

УДК: 611.36-018+[616.36-09138-02:616.379-008.64-092.9-039.11]  
© Согуйко Ю.Р., 2012

## МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕЧІНКИ ЩУРА В НОРМІ ТА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ НА РАННІХ ЕТАПАХ ПЕРЕБІГУ Согуйко Ю.Р.

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького*

**Согуйко Ю.Р.** Морфологічні особливості печінки щура в нормі та при експериментальному цукровому діабеті на ранніх етапах перебігу // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 2. – С. 137-140.

Вивчено морфологічну характеристику печінки щура в нормі та при експериментальному цукровому діабеті на ранніх етапах його перебігу. Визначено розташування структурних елементів печінки, їх форму та розміри, зміни в судинному руслі в нормі та при діабеті. Встановлено, що при цукровому діабеті у печінці щурів відбуваються зміни в усіх структурних компонентах в порівнянні із нормою. Вище вказані дані в подальшому стануть базою для порівняння динаміки змін печінки при цукровому діабеті в практичній медицині.

**Ключові слова:** цукровий діабет, морфологія, печінка, щур.

**Согуйко Ю.Р.** Ультраструктурные особенности печени крыс в норме и при экспериментальном сахарном диабете на ранних этапах протекания // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 2. – С. 137-140.

Изучено морфологическую характеристику печени крысы в норме и при экспериментальном сахарном диабете на ранних этапах протекания. Определено расположение структурных элементов печени их формы и размер, сосудистого русла в норме и при диабете. Констатировано, что при сахарном диабете в печени крыс происходят изменения во всех структурных компонентах по сравнению с нормой. Выше указанные результаты в дальнейшем станут базой для сравнения с данными изменений печени при сахарном диабете в практической медицине.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, морфология, печень, крыса.

**Sogujko Y.R.** Morphological characteristics of rat's liver in norm and in experimental diabetes mellitus on early terms // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 2. – С. 137-140.

We studied the morphological characteristics of rat's liver in norm and in experimental diabetes mellitus on early terms of run. We defined the place of liver's structural elements, their form and size in norm and in diabetes. We defined changes of all structural components in rat's liver and vessel flow in diabetes mellitus comparing with the norm liver. The results of this investigation will be the base to compare dynamics of changes in diabetes mellitus liver in practical medicine.

**Key words:** diabetes mellitus, morphology, liver, rat.

**Вступ.** Цукровий діабет (ЦД) на сьогодні залишається єдиним неінфекційним захворюванням, поширеність якого, за даними Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я, має характер епідемії. Так, якщо у 2000 році число хворих на ЦД у світі складало 151 млн, то у 2025 очікується збільшення цього показника до 300 млн [1]. За останні 10 років кількість хворих на ЦД в Україні зросла більш ніж у 1,5 рази і становить близько 1 млн осіб [2, 3].

На сьогодні головною причиною непрацездатності та смертності хворих залишаються діабетичні мікро- та макроангіопатії, які призводять до нефропатій, ретинопатій, гангрени, інфаркту міокарду, інсульту [4, 5].

Результати багаточисельних клінічних досліджень підтвердили вірність припущення, що гіперглікемія є основним фактором, який індукуює розвиток діабетичних мікроангіопатій, а інтенсивний глікемічний контроль дозволяє загальмувати їх клінічну маніфестацію у хворих на ЦД I та II типу [6, 7].

Особлива увага у генезі ускладнень цукрового діабету приділяється морфофункціональним змінам судинної стінки. Патологічні зміни судин при цукровому діабеті є універсальною морфо-

генетичною ознакою розвитку ускладнень цукрового діабету, які характеризуються різною частотою, поширеністю та особливостями кожного органа. Вивченню патології мікроциркуляторного русла печінки присвячені роботи багатьох дослідників, проте немає єдиної думки про морфогенез ангіопатії, чинників його патогенезу, саме тому вивчення морфологічних особливостей печінки щура в нормі та при експериментальному цукровому діабеті на ранніх етапах перебігу буде мати важливе інформативне значення в практичній медицині.

**Матеріали та методи досліджень.** Евтаназію проводили методом передозування внутрішньоочеревинного наркозу з використанням тіопенталу (з розрахунку 25 мг/кг). В якості матеріалу для гістологічного дослідження використано тканину печінки щурів. Перед фіксацією матеріал промивали у теплому фізіологічному розчині. Фіксацію матеріалу здійснювали у 10% розчині формаліну протягом 24 годин на фільтрувальному папері. 10% розчин формаліну був виготовлений безпосередньо перед використанням. Після фіксації матеріал промивали у проточній воді.

Пронумеровані і запиті у марлевій мішечки

пінаточки тканини промивасмо під водопровідною водою впродовж одної доби. Зневоднення проводимо у етилових спиртах зростаючої концентрації впродовж 20 годин.

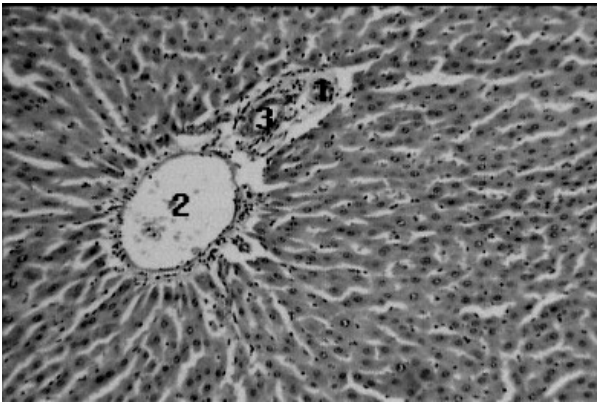
– Спирт 73 °, – Спирт 80 °, – Спирт 86 °, – Спирт 86 °, – Спирт 96 °, – Спирт 96 °.

Просвітлення та видалення спирту проводили в органічних розчинниках (ксилол чи хлороформ – 2 порції по 1 годині у кожній).

Просочування препаратів парафіном проводили у 2 чашках – термостатах при температурі 56° на протягом 2 годин. Далі проводили заливку матеріалу у парафінові блоки. Залитий у блоки матеріал фіксували і проводили нарізку на санному мікроскопі модель – МС-1 товщина зрізів 5-7мкм. Зафарбування проводили гематоксиліном та еозином за загальноприйнятою методикою. Після цього зафарбовані препарати заключали у канадський бальзам (розведений на толуолі чи ксилолі) і висушували у витяжній шафі.

Препарати вивчали і фотографували під мікроскопом МБИ-1 при збільшенні (окуляр 7, об'єктив 8), (окуляр 10, об'єктив 8), (окуляр 7, об'єктив 20), (окуляр 10, об'єктив 20).

**Результати дослідження.** У інтактних щурів печінка мала часточкову будову. Часточки були полігональної 5-6 гранної форми. В кутах між часточками визначались прошарки пухкої сполучної тканини в яких були розташовані кровоносні і лімфатичні судини та жовчні протоки. В клітинному складі пухкої сполучної тканини переважали фібробласти, але виявлялись і поодинокі лімфоцити та макрофаги (рис.1).



**Рис 1.** Портальна тріада печінки інтактного щура. Гематоксилін еозин  $\times 100$ . 1 - міжчасточкова артерія; 2 - міжчасточкова вена; 3 - міжчасточкова жовчна протока.

Гепатоцити в часточках мали полігональну форму, були об'єднані біліарними частинами і утворювали печінкові балки, які мали радіальний напрямок. Між ними були розташовані синусоїди. В центрі класичних печінкових часточок були розташовані центральні вени.

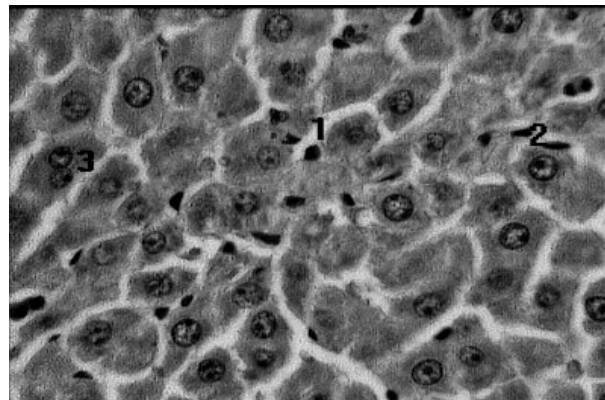
Гепатоцити мали розмір  $24,35 \pm 1,73$  та одно-рідно забарвлювались гематоксилінеозином. Цитоплазма більшої частини клітин була світлою, їх ядра найчастіше були розташовані

централью. В них добре виявлялись одне або два ядерця.

Частка 2-х ядерних гепатоцитів складала  $15,6 \pm 0,83\%$  (рідко в III зоні класичних часточок виявлялись поодинокі апоптозно змінені або некротизовані клітини, їх частка була  $0,41 \pm 0,09\%$  від загальної чисельності гепатоцитів). В II зоні класичних часточок подекуди виявляли клітини з ознаками жирової дистрофії, їх частка складала  $5,3 \pm 0,38\%$ . Стінки синусоїди складались із ендотеліоцитів і зірчастих макрофагоцитів. Чисельність останніх складала  $7,35 \pm 0,8$  на 100 гепатоцитів. В просвітах синусоїди були розташовані поодинокі лейкоцити, серед яких зустрічались великі лімфоцити. Їх ядра мали інтенсивне забарвлення, а в цитоплазмі були розташовані гранули з щільним центром. В перисинусоїдальних просторах ідентифікувались відростки гепатоцитів та перисинусоїдальних жиронакопичувальних клітин, а також еластичні та колагенові волокна.

Перисинусоїдальні жиронакопичувальні клітини були невеликих розмірів і виявлялись частіше у III зоні класичних часточок, між гепатоцитами.

В їх цитоплазмі були розташовані чисельні жирові включення. Найчастіше вони виявлялись навколо ядер (рис.2).



**Рис 2.** Печінка інтактного щура. Гематоксилін еозин  $\times 200$ . 1 - печінкові трабекули. Синусоїди; 2 - зірчасті макрофагоцити; 3 - 2х ядерні гепатоцити.

Чисельність жиронакопичувальних клітин складала  $7,5 \pm 0,49$  на 100 гепатоцитів. При проведенні гістохімічної реакції на глікоген, гранули глікогену виявлялись у гепатоцитах всіх відділів класичних часточок.

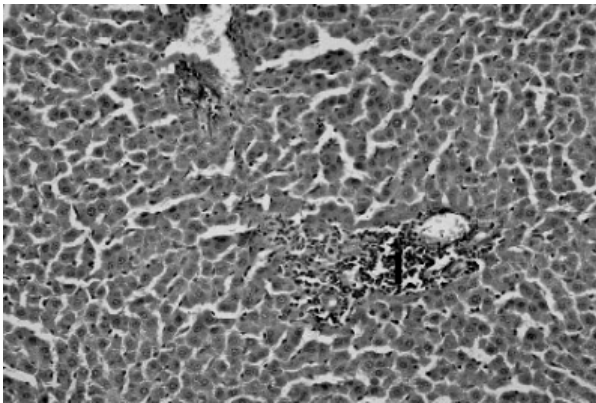
Через 2 тижні після введення стрептозоцину ми виявили зміни в судинах МЦР, а також гістологічний та гістохімічний структурі гепатоцитів.

Часточкова будова печінки була збережена, однак цитоархітектоніка в печінкових часточках порушена. Так, в III зоні класичних часточок траплялись чисельні осередки в яких була порушена балкова будова. Більшість гепатоцитів в таких вогнищах були дистрофічно та некротично змінені (рис.3).

Клітинні мембрани в деяких клітинах були не суцільними. Цитоплазма вакуолізована, ядра

гіперхромні. Часто виявлялись клітини з лізованими ядрами. Частина клітин мала цілісну оболонку, цитоплазма в таких клітинах була набрякла, вакуолізована. Ядра в таких клітинах також були з ознаками набрякання. Такі клітини не формували балок і були розташовані хаотично. Чисельність 2-х ядерних гепатоцитів була значно меншою, ніж в інтактній групі щурів і складала  $7,5 \pm 0,91\%$ .

У більшості випадків осередки дистрофії виявлялись в III зоні класичних часточок і рідше в II зоні. В вогнищах некрозу гепатоцитів були розташовані активні зірчасті макрофагоцити, а також чисельні лімфоцити. Частка некротично змінених гепатоцитів складала  $24,9 \pm 0,73\%$  від загальної чисельності гепатоцитів (рис.3).

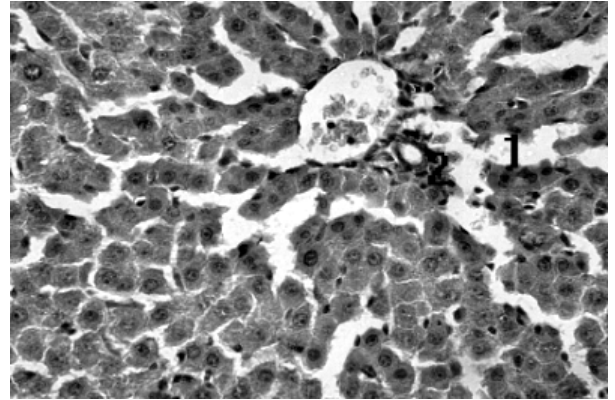


**Рис 3.** Печінка щура через 2 тижні після введення стрептозотоцину. Гематоксилін еозин  $\times 200$ . 1 - вогнища некрозу гепатоцитів і гістіолімфоцитарна інфільтрація в центролобулярній зоні класичної часточки.

При проведенні гістохімічної реакції на глікоген в осередках гідропічної дистрофії глікоген не визначався, а в клітинах проміжної II зони класичних часточок його розташування було дещо змінено і він розташовувався на периферії клітин. В клітинах II зони класичних часточок ми виявили виражену жирову дистрофію, частка дистрофічно змінених гепатоцитів складала  $37,4 \pm 0,68$  від загальної чисельності гепатоцитів.

В кровоносних судинах печінки ми виявили гіперемію. Так, просвіти синусоїдів і центральних вен були розширеними, в них були розташовані пристінкові тромби. Ендотеліоцити в стінці синусоїдів були не однорідними по забарвленню. Їх цитоплазма була з ознаками нагущання, ядра темні, часто виступали в просвіт. В просвітах синусоїдів, а також в перисинусоїдальних просторах була збільшена чисельність зірчастих макрофагоцитів, вони складали  $17,38 \pm 1,7$  на 100 гепатоцитів (рис.4).

В порталних трактах ми виявили гіперемію кровоносних судин. Стінки артеріол були потовщені за рахунок розростання гладких м'язців в середній оболонці, а також фіброзу зовнішньої оболонки. Ендотеліальна вистелка артеріол була не суцільною, ми виявили ділянки десквамації ендотеліоцитів, а також вогнища їх регенерації.



**Рис 4.** Печінка щура через 2 тижні після введення стрептозотоцину. Гематоксилін еозин  $\times 400$ . 1 - розширення просвітів синусоїд; 2 - вогнища некрозу гепатоцитів в центролобулярній зоні класичної часточки.

Просвіти міжчасточкових вен були розширеними, часто в них були розташовані пристінкові тромби. В міжчасточкових жовчних протоках ендотеліоцити були не однорідними по будові. Так, ми виявили темні і світлі клітини, а також ділянки в яких були розташовані деструктивно змінені ендотеліоцити. Просвіти лімфатичних судин були розширеними.

Через 4 тижні після введення стрептозотоцину ми виявили зміни в судинах МЦР, а також в структурі гепатоцитів і сполучної тканини стромі.

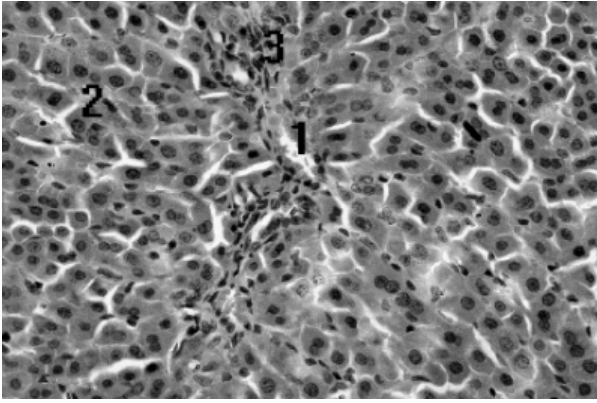
Структура печінки мала часточкову будову. Центральні вени були помірно повнокривними. Печінкові балки розходились від них у радіальному напрямку і були сформовані із гепатоцитів, які були поліморфними.

Так, навколо центральних вен в III зоні класичних часточок виявлялись некротизовані гепатоцити, їх чисельність складала  $3,79 \pm 0,57\%$ . В осередках некрозу виявили гістіолімфоцитарну інфільтрацію та проліферацію фібробластів. В проміжній II зоні класичних часточок були виявлені гепатоцити в цитоплазмі яких була виражена жирова дистрофія, їх чисельність складала  $53,5 \pm 1,33$  від загальної кількості гепатоцитів. В гепатоцитах розташованих на периферії класичних часточок будова цитоплазми та ядер була подібною до їх будови в інтактних щурах.

Чисельність 2-х ядерних клітин була дещо меншою, ніж в попередній групі щурів і складала  $5,9 \pm 0,35$  на 100 гепатоцитів.

Стінки центральних вен були потовщеними за рахунок розростання фібробластів і колагенових волокон навколо них. Ендотеліоцити в них не склали суцільного шару, часто виявлялись вогнища десквамації ендотеліоцитів та пристінкові тромби, а також вогнища плазми та геморагій (рис.5).

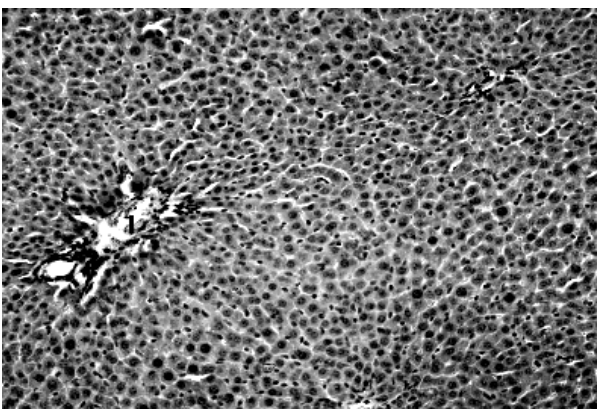
Просвіти синусоїдів були розширені, заповнені еритроцитами, в них також були розташовані чисельні зірчасті макрофагоцити та лімфоцити.



**Рис 5.** Печінка щура через 4 тижні після введення стрептозотоцину. Гематоксилін еозин  $\times 400$ . 1 - пристінкові тромби в центральних венах; 2 - гіперемія в синусоїдах; 3 - вогнища некрозу та гістіолімфоцитарної інфільтрації.

Стінки синусоїдів вистелені ендотеліальними клітинами з ущільненими ядрами, які часто виступали в просвіті. Зірчасті макрофагоцити мали не виразну цитоплазму та клиноподібні ядра. Їх чисельність була значно збільшена порівняно з інтактними тваринами і складала  $21,5 \pm 2,3$  на 100 гепатоцитів. Також була збільшена чисельність фібробластів в перисинусоїдальних та міжклітинних просторах, тоді як чисельність перисинусоїдальних жиронакопичувальних клітин була зменшеною -  $2,3 \pm 0,18\%$ .

В порталних трактах кровоносні судини були гіперемовані. Стінки артеріол були потовщеними. Ендотеліальна вистелка була не суцільною. Ділянки десквамації були більше виражені, ніж в попередній термін спостереження. Стінки міжчасточкових жовчних протоків також були склерозовані, потовщені. Навколо судин і жовчних протоків була виражена гістіолімфоцитарна інфільтрація, а також гіперплазія і гіпертрофія фібробластів (рис.6).



**Рис 6.** Печінка щура через 4 тижні після введення стрептозотоцину. Гематоксилін еозин  $\times 100$ . 1 - пристінкові тромби в міжчасточкових венах; 2 - периваскулярна і перидуктальна гістіолімфоцитарна інфільтрація інтерстицію.

#### Висновки:

1) Таким чином, через 2 тижні після введення стрептозотоцину в кровоносних судинах пе-

чінки зміни проявлялись у вигляді гіперемії, десквамації ендотеліоцитів в міжчасточкових артеріях і венах, потовщенні стінки міжчасточкових артерій, розширенні просвітів центральних вен і синусоїдів, дистрофічними змінами в ендотеліоцитах стінки синусоїдів, збільшенні чисельності зірчастих макрофагоцитів в просвітах синусоїдів та перисинусоїдальних просторах.

2) Ми також виявили зміни в гепатоцитах у вигляді жирової дистрофії, набряку та некрозу окремих гепатоцитів. Жирова дистрофія була більше виражена в гепатоцитах розташованих в II зоні класичних часточок, тоді як некротично змінені гепатоцити були розташовані в III зоні.

3) На 4 тижні після введення стрептозотоцину деструктивні зміни в стромі і паренхімі печінки мали більш демонстративний вигляд. Це проявилось в збільшенні некротизованих клітин, а також в вираженій жировій дистрофії гепатоцитів розташованих в II зоні класичних часточок, в збільшенні чисельності зірчастих макрофагоцитів та фібробластів. А також в фіброзі і склерозі порталних трактів і зменшення включень глікогену. В гепатоцитах розташованих в центральній і проміжній зоні класичних часточок.

**Перспективи наукового пошуку.** Отримати нові дані щодо морфологічних змін тканин та органу, вивчених на експериментальній моделі цукрового діабету на різних термінах можуть мати практичне застосування і у майбутніх дослідженнях слугувати розробці діагностичних та профілактичних заходів щодо даної патології.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Zimmet P., Alberty K.G.M.M., Shaw J. Global and societal implications of the diabetic epidemic // *Nature*. – 2001. – Vol. 414. – P. 782–787.
2. Епідеміологія цукрового діабету / М.Д. Тронько, А.С. Ефімов, В.І. Кравченко, В.І. Паньків. – К.: Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, 1996. – 152 с.
3. Паньків В.І. Цукровий діабет у практиці терапевта. – К.: Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, 1994. – 160 с.
4. Сергієнко О.О. Практична діабетологія. – К.: Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України, 1997. – 172 с.
5. Тронько Н.Д. Современные проблемы диabetологии // *Журнал АМН України*. – 2000. – Т. 6, № 3. – С. 460–471.
6. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes-mellitus // *N. Engl. J. Med.* – 1993. – Vol. 329, № 9. – P. 977–986.
7. United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS). Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33) // *Lancet*. – 1998. – Vol. 352, № 9131. – P. 837–853.

Надійшла 11.02.2012 р.

Рецензент: проф. С.М.Смірнов