts through increasing CD31 and GDF9 expression and reducing oxidative stress and apoptosis. *European journal of pharmacology*, 903, 174134. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174134>.

122. Behera, A., Sravanthi, K., Kumar, L. K., Vedamurthy, G. V., Singh, D., & Onteru, S. K. (2021). Association of taurine with ovarian follicular steroids and postpartum anestrus condition in Murrah buffaloes. *Domestic animal endocrinology*, 74, 106511. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2020.106511>.

123. Guerra, D. D., Bok, R., Breen, K., Vyas, V., Jiang, H., MacLean, K. N., & Hurt, K. J. (2021). Estrogen Regulates Local Cysteine Metabolism in Mouse Myometrium. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 28(1), 79–90. <https://doi.org/10.1007/s43032-020-00284-6>.

124. Gustafsson, J. A., Mode, A., Norstedt, G., & Skett, P. (1983). Sex steroid induced changes in hepatic enzymes. *Annual review of physiology*, 45, 51–60. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.45.030183.000411>.

125. Pang, S. T., Dillner, K., Wu, X., Pousette, A., Norstedt, G., & Flores-Morales, A. (2002). Gene expression profiling of androgen deficiency predicts a pathway of prostate apoptosis that involves genes related to oxidative stress. *Endocrinology*, 143(12), 4897–4906. <https://doi.org/10.1210/en.2002-220327>.

126. Gardner-Thorpe, D., O'Hagen, C., Young, I., & Lewis, S. J. (2003). Dietary supplements of soya flour lower serum testosterone concentrations and improve markers of oxidative stress in men. *European journal of clinical nutrition*, 57(1), 100–106. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601495>.

127. Boyanov, M. A., Boneva, Z., & Christov, V. G. (2003). Testosterone supplementation in men with type 2 diabetes, visceral obesity and partial androgen deficiency. *The aging male : the official journal of the International Society for the Study of the Aging Male*, 6(1), 1–7.

128. Fan, J. J., Zhou, J. L., Li, J. H., & Cui, S. (2009). Accessory sex glands of male mice have the ability to synthesize taurine via the cysteine sulfinic acid decarboxylase pathway. *Cell biology international*, 33(6), 684–689. <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2009.03.004>.
129. Shen, M., & Shi, H. (2015). Sex Hormones and Their Receptors Regulate Liver Energy Homeostasis. *International journal of endocrinology*, 2015, 294278. <https://doi.org/10.1155/2015/294278>.
130. Shidham, V. B., Komorowski, R. A., & Machhi, J. K. (2006). Androgen receptor expression in metastatic adenocarcinoma in females favors a breast primary. *Diagnostic pathology*, 1, 34. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-1-34>.
131. Jensen, K., Marzioni, M., Munshi, K., Afroze, S., Alpini, G., & Glaser, S. (2012). Autocrine regulation of biliary pathology by activated cholangiocytes. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 302(5), G473–G483. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00482.2011>.
132. Yang, F., Priester, S., Onori, P., Venter, J., Renzi, A., Franchitto, A., Munshi, M. K., Wise, C., Dostal, D. E., Marzioni, M., Saccomanno, S., Ueno, Y., Gaudio, E., & Glaser, S. (2011). Castration inhibits biliary proliferation induced by bile duct obstruction: novel role for the autocrine trophic effect of testosterone. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 301(6), G981–G991. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00061.2011>.
133. Ohshima, A., Cohen, B. I., Ayyad, N., & Mosbach, E. H. (1996). Effect of a synthetic androgen on biliary lipid secretion in the female hamster. *Lipids*, 31(8), 879–886. <https://doi.org/10.1007/BF02522984>.
134. Cao, J., Gowri, P. M., Ganguly, T. C., Wood, M., Hyde, J. F., Talamantes, F., & Vore, M. (2001). PRL, placental lactogen, and GH induce NA(+)/taurocholate-cotransporting polypeptide gene expression by activating signal transducer and activator of transcription-5 in liver cells. *Endocrinology*, 142(10), 4212–4222. <https://doi.org/10.1210/endo.142.10.8456>.

135. Selby C. (1990). Sex hormone binding globulin: origin, function and clinical significance. *Annals of clinical biochemistry*, 27 (Pt 6), 532–541. <https://doi.org/10.1177/000456329002700603>.
136. Petrov, P. D., Fernández-Murga, L., Conde, I., Martínez-Sena, T., Guzmán, C., Castell, J. V., & Jover, R. (2020). Epistane, an anabolic steroid used for recreational purposes, causes cholestasis with elevated levels of cholic acid conjugates, by upregulating bile acid synthesis (CYP8B1) and cross-talking with nuclear receptors in human hepatocytes. *Archives of toxicology*, 94(2), 589–607. <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02643-y>.
137. Katafuchi, T., & Makishima, M. (2022). Molecular Basis of Bile Acid-FXR-FGF15/19 Signaling Axis. *International journal of molecular sciences*, 23(11), 6046. <https://doi.org/10.3390/ijms23116046>.
138. Sultana, N., Islam, R., Das, R. R., Haque, Z., Rafiq, K., & Khan, M. A. H. N. A. (2022). Steroid growth promoter modified glucose profile and liver morphology in broiler by altering the localization and expression pattern of hepatic glucocorticoid receptors. *Research in veterinary science*, 152, 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2022.08.024>.
139. Vizoso, F. J., Rodriguez, M., Altadill, A., González-Diéguez, M. L., Linares, A., González, L. O., Junquera, S., Fresno-Forcelledo, F., Corte, M. D., & Rodrigo, L. (2007). Liver expression of steroid hormones and Apolipoprotein D receptors in hepatocellular carcinoma. *World journal of gastroenterology*, 13(23), 3221–3227. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i23.3221>.
140. Eisenfeld, A. J., & Aten, R. F. (1987). Estrogen receptors and androgen receptors in the mammalian liver. *Journal of steroid biochemistry*, 27(4-6), 1109–1118. [https://doi.org/10.1016/0022-4731\(87\)90197-x](https://doi.org/10.1016/0022-4731(87)90197-x).
141. Schally, A. V., Arimura, A., Kastin, A. J., Matsuo, H., Baba, Y., Redding, T. W., Nair, R. M., Debeljuk, L., & White, W. F. (1971). Gonadotropin-releasing hormone: one polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormones. *Science (New York, N.Y.)*, 173(4001), 1036–1038. <https://doi.org/10.1126/science.173.4001.1036>.

142. Conn, P. M., & Crowley, W. F., Jr (1994). Gonadotropin-releasing hormone and its analogs. *Annual review of medicine*, 45, 391–405. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.45.1.391>.
143. Huirne, J. A., & Lambalk, C. B. (2001). Gonadotropin-releasing-hormone-receptor antagonists. *Lancet* (London, England), 358(9295), 1793–1803. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)06797-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)06797-6).
144. Van Poppel, H., & Abrahamsson, P. A. (2020). Considerations for the use of gonadotropin-releasing hormone agonists and antagonists in patients with prostate cancer. *International journal of urology : official journal of the Japanese Urological Association*, 27(10), 830–837. <https://doi.org/10.1111/iju.14303>.
145. Seidenfeld, J., Samson, D. J., Hasselblad, V., Aronson, N., Albertsen, P. C., Bennett, C. L., & Wilt, T. J. (2000). Single-therapy androgen suppression in men with advanced prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Annals of internal medicine*, 132(7), 566–577. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-132-7-200004040-00009>.
146. Denis, L., & Murphy, G. P. (1993). Overview of phase III trials on combined androgen treatment in patients with metastatic prostate cancer. *Cancer*, 72(12 Suppl), 3888–3895. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19931215\)72:12+<3888::aid-cnrcr2820721726>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19931215)72:12+<3888::aid-cnrcr2820721726>3.0.co;2-b).
147. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) Analogues. [Updated 2018 Mar 20]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547863>.
148. Mottet N, Bellmunt J, Briers E, et al. Guidelines on prostate cancer. 2016. Available at: <https://uroweb.org/guideline/prostate-cancer>.
149. Shim, M., Bang, W. J., Oh, C. Y., Lee, Y. S., & Cho, J. S. (2019). Effectiveness of three different luteinizing hormone-releasing hormone agonists in the chemical castration of patients with prostate cancer: Goserelin versus

triptorelin versus leuprolide. *Investigative and clinical urology*, 60(4), 244–250.
<https://doi.org/10.4111/icu.2019.60.4.244>.

150. Merseburger, A. S., & Hupe, M. C. (2016). An Update on Triptorelin: Current Thinking on Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer. *Advances in therapy*, 33(7), 1072–1093. <https://doi.org/10.1007/s12325-016-0351-4>

151. Ploussard, G., & Mongiat-Artus, P. (2013). Triptorelin in the management of prostate cancer. *Future oncology (London, England)*, 9(1), 93–102. <https://doi.org/10.2217/fon.12.158>.

152. Lahlou N. (2005). Pharmacocinétique et pharmacodynamique de la triptoréline [Pharmacokinetics and pharmacodynamics of triptorelin]. *Annales d'urologie*, 39 Suppl 3, S78–S84. [https://doi.org/10.1016/s0003-4401\(05\)80013-0](https://doi.org/10.1016/s0003-4401(05)80013-0)

153. Cheung, T. K., Lo, K. W., Lam, C. W., Lau, W., & Lam, P. K. (2000). A crossover study of triptorelin and leuprorelin acetate. *Fertility and sterility*, 74(2), 299–305. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(00\)00598-7](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(00)00598-7).

154. Keating G. M. (2010). Triptorelin embonate (6-month formulation). *Drugs*, 70(3), 347–353. <https://doi.org/10.2165/11202230-000000000-00000>

155. Schagen, S. E., Cohen-Kettenis, P. T., Delemarre-van de Waal, H. A., & Hannema, S. E. (2016). Efficacy and Safety of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Treatment to Suppress Puberty in Gender Dysphoric Adolescents. *The journal of sexual medicine*, 13(7), 1125–1132. <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2016.05.004>

156. Tebbens, M., Schutte, M., Troelstra, M. A., Bruinstroop, E., de Mutsert, R., Nederveen, A. J., den Heijer, M., & Bisschop, P. H. (2023). Sex Steroids Regulate Liver Fat Content and Body Fat Distribution in Both Men and Women: A Study in Transgender Persons. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 109(1), e280–e290. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgad409>

157. Wu, J., Lv, T., Liu, Y., Liu, Y., Han, Y., Liu, X., Peng, X., Tang, F., & Cai, J. (2024). The role of quercetin in NLRP3-associated inflammation.

Inflammopharmacology, 32(6), 3585–3610. <https://doi.org/10.1007/s10787-024-01566-0>

158. Srivastava, S., Somasagara, R. R., Hegde, M., Nishana, M., Tadi, S. K., Srivastava, M., Choudhary, B., & Raghavan, S. C. (2016). Quercetin, a Natural Flavonoid Interacts with DNA, Arrests Cell Cycle and Causes Tumor Regression by Activating Mitochondrial Pathway of Apoptosis. *Scientific reports*, 6, 24049. <https://doi.org/10.1038/srep24049>

159. Duan, X., Chen, P., Han, X., Ren, J., Wang, Z., Zhao, G., & Li, H. (2017). The influence of liposomal quercetin on liver damage induced by microwave ablation. *Scientific reports*, 7(1), 12677. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13010-1>

160. Maurya AK, Vinayak M. Anticarcinogenic action of quercetin by downregulation of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) and protein kinase C (PKC) via induction of p53 in hepatocellular carcinoma (HepG2) cell line. *Mol Biol Rep*. 2015 Sep;42(9):1419-29. doi: 10.1007/s11033-015-3921-7. Epub 2015 Aug 27. PMID: 26311153.

161. Maurya AK, Vinayak M. Modulation of PKC signaling and induction of apoptosis through suppression of reactive oxygen species and tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR1): key role of quercetin in cancer prevention. *Tumour Biol*. 2015 Nov;36(11):8913-24. doi: 10.1007/s13277-015-3634-5. Epub 2015 Jun 16. PMID: 26076811.

162. Sharmila G, Athirai T, Kiruthiga B, Senthilkumar K, Elumalai P, Arunkumar R, et al. Chemopreventive effect of quercetin in MNU and testosterone induced prostate cancer of Sprague-Dawley rats. *Nutr Cancer*. 2014;66(1):38-46. doi: 10.1080/01635581.2014.847967. Epub 2013 Dec 9. PMID: 24320139

163. Sharmila G, Bhat FA, Arunkumar R, Elumalai P, Raja Singh P, Senthilkumar K, et al. Chemopreventive effect of quercetin, a natural dietary flavonoid on prostate cancer in in vivo model. *Clin Nutr*. 2014 Aug;33(4):718-26. doi: 10.1016/j.clnu.2013.08.011. Epub 2013 Sep 3. PMID: 24080313.

164. Ali H, Dixit S. Quercetin attenuates the development of 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene (DMBA) and croton oil-induced skin cancer in mice. *J Biomed Res.* 2015 Apr;29(2):139-44. doi: 10.7555/JBR.29.20130025. Epub 2014 Dec 15. PMID: 25859269; PMCID: PMC4389114.

165. Liu, J., Chen, H., Lin, H., Peng, S., Chen, L., Cheng, X., Yao, P., & Tang, Y. (2023). Iron-frataxin involved in the protective effect of quercetin against alcohol-induced liver mitochondrial dysfunction. *The Journal of nutritional biochemistry*, 114, 109258. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2022.109258>

166. Ince E. (2020). The protective effect of quercetin in the alcohol-induced liver and lymphoid tissue injuries in newborns. *Molecular biology reports*, 47(1), 451–459. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05148-0>

167. Mandic, P., Lestarevic, S., Filipovic, T., Savic, S., Stevic, S., & Kostic, M. (2016). The effects of quercetin on liver regeneration after liver resection in rats. *Folia morphologica*, 75(2), 188–195. <https://doi.org/10.5603/FM.a2015.0097>

168. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей : Конвенція Ради Європи від 18.03.1986 р. URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text

169. Про захист тварин від жорстокого поводження : Закон України від 21.02.2006 р. № 3447-IV : станом на 6 листопада 2023 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>

170. Animal models for the molecular and mechanistic study of lymphatic biology and disease. / W. S. Shin, S. G. Rockson, M. Merad [et al.] // *Ann. N – Y. Acad. Sci.* – 2008. – № 1131. – P. 50–74.]

171. Use of animals in research: [secretary general E. Banda].– European Science Foundation Policy briefing. – 2000. – № 9. – P. 1–6.

172. Денисенко СВ, Денисенко МВ, Передера СБ. Біоетичні особливості використання лабораторних тварин в експерименті. Вісник Укр. мед. стоматології. 2009;9(2):39-44
173. Albadrani GM, Binmowyna MN, Bin-Jumah MN, El-Akabawy G, Aldera H, Al-Farga AM. Quercetin protects against experimentally-induced myocardial infarction in rats by an antioxidant potential and concomitant activation of signal transducer and activator of transcription. J Physiol Pharmacol. 2020 Dec; 71(6): 125-7. doi: 10.26402/jpp.2020.
174. Старченко П. Застосування методу пластинації в стереоморфологічних дослідженнях. Вісник проблем біології і медицини. 2006; Вип 2: 420-422.
175. Bahriy MM, Dibrova VA, editors. Metodyky morfolohichnykh doslidzhen. Vinnytsya: Nova knyha; 2016. 328s. [in Ukrainian].
176. Кайдашев ІП, редактор. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині. Полтава: «Полімет»; 2003. 320 с.
177. Kashdan E, Duncan D, Parnell A, Schattler H. Mathematical methods in systems biology. Math Biosci Eng. 2016 Dec 1;13(6):i-ii. doi: 10.3934/mbe.201606i
178. Mustafina H. (2021). СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ ГЕПАТОЦИТІВ БЛИХ ЩУРІВ. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*, 21(2), 146-150. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.21.2.146>
179. Mykytenko A, Akimov O, Yeroshenko G, Neporada K. Phenformin attenuates the oxidative-nitrosative stress in the liver of rats under long-term ethanol administration. Ukrainian Biochemical Journal. 2024; 96(3): 22–30. Doi: 10.15407/ubj96.03.022.
180. Akimov OY, Kostenko VO. Role of NF- κ B transcriptional factor activation during chronic fluoride intoxication in development of oxidative-

nitrosative stress in rat's gastric mucosa. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2020; 61: 126535. Doi: 10.1016/j.jtemb.2020.126535

181. Akimov OY, Kostenko VO. Role of NF- κ B transcriptional factor activation during chronic fluoride intoxication in development of oxidative-nitrosative stress in rat's gastric mucosa. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2020; 61: 126535. Doi: 10.1016/j.jtemb.2020.126535.

182. Akimov OY, Kostenko VO. Role of NF- κ B transcriptional factor activation during chronic fluoride intoxication in development of oxidative-nitrosative stress in rat's gastric mucosa. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2020; 61: 126535. Doi: 10.1016/j.jtemb.2020.126535.

183. Shakerian, E., Afarin, R., Akbari, R., & Mohammadtaghvaei, N. (2022). Effect of Quercetin on the fructose-activated human hepatic s53tellate cells, LX-2, an in-vitro study. *Molecular biology reports*, 49(4), 2839–2845. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-07097-z>

184. Xu D, Hu MJ, Wang YQ, Cui YL. Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules*. 2019 Mar 21;24(6):1123. doi: 10.3390/molecules24061123. PMID: 30901869; PMCID: PMC6470739.

185. Senyigit, A., Durmus, S., Mirzatas, E. B., Ozsobacı, N. P., Gelisgen, R., Tuncdemir, M., Ozcelik, D., Simsek, G., & Uzun, H. (2019). Effects of Quercetin on Lipid and Protein Damage in the Liver of Streptozotocin-Induced Experimental Diabetic Rats. *Journal of medicinal food*, 22(1), 52–56. <https://doi.org/10.1089/jmf.2018.0030>

186. Zou S, Ouyang M, Zhao Y, Cheng Q, Shi X, Sun M. A disproportionality analysis of adverse events caused by GnRHAs from the FAERS and JADER databases. *Front Pharmacol*. 2024 Jul 4;15:1392914. doi: 10.3389/fphar.2024.1392914.

187. Dissing N, Fode M, Østergren P, Sønksen J. Changes in Quality of Life and Sexual Function After Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LHRH) Agonists and Orchiectomy in Men With Metastatic Prostate Cancer:

Results From a Randomized Trial. *Cureus*. 2024 Mar 11;16(3):e55934. doi: 10.7759/cureus.55934.

188. Vukovic R, Milenkovic T, Soldatovic I, Pekic S, Mitrovic K, Todorovic S. Triptorelin stimulated luteinizing hormone concentrations for diagnosing central precocious puberty: study of diagnostic accuracy. *Endocrine*. 2022 Mar;75(3):934-941. doi: 10.1007/s12020-021-02947-z.

189. Barrett R, Birch B. Triptorelin therapy for lower urinary tract symptoms (LUTS) in prostate cancer patients: A systematic meta-analysis. *BJUI Compass*. 2023 Oct 10;5(1):17-28. doi: 10.1002/bco2.292.

190. Shafie A, Kianian F, Ashabi G, Kadkhodae M, Ranjbaran M, Hajiaqaei M, Lorian K, Abdi A, Seifi B. Beneficial effects of combination therapy with testosterone and hydrogen sulfide by reducing oxidative stress and apoptosis: Rat experimental varicocele model. *Int J Reprod Biomed*. 2022 Dec 10;20(11):941-954. doi: 10.18502/ijrm.v20i11.12362.

191. do Val Lima PR, Ronconi KS, Morra EA, Rodrigues PL, Ávila RA, Merlo E, Graceli JB, Simões MR, Stefanon I, Ribeiro Júnior RF. Testosterone deficiency impairs cardiac interfibrillar mitochondrial function and myocardial contractility while inducing oxidative stress. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 Sep 13;14:1206387. doi: 10.3389/fendo.2023.1206387

192. Kang J, Yan J, Yan W. Testosterone ameliorated the behavioural deficits of gonadectomised rats and counteracted free radicals in a dosage-dependent manner. *Behav Brain Res*. 2023 Jul 26;450:114501. doi: 10.1016/j.bbr.2023.114501.

193. Liu CC, Huang SP, Lee YC, Lee CH, Huang TY, Geng JH, Chang CW, Lin CY, Juan YS, Wu WJ, Hsieh TJ. Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease is an early predictor for testosterone deficiency in aging men without metabolic syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 Oct 3;14:1252774. doi: 10.3389/fendo.2023.1252774.

194. Zhang X, Zhao H, Horney J, Johnson N, Saad F, Haider KS, Haider A, Xu X. Testosterone Deficiency, Long-Term Testosterone Therapy,

and Inflammation. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2021 Nov;26(6):638-647. doi: 10.1177/10742484211032402.

195. Yuefeng Y, Zhiqi L, Yi C, Keyu Z, Heng W, Yuying W, Ningjian W, Yuetian Y, Xinjie G, Yihao Z, Yingli L, Fangzhen X. Testosterone Deficiency Promotes Hypercholesteremia and Attenuates Cholesterol Liver Uptake via AR/PCSK9/LDLR Pathways. *Int J Endocrinol.* 2022 May 13;2022:7989751. doi: 10.1155/2022/7989751

196. Fan Y, Ren Y, Deng L, Lv D, Chen J, Ling Y, Tu J, Xu X, Wang D, Cai Z. Testosterone deficiency aggravates diet-induced non-alcoholic fatty liver disease by inducing hepatocyte ferroptosis via targeting BMAL1 in mice. *Int Immunopharmacol.* 2025 Jan 10;144:113641. doi: 10.1016/j.intimp.2024.113641

197. Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021 Apr;22(4):266-282. doi: 10.1038/s41580-020-00324-8

198. Pabisz P, Bazak J, Sabat M, Girotti AW, Korytowski W. Cholesterol Hydroperoxide Co-trafficking in Testosterone-generating Leydig Cells: GPx4 Inhibition of Cytotoxic and Anti-steroidogenic Effects. *Cell Biochem Biophys.* 2024 Mar;82(1):213-222. doi: 10.1007/s12013-023-01194-5.

199. An Q, Zhang K, Fu L, Guo Y, Zhang C, Ge Z, Ma J, Gu Y, Zuo L. The impact of exogenous testosterone supplementation on spermatogenesis in a rat model of oligoasthenospermia. *Int J Clin Exp Pathol.* 2020 Jun 1;13(6):1287-1299.

200. Belji Kangarlou M, Khavanin A, Nadri F, Goodarzi Z, Karami E, Rashidy-Pour A, Kiani M, Hashemi Habybabady R. Noise and silver nanoparticles induce hepatotoxicity via CYP450/NF-Kappa B 2 and p53 signaling pathways in a rat model. *Toxicol Ind Health.* 2024 Apr;40(4):206-219. doi: 10.1177/07482337241233317

201. Kotwal P, Khajuria P, Dhiman S, Kour D, Dhiman SK, Kumar A, Nandi U. Molecular mechanism for the involvement of CYP2E1/NF- κ B axis in

bedaquiline-induced hepatotoxicity. *Life Sci.* 2023 Feb 15;315:121375. doi: 10.1016/j.lfs.2023.121375

202. Wang X, Huang L, Jiang S, Cheng K, Wang D, Luo Q, Wu X, Zhu L. Testosterone attenuates pulmonary epithelial inflammation in male rats of COPD model through preventing NRF1-derived NF- κ B signaling. *J Mol Cell Biol.* 2021 May 7;13(2):128-140. doi: 10.1093/jmcb/mjaa079

203. You Z, Yang Z, Cao S, Deng S, Chen Y. The Novel KLF4/BIG1 Regulates LPS-mediated Neuro-inflammation and Migration in BV2 Cells via PI3K/Akt/NF- κ B Signaling Pathway. *Neuroscience.* 2022 Apr 15;488:102-111. doi: 10.1016/j.neuroscience.2022.01.014.

204. Zhang T, Chu Y, Wang Y, Wang Y, Wang J, Ji X, Zhang G, Shi G, Cui R, Kang Y. Testosterone deficiency worsens mitochondrial dysfunction in APP/PS1 mice. *Front Aging Neurosci.* 2024 May 1;16:1390915. doi: 10.3389/fnagi.2024.1390915.

205. Garza S, Chen L, Galano M, Cheung G, Sottas C, Li L, Li Y, Zirkin BR, Papadopoulos V. Mitochondrial dynamics, Leydig cell function, and age-related testosterone deficiency. *FASEB J.* 2022 Dec;36(12):e22637. doi: 10.1096/fj.202201026R.

206. Ren B, Zhang T, Guo Q, Che J, Kang Y, Cui R, Wang Y, Ji X, Zhang G, Shi G. Nrf2 Deficiency Attenuates Testosterone Efficiency in Ameliorating Mitochondrial Function of the Substantia Nigra in Aged Male Mice. *Oxid Med Cell Longev.* 2022 Feb 18;2022:3644318. doi: 10.1155/2022/3644318.

207. Troncoso MF, Pavez M, Wilson C, Lagos D, Duran J, Ramos S, Barrientos G, Silva P, Llanos P, Basualto-Alarcón C, Westenbrink BD, Lavandero S, Estrada M. Testosterone activates glucose metabolism through AMPK and androgen signaling in cardiomyocyte hypertrophy. *Biol Res.* 2021 Feb 5;54(1):3. doi: 10.1186/s40659-021-00328-4.

208. Deepika, Maurya PK. Health Benefits of Quercetin in Age-Related Diseases. *Molecules.* 2022 Apr 13;27(8):2498. doi: 10.3390/molecules27082498.

209. Chagas MDSS, Behrens MD, Moragas-Tellis CJ, Penedo GXM, Silva AR, Gonçalves-de-Albuquerque CF. Flavonols and Flavones as Potential anti-Inflammatory, Antioxidant, and Antibacterial Compounds. *Oxid Med Cell Longev*. 2022 Sep 6;2022:9966750. doi: 10.1155/2022/9966750.
210. Habtemariam S. The Nrf2/HO-1 Axis as Targets for Flavanones: Neuroprotection by Pinocembrin, Naringenin, and Eriodictyol. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Nov 13;2019:4724920. doi: 10.1155/2019/4724920
211. Shamsi M, Mohammadzadeh G, Hatami M, Roshanazadeh M, Noor-Behbahani M, Rashidi M. Dual Modulation of Canonical and Non-canonical TGF- β /ROS/Erk1/2 Pathways: Synergistic Activation of Nrf-2 and Antioxidant Enzymes (SOD1, GPx, HO-1) by Quercetin Loaded in Solid Lipid Nanoparticles and Curcumin in Atherosclerosis Therapy. *Iran J Pharm Res*. 2024 Dec 13;23(1):e151428. doi: 10.5812/ijpr-151428.

ДОДАТКИ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України
д. мед. н., проф. Аркадій Шульгай
« _____ » _____ 2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

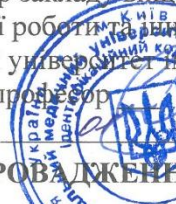
- 1. Пропозиція для впровадження:** матеріали дисертаційної роботи «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів щурів при центральній депривації синтезу тестостерону».
- 2. Установа розробника, автор:** Полтавський державний медичний університет, аспірантка кафедри гістології, цитології та ембріології, здобувач кафедри гістології, цитології та ембріології О. А. Полив'яна.
- 3. Джерела інформації:**
Polyvyana O, Shepitko V, Stetsuk Y, Akimov O, Yakushko O, Voloshyna O. Morphological changes and oxidative homeostasis in the liver tissues during long central deprivation of luteinizing hormone synthesis by triptorelin. Med. and Ecol. probl. 2021Dec.29;25(5-6):39-2. <https://doi.org/10.31718/mep.2021.25.5-6.10>
- 4. Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України.
- 5. Форма впровадження:** у навчальну роботу кафедри гістології та ембріології, в матеріали лекцій та практичних занять, у науково-дослідну роботу кафедри.
- 6. Термін впровадження:** 2024-2025 навчальний рік.
- 7. Зауваження та пропозиції:** немає.
- 8. Протокол засідання кафедри № 7 від 26 серпня 2024 р.**

Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри гістології та ембріології
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор біологічних наук, професор



Зоя Небесна

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
з наукової роботи та впровадженні Національний
медичний університет імені О. О. Богомольця
д.мед.н., професор  Сергій Земсков
« 28 » 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріал дисертації «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів щурів при центральній депривації синтезу тестостерону».
- 2) Установа-розробник, автор:
Полтавський державний медичний університет, здобувач кафедри гістології, цитології та ембріології О. А. Поливіяна.
- 3) Джерело інформації:
Influence of prolonged triptorelin-induced central deprivation of testosterone synthesis on morphological structure of rat's liver / O. A. Polyvyana, K. V. Shepitko, Ye. V. Stetsuk [et al.] // Світ медицини та біології. – 2021. – № 1 (75). – С. 205–209.
<http://dx.doi.org/10.26724/2079-8334-2021-1-75-205-209>
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, протокол № 7 від 16 грудня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри гістології та ембріології
Національного медичного університету
імені О. О. Богомольця
д.мед.н., професор



Олександр ГРАБОВИЙ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи
 Львівського національного медичного
 університету імені Данила Галицького
 доктор медичних наук
 професор Вікторія СЕРГІЄНКО

« 06 » 01 2025 р

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів щурів при центральній депривації синтезу тестостерону».
- 2) Установа-розробник, автор:
Полтавський державний медичний університет, здобувач кафедри гістології, цитології та ембріології О. А. Полив'яна.
- 3) Джерело інформації: наукові роботи у фахових виданнях:
Polyvyana O, Shepitko V, Stetsuk Y, Akimov O, Yakushko O, Voloshyna O. Morphological changes and oxidative homeostasis in the liver tissues during long central deprivation of luteinizing hormone synthesis by triptorelin. Med. and Ecol. probl. 2021Dec.29;25(5-6):39-2. <https://doi.org/10.31718/mep.2021.25.5-6.10>
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, протокол № 9 від 19 грудня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького,
 к.мед.н., доцент

Глона ЧЕЛПАНОВА

«Затверджено»

проректор з науково – педагогічної роботи

Одеського національного

медичного університету,

к.мед.н., доцент

Едуард БУРЯЧКІВСЬКИЙ

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів щурів при центральній депривації синтезу тестостерону».
- 2) Установа-розробник, автор:
Полтавський державний медичний університет, здобувач кафедри гістології, цитології та ембріології О. А. Полив'яна.
- 3) Джерело інформації: наукові роботи у фахових виданнях:
Influence of prolonged triptorelin-induced central deprivation of testosterone synthesis on morphological structure of rat's liver / O. A. Polyvyana, K. V. Shepitko, Ye. V. Stetsuk [et al.] // Світ медицини та біології. – 2021. – № 1 (75). – С. 205–209.
<http://dx.doi.org/10.26724/2079-8334-2021-1-75-205-209>
- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії людини Одеського національного медичного університету МОЗ України.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: 2024-2025 навчальний рік.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.
- 8) Обговорено та затверджено на засіданні кафедри,
- 9) протокол № 4 від 1 листопада 2024 р.

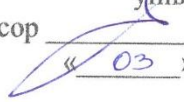
Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри анатомії людини
Одеського національного
медичного університету,
д. мед. н., професор

Олена АППЕЛЬХАНС

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор закладу вищої освіти
з науково-педагогічної роботи

Полтавського державного медичного
університету МОЗ України

д. мед. н., професор  Валентин ДВОРНИК
« 03 » 04 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1) Пропозиція для впровадження: матеріали дисертації «Морфофункціональна характеристика гепатоцитів щурів при центральній депривації синтезу тестостерону».
- 2) Установа-розробник, автор: Полтавський державний медичний університет, здобувач кафедри гістології, цитології та ембріології О. А. Полив'яна
- 3) Джерело інформації:

Polyviana, O. A., Stetsuk, E. V., Shepitko, V. I., Vilkhova, O. V., Boruta, N. V., Rud, M. V., Pelypenko, L. B., Lysachenko, O. D., Voloshyna, O. V., Dvornyk, I. L. and Morokhovets, H. Y. (2025) "Studies of changes in rat hepatocytes under conditions of central blockade of luteinizing hormone synthesis with the additional quercetin", Reports of Morphology, 31(1), pp. 52-58. doi: 10.31393/morphology-journal-2025-31(1)-07.

- 4) Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету.
- 5) Форма впровадження: у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.
- 6) Термін впровадження: березень-червень 2025 р.
- 7) Зауваження та пропозиції: немає.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету, протокол №16 від 01 квітня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри гістології,
цитології та ембріології
Полтавського державного медичного
університету МОЗ України
кандидат медичних наук, доцент



Євген СТЕЦУК