

ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН ГЕПАТОЦИТІВ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТИ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ КЛАСТЕРНОГО АНАЛІЗУ

Івано-Франківський національний медичний університет (м. Івано-Франківськ)

kupchak.yulya@gmail.com

У статті використано матеріал дисертаційного дослідження, яке виконується відповідно до плану Івано-Франківського національного медичного університету і є частиною науково-дослідних робіт кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії «Оптимізація комплексного лікування морфологічних ушкоджень травної, ендокринної та сечостатевої систем при цукровому діабеті» (№ державної реєстрації 0113U000769) та «Вікові особливості патоморфогенезу деяких органів нейроендокринної, серцево-судинної, травної та дихальної систем при цукровому діабеті» (№ державної реєстрації 0116U003598).

Вступ. Печінка – це залозисто-паренхіматозний орган, один із основних біохімічних лабораторій всього людського організму. Різноманітний спектр її функцій впливає на весь метаболізм, тому порушення її може відобразитися на функціонуванні всього організму. Водночас метаболічні порушення що виникають при різних патологічних станах, зокрема і при цукровому діабеті (ЦД), можуть відіграти ключову роль у порушенні структури гепатоцитів печінки [6,7]. Незважаючи на велику кількість наукових досліджень, що присвячені вивченню впливу цукрового діабету на печінку [6,8,9,11,10], залишається остаточно нез'ясованим питання, яким чином гіперглікемія впливає на морфофункціональний стан гепатоцитів печінки різних зон печінкової часточки на різних термінах ЦД та як порушується їх функція при цьому. В жодних наукових роботах при морфометричному дослідженні печінки не використано кластерного аналізу.

Тому, **метою** нашого **дослідження** було вивчити морфо-функціональні зміни гепатоцитів статевозрілих щурів у динаміці перебігу експериментального цукрового діабету з врахуванням результатів морфометричного та кластерного аналізів.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на 25 12-міс щурах-самцях лінії Вістар. Тварин було поділено на 2 групи: контрольну (5 тварин) та експериментальну (20 тварин). Експериментальним тваринам моделювання цукрового діабету здійснювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотину фірми «Sigma» (США) у дозі 6 мг на 100 г розведеному в 0,1 М цитратному буфері (рН 4,5) [4], а контрольній вводили еквівалентну дозу 0,1 М цитратного буферу (рН 4,5).

Тварин декапітували під тіопенталовим наркозом та забирали кров і печінку для дослідження на 14-у, 28-у, 42-у та 56-у доби експерименту. Для підтвердження розвитку цукрового діабету у щурів та контролю гіперглікемії протягом усього експерименту щоденно визначали рівень глюкози з краплі крові, взятої із хвостової вени за допомогою тест смужок на глюкометрі фірми «Ассу-Чек» (Німеччина). Експерименти проведені у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986 р.), Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

Використали гістологічний (забарвлення гематоксилін-еозином) та електронно-мікроскопічний методи дослідження. Визначення включень глікогену у гепатоцитах проводили на напівтонких зрізах, забарвлених поліхромним барвником Humphrey Ch.D. в модифікації за Єрошенко Г.А. [5] та на гістологічних зрізах забарвлених за Шабадашем, а включення ліпідів методикою Судан III.

Морфометрію здійснювали на вказаному фото-матеріалі за допомогою програми NIH USA «Image J» у ручному режимі з урахуванням збільшень. Визначали показники площі профільного поля (надалі площа) гепатоцитів і їх ядер, ядерно-цитоплазматичний індекс (ЯЦІ) – співвідношення площі профільного поля ядра до площі цитоплазми.

Комп'ютерне опрацювання даних проводилося за допомогою пакету статистичного аналізу STATISTICA (StatSoft, Inc. (2011), STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.). Застосовано критерій Стьюдента (Т-tests) перевірки гіпотез про рівність середніх, кожного разу, коли $p < 0.05$, стверджуємо про відмінність середніх значень.

Результати дослідження та їх обговорення. В опрацьованій нами літературі при вивченні печінки при ЦД 12-міс. щурів проводилися порівняння середніх значень показників гепатоцитів у печінковій часточці [9,11], без врахування відмінностей морфологічної будови у різних зонах. І тільки деякі із вчених враховують цей поділ [8,10]. Також потрібно

МОРФОЛОГІЯ

зауважити, що ряд авторів відмічають різні групи гепатоцитів печінки при вивченні їх морфологічної та ультраструктурної перебудови при різних патологіях [2,3], проте не вказують приналежність до зонального розподілу у печінковій часточці.

На основі цих даних, нами було прийняте рішення виконати морфометричний (морфометрію одноядерних гепатоцитів печінкової пластинки), гісто- та ультраструктурний аналіз гепатоцитів різних зон печінкової частки контрольних тварин. При дослідженні гістологічних препаратів печінки контрольної групи 12-міс. щурів встановлено, що найменшою її структурно-функціональною одиницею, як і в людини, є часточка полігональної форми. Зони у печінковій часточці є наступними: периферична (I зона) – гепатоцити якої є біля ворітної триади, центральну (III зона) – навколо центральної вени, та проміжну (II зона), яка розміщена між центральною та периферичною зонами. Печінкові пластинки у радіальному напрямі від ворітної триади до центральної вени розходяться, та сформовані гепатоцитами у два ряди. Потрібно також відмітити, що гістологічна та ультраструктурна будова печінки контрольної групи тварин не відрізняється від норми [1]. Проаналізувавши дані морфометрії, нами було здійснено поділ всіх клітин на 3 кластери (С). Гепатоцити С1 контрольної групи мають найбільшу площу клітин і ядер та малий ЯЦІ (табл. 1). Гепатоцити С2 характеризуються середньою площею клітин, великою площею ядра та великим ЯЦІ (див. табл. 1), тоді як С3 – це найменші за площею клітини з малим ядром та малим ЯЦІ (див. табл. 1). Для порівняння середніх значень стандартизованих характеристик між кластерами у кожному терміні експерименту та у різних зонах печінкової часточки застосовано t-критерій Стьюдента для незалежних вибірок. Попарне співвідношення показало, що кластери статистично достовірно відрізняються між собою ($p < 0,05$) за площею гепатоцитів та їх ядер. Враховуючи зони, в яких проводились виміри клітин, ми проаналізували вміст кластерів у них, перевіривши гіпотезу про наявність зв'язків за допо-

могою критерію χ^2 -квadrat незалежності. Кожного разу, коли $p\text{-value} < 0,05$, стверджуємо про наявність зв'язку. Pearson's Chi-squared test ($p < 0,05$) показує, що є зв'язок між належністю клітини до виділених кластерів та її локалізацією у печінковій часточці. Так, гепатоцити контрольної групи тварин із С1 локалізуються переважно у периферичній зоні, із С3 – у центральній зоні, із С2 – у проміжній зоні.

На 14 добу розвитку експериментального ЦД в печінці статистично достовірно спостерігається зменшення площі гепатоцитів за рахунок розпаду глікогену, зокрема це стосується С1 і С2 (табл. 1, 2). Слід зазначити, що гепатоцити С1, які є найбільші за площею, виконують глікоген синтезуючу і глікогеннакопичуючу функцію. Проте гепатоцити С3 не зменшуються статистично достовірно у порівнянні із контролем (див. табл. 3, рис. 1). На нашу думку, це пов'язано з тим, що вони виконують переважно детоксикаційну функцію [2,8]. Зменшення розмірів ядер значної частини гепатоцитів

Таблиця 1.

Описові характеристики гепатоцитів С1 у різні терміни експерименту

| Морфометричні показники | Термін експерименту | | | | |
|--|---------------------|---------------|----------------|----------------|---------------|
| | Контроль | 14 доба | 28 доба | 42 доба | 56 доба |
| Площа гепатоцитів (мкм ²) | 291,45±42,99 | 252,78±25,61* | 193,07±31,49** | 253,81±30,94** | 288,24±39,69# |
| Площа ядер гепатоцитів (мкм ²) | 56,23±8,28 | 51,29±6,97* | 39,76±4,87** | 59,69±7,92** | 68,41±9,96** |
| ЯЦІ | 0,25±0,05 | 0,26±0,04* | 0,27±0,07** | 0,31±0,06** | 0,32±0,07* |

Примітки: 1) * у порівнянні з контролем $p < 0,05$; 2) # у порівнянні з попереднім терміном експерименту $p < 0,05$.

Таблиця 2.

Описові характеристики гепатоцитів С2 у різні терміни експерименту

| Морфометричні показники | Термін експерименту | | | | |
|--|---------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| | Контроль | 14 доба | 28 доба | 42 доба | 56 доба |
| Площа гепатоцитів (мкм ²) | 217,65±34,51 | 185,78±23,77* | 149,02±24,83** | 188,36±22,52** | 200,03±28,58** |
| Площа ядер гепатоцитів (мкм ²) | 39,83±6,01 | 35,88±4,37* | 26,57±3,78** | 40,02±4,61# | 44,89±5,96** |
| ЯЦІ | 0,23±0,03 | 0,24±0,03* | 0,23±0,04# | 0,27±0,03** | 0,29±0,04** |

Примітки: 1) * у порівнянні з контролем $p < 0,05$; 2) # у порівнянні з попереднім терміном експерименту $p < 0,05$.

Таблиця 3.

Описові характеристики гепатоцитів С3 у різні терміни експерименту

| Морфометричні показники | Термін експерименту | | | | |
|--|---------------------|--------------|----------------|----------------|---------------|
| | Контроль | 14 доба | 28 доба | 42 доба | 56 доба |
| Площа гепатоцитів (мкм ²) | 173,79±35,96 | 175,45±25,43 | 109,73±17,09** | 159,92±22,16** | 171,45±25,93# |
| Площа ядер гепатоцитів (мкм ²) | 44,02±8,81 | 44,37±6,21 | 28,19±5,14# | 43,81±6,93# | 50,70±7,26** |
| ЯЦІ | 0,34±0,05 | 0,34±0,03 | 0,35±0,06 | 0,39±0,04** | 0,43±0,10** |

Примітки: 1) * у порівнянні з контролем $p < 0,05$; 2) # у порівнянні з попереднім терміном експерименту $p < 0,05$.

МОРФОЛОГІЯ

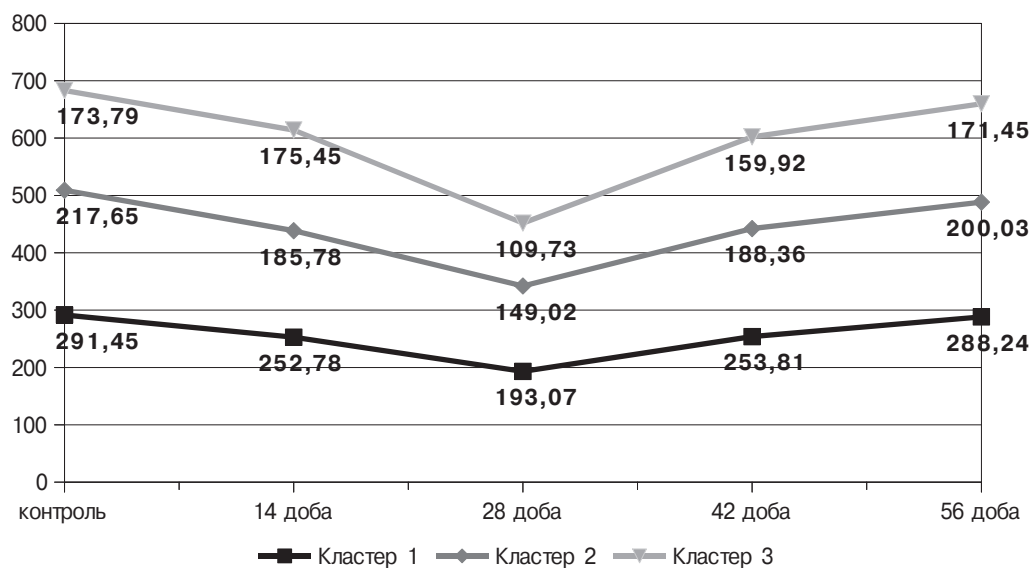


Рис. 1. Розподіл значень площі клітини, щодо термінів ЦД у порівнянні із контролем у різних кластерах.

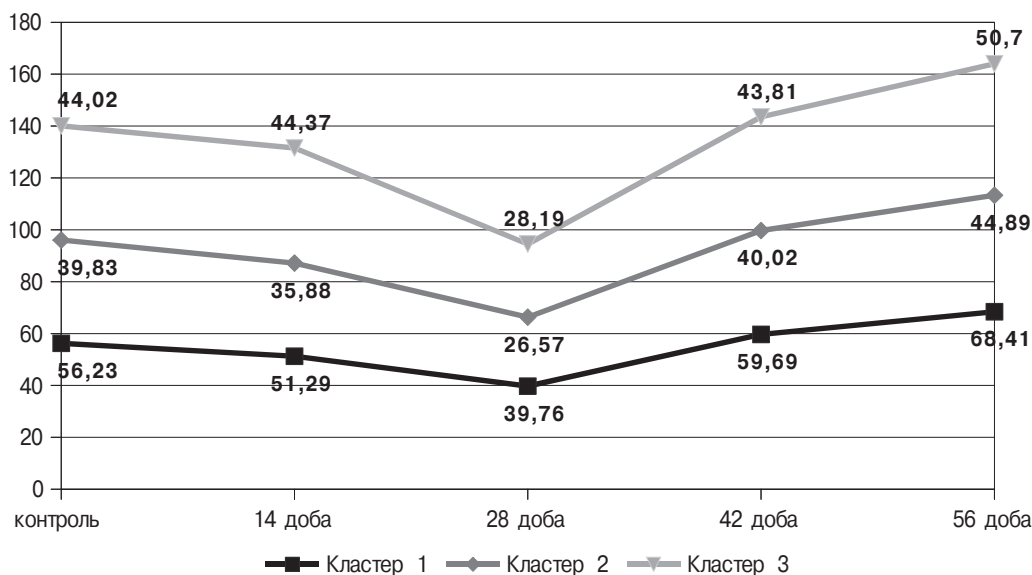


Рис. 2. Розподіл значень площі ядра при ЦД та контрольній групі у різних кластерах.

спостерігали й інші автори при впливі пестицидів [2] і пов'язують ці зміни із зниженням функціональної активності гепатоцитів.

На ультраструктурному рівні ядра гепатоцитів на 14 добу експерименту здебільшого округлої форми, розташовані по центру клітини. Хроматин ядра є в деконденсованому стані, а його гранули рівномірно розподілені по всій площі ядра. Хоча зустрічаються ядра гепатоцитів, де хроматин перерозподіляється і конденсується у вигляді грудочок вздовж внутрішньої поверхні ядерної оболонки. Кількість рибосом, що зв'язані з цистернами гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС), а також незв'язаних, вільно розміщених у цитоплазмі, є меншою. Цистерни ГЕС розширені, із ділянками деструкції. Комплекс Гольджі редукований, мембрани порушують свою паралельну орієнтацію, зменшена кількість пухирців. Поліус гепатоцитів,

що повернутий в просвіт жовчного капіляра, а також той, що повернутий в бік навколосинусоїдного простору Діссе, має зменшену кількість мікрворсинок, у порівнянні із групою контролю.

На 28 добу стрептозотоцинового ЦД у гепатоцитах патологічні зміни наростають. В усіх кластерах достовірно зменшується площа ядра та площа клітин, порівнюючи з попереднім терміном експерименту та з контролем (див. табл. 1-3, рис. 1-3), що може бути проявом того, що у гепатоцитах практично відсутні є включення гранул глікогену а також посилення виведення його гепатоцитами, тобто, втрата глікогеннакопичуючої функції. Щодо ЯЦІ то С2 практично не змінюється, С3 дещо зростає, С1 зменшується і як правило є ознакою зменшення функціональної активності даного кластеру гепатоцитів (рис. 3). Дані зміни чітко простежуються на

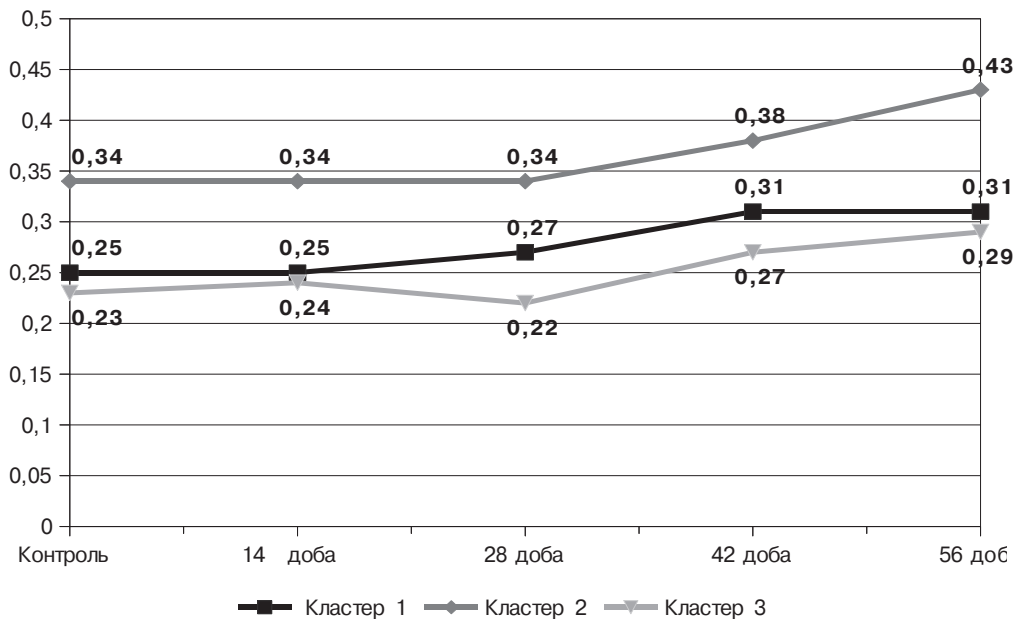


Рис. 3. Розподіл значень ЯЦІ при ЦД та контрольній групі у різних кластерах.

світлооптичному та електронно-мікроскопічному рівнях. Характерними для ранніх термінів розвитку стрептозотозинного діабету є «запустівання» гепатоцитів, або так звані «глікогенові пустоти» (рис. 4б). Потрібно відмітити, що у контролі в даних ділянках цитоплазми гепатоцитів ми спостерігали накопичення гранул глікогену у вигляді розетки (рис. 4а). У гепатоцитах діабетичних щурів при підвищеній гіперглікемії у навколоядерному просторі не зустрічається жодних внутрішньоклітинних органел (див. рис. 4б).

У діабетичних щурів у даний термін експерименту відмічаються: розширення перинуклеарного простору, неглибокі інвагінації ядерної оболонки, редукція ГЕС та комплексу Гольджі. Кількість мітохондрій є зменшеною, гребені їх дезорганізовані, укорочені, подекуди зазнають лізису, матрикс просвітлений, оболонка мітохондрій, зокрема зовнішня, розпушена, подекуди із ознаками лізису. Простежується редукція та укорочення мікрроворсинок гепатоцитів, як навколосинусоїдного полюсу, так і повернутого в бік жовчного капіляра. Посилюються зміни і в гепатоцитах центральної зони, зокрема С3.

Статистичний аналіз отриманих даних показав, що на 42 добу експерименту площа гепатоцитів та їх ядер достовірно зростає у порівнянні із попереднім терміном експерименту та із контрольною групою тварин (див. табл. 1-3, рис. 1-2). На гістологічних препаратах забарвлених за Шабдашем, та напівтонких зрізах, забарвлених поліхромним барвником включень глікогену у гепатоцитах різних кластерів ми не виявляли.

На електронно-мікроскопічному рівні у печінці виявляються поліморфні зміни. У гепатоцитах С1 простежуються зерниста та вакуольна дистрофія (рис. 5а).

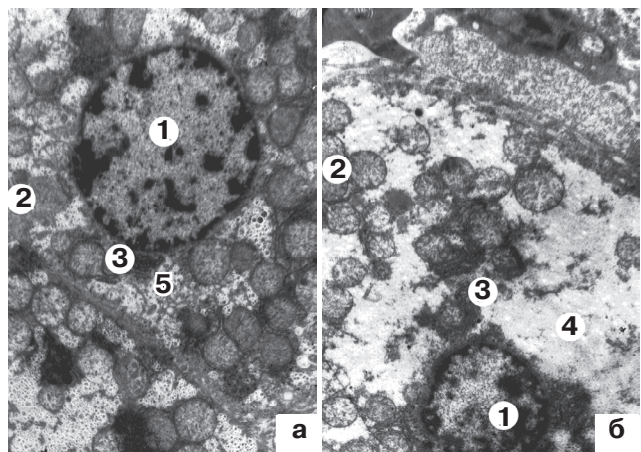


Рис. 4. Ультраструктура гепатоцитів С1 контрольного (а) та діабетичного (б) щурів на 28 добу експерименту. Зб.: а)х6400 б)х4800.

- 1 – ядро гепатоцита; 2 – мітохондрії;
- 3. – розширені цистерни ГЕС;
- 4 – відсутність включень глікогену у гепатоцитах;
- 5 – гранули глікогену.

Дегенеративні зміни характеризуються набряклими мітохондріями та зменшення числа мітохондріальних гребенів, а також дилатацією і дегрануляцією цистерн ГЕС. Характерними є конденсація гетерохроматину у ядрі вздовж внутрішньої ядерної оболонки. У гепатоцитах С3 відмічається проліферація гладкої ендоплазматичної сітки, поява середніх та крупних ліпідних крапель в гепатоцитах (рис. 5б).

На 56 добу експерименту площа гепатоцитів та їх ядер достовірно збільшується в усіх кластерах, у порівнянні із попереднім терміном експерименту. На електронно-мікроскопічному рівні у печінці переважають вакуольна (рис. 5в) та балонна (рис. 5г) дистрофії. Перша характеризується просвітленням цитоплазми гепатоцитів та наявністю в ній дрібних

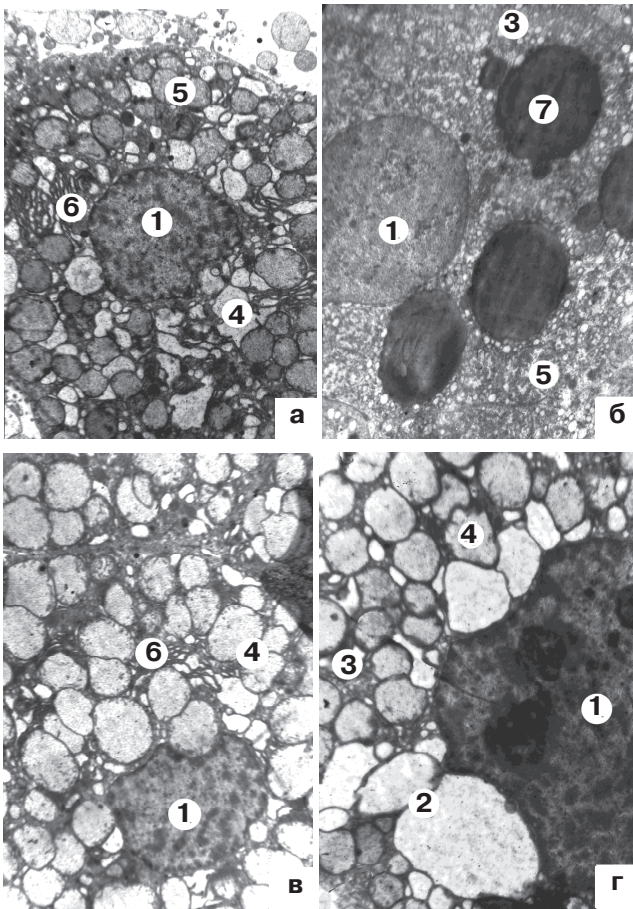


Рис. 5. Виражені деструктивні зміни гепатоцитів на 42-у (а, б) та 56-у (в, г) доби перебігу стрептозотоцинового ЦД. Зб.: а, в) x4800, в, г) x6400. 1 – ядро гепатоцита, 2 – балони, 3 – гранулярна ендоплазматична сітка, 4 – вакуолі, 5 – мітохондрії, 6 – розширені цистерни ГЕС, 7 – ліпідні краплі.

і середнього розміру вакуолей, а друга – утворенням балонів у навколяядерному просторі, які відтісняють ядро та інші органели. Гепатоцити С2 і С3 продовжують накопичувати ліпідні краплі великого та середнього розмірів, в деяких випадках практично вся цитоплазма клітин заповнена вакуолями і ліпідними включеннями, які мають характерну посмугованість та оточені оболонкою, відтісняючи на периферію клітини ядро, що вказує на їх жирове переродження. Часто зустрічаються гепатоцити в стані колікваційного некрозу.

Потрібно зауважити, що отримані дані збігаються з даними інших дослідників. Зокрема, Noorafshan [7] відмічає, що на ранніх термінах експериментального ЦД йде зменшення об'єму гепатоцитів усіх трьох зон печінкової часточки, а також зниження ваги тварин та маси печінки зокрема. Також характерним є і те, що саме гепатоцити С1 першими реагують на рівень глюкози та інсуліну в крові, оскільки вони відповідають за синтез і накопичення глікогену. Зменшення площі ядер гепатоцитів на ранніх термінах стрептозотоцинового ЦД найбільше проявляється у С1 оскільки вони відповідають за білок-синтезуючу функцію і тому порушення її призводить до порушення синтезу РНК ядер, а також зниження рівня інсуліну в крові який, за даними літератури, впливає на синтез білка та РНК клітинами печінки та призводить до порушення метаболічної активності гепатоцитів [7]. Слід зазначити, що гіперглікемія призводить до глікозилювання білків клітини та до ураження її структурних компонентів, що спостерігалось нами на пізніх термінах розвитку стрептозотоцинового ЦД. На більш пізніх термінах експерименту збільшується площа клітин та ядер гепатоцитів, за рахунок накопичення ліпідів та великих вакуоль у цитоплазмі гепатоцитів. Тобто розвивається вакуольна та ліпідна дистрофія печінки, на що вказують і ряд інших авторів [6,8,10]. У експериментальних тварин протягом дослідного періоду ми також спостерігали полідипсію, поліурію та поліфагію як додаткові ознаки інсулінової недостатності та гіперглікемії.

Висновки

На ранніх термінах розвитку стрептозотоцинового діабету (14-28 доба) спостерігаються зменшення площі гепатоцитів та їх ядер, яке є найбільш вираженим у С1 і пов'язано з вираженими процесами глікогенолізу. Із збільшенням терміну експерименту (42-56 доби) відмічається збільшення площі гепатоцитів та їх ядер, яке пов'язане із розвитком зернистої, вакуольної, гідропічної та жирової дистрофій, і як наслідок, зниження білково-синтетичної та глікогенсинтезуючої їх функцій, що підтверджується даними гістологічних та ультраструктурних досліджень.

Перспективи подальших досліджень

Дані наших досліджень можна буде використати для подальшого дослідження впливу гіперглікемії у різних вікових категоріях і при впливі різних патологічних факторів, а також дії лікарських засобів при лікуванні як цукрового діабету так і різноманітних патологіях печінки.

Література

1. Боднарчук Ю.В. Морфологічна характеристика часточки печінки нестатевозрілих щурів з використанням кластерного аналізу / Ю.В. Боднарчук, О.Я. Жураківська // Актуальні питання медичної науки та практики. – 2015. – Т. 2, № 82. – К. 2 – С. 364-372.
2. Вплив різнометалічного комплексу [Cu(dmen)2][Fe(CN)5(NO)] (dmen=N,N-диметилетилендіамін) на морфофункціональний стан печінки / Н.О. Карпезо, І.В. Белінська, Т.В. Рибальченко [та ін.] // Доп. НАН України. – 2011. – № 3. С. 158-163.
3. Дельцова О.І. Морфометричний аналіз гепатоцитів при корекції токсичного впливу пестициду 2,4-Д на печінку внутрішньоочеревинним введенням глутаргіну / О.І. Дельцова, С.Б. Герашенко, Г.Б. Кулинич // Вісник Сумського державного університету. Серія Медицина. – 2012. – № 1. – С. 23-28.

4. Пат. № 62966. Україна, МПК 51 А 61 В 10/00. Спосіб моделювання цукрового діабету 1-го типу у тварин різного віку / В.А. Левицький, О.Я. Жураківська, В.А. Миськів, Л.М. Заяць, Р.Б. Петрів, Ю.М. Якимів, Б.М. Кіщук, Р.З. Гнатюк; заявка № u 201101566; заявл. 11.02.2011; опубл. 20.09.2011, Бюл. № 18. – 6 с.
5. Поліхромний спосіб забарвлення гістологічних препаратів / О.С. Якушко, В.І. Шепітько, Г.А. Єрошенко [та ін.] // Світ медицини та біології. – 2013. – № 3. – С. 61-64.
6. Согуйко Ю.Р. Ультраструктурні особливості печінки щура в нормі та при експериментальному цукровому діабеті на ранніх етапах його перебігу в динаміці / Ю.Р. Согуйко // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2010. – № 4. – С. 12-19.
7. Early stereological changes in liver of Sprague-Dawley rats after streptozotocin injection / A. Noorafshan, B. Esmail-Zadeh, S. Bahmanpour [et al.] // Indian Journal of Gastroenterology. – 2005. – Vol. 24. – P. 104-107.
8. Histological and Biochemical Effects of Azadirachta indica and Melatonin in Streptozotocin-induced Diabetic Wistar rats / E.T. Godam, M.O. Samaila, A.O. Ibegbu [et al.] // Annals of Experimental Biology. – 2014. – Vol. 2. – № 2. – P. 9-22.
9. Lukivskaya O. Protective effect of ursodeoxycholic acid on liver mitochondrial function in rats with alloxan-induced diabetes: Link with oxidative stress / O. Lukivskaya, E. Patsenker, V. Buko // Life Sciences. – 2007. – Vol. 80. – № 26. – P. 2394-2402.
10. Salih N.D. Histological Liver Changes in Streptozotocin induced Diabetic Mice / N.D. Salih, R.K. Muslih, S.R. Hamoodi // International Medical Journal Malaysia – 2009. – Vol. 8. – P. 10-16.
11. Streptozotocin-induced diabetes mellitus affects lysosomal enzymes in rat liver / G.B. Peres, M.A. Juliano, J.A. Aguiar [et al.] // Brazilian Journal of Medical and Biological Research. – 2014. – Vol. 47. – № 6. – С. 452-460.

УДК: 616-092.9+591.436+616.379-008.64

ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН ГЕПАТОЦИТІВ СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ДІАБЕТИ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ КЛАСТЕРНОГО АНАЛІЗУ

Боднарчук Ю. В., Жураківська О. Я., Перцович В. М.

Резюме. У даній статті вивчено кластерний розподіл гепатоцитів печінки та їх морфологічну перебудову в динаміці розвитку і перебігу стрептозотоцинового цукрового діабету (СЦД). Дослідження проведено на 12-місячних щурах самцях лінії Вістар. Експериментальним тваринам (20 тварин) змоделивали цукровий діабет шляхом одноразово внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину фірми «Sigma» (США) у дозі 6 мг на 100 гр розведеному в 0,1 М цитратному буфері (рН 4,5), а контрольній (5 тварин) вводили еквівалентну дозу 0,1 М цитратного буферу (рН 4,5). У ранні терміни розвитку (14-а та 28-а доби) СЦД відбувається статистично значуще зменшення площі гепатоцитів усіх кластерів за рахунок глікогенолізу та порушення метаболізму в них. На пізніх термінах перебігу СЦД (42-а, 56-а доба) у печінці розвивається діабетична гепатопатія, яка характеризується статистично значущим зростанням площі гепатоцитів усіх кластерів за рахунок розвитку вакуольної та жирової дистрофії, а також такі поліморфні зміни як: гідропічна, балонна та жирова дистрофії, коліквацийний некроз, апоптоз, що протікали на тлі вираженої діабетичної мікроангіопатії.

Ключові слова: морфологічна перебудова, гепатоцит, кластерний аналіз, стрептозотоциновий цукровий діабет.

УДК: 616-092.9+591.436+616.379-008.64

ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕПАТОЦИТОВ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМ ДИАБЕТЕ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ КЛАСТЕРНОГО АНАЛИЗА

Боднарчук Ю. В., Жураківська О. Я., Перцович В. М.

Резюме. В данной статье изучено кластерное распределение гепатоцитов печени и их морфологическую перестройку в динамике развития и течения стрептозотоцинового сахарного диабета (ССД). Исследование проведено на 12-месячных крысах самцах линии Вистар. Экспериментальным животным (20 животных) смоделировали сахарный диабет путем однократного внутрибрюшинного введения стрептозотоцина фирмы «Sigma» (США) в дозе 6 мг на 100 гр разведенном в 0,1 М цитратном буфере (рН 4,5), а контрольной (5 животных) вводили эквивалентную дозу 0,1 М цитратного буфера (рН 4,5). В ранние сроки развития (14-е и 28-е сутки) ССД происходит статистически значимое уменьшение площади гепатоцитов всех кластеров за счет гликогенолиза и нарушения метаболизма в них. На поздних сроках течения ССД 42-е и 56-е сутки) в печени развивается диабетическая гепатопатия, которая характеризуется статистически значимым ростом площади гепатоцитов всех кластеров за счет развития вакуольной и жировой дистрофии, а также такие полиморфные изменения как: гидропическая, баллонная и жировая дистрофии, колликвационный некроз, апоптоз, протекающие на фоне выраженной диабетической микроангиопатии.

Ключевые слова: морфологическая перестройка, гепатоциты, кластерный анализ, стрептозотоциновый сахарный диабет.

UDC: 616-092.9+591.436+616.379-008.64

CHARACTERISTICS OF HEPATOCYTES' MORPHOFUNCTIONAL CHANGES OF MATURED RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES ON THE RESULTS OF CLUSTER ANALYSIS

Bodnarchuk Yu. V., Zhurakivska O. Ya., Pertsovykh V. M.

Abstract. In the article cluster distribution of liver hepatocytes and their morphological changes in the dynamics and course of streptozotocin-induced diabetes were studied. The liver is a detoxifying organ; the disorders of its structure may cause a change in metabolism of the whole body. Nowadays, many studies are devoted to investigat-

ing the structure of hepatocytes of rats' liver in experimental diabetes. But most of them do not pay attention to the study of their heterogeneity in different areas of hepatic lobules making conclusions based on the average morphometric parameters of the whole lobule. The study was conducted on 12-month Wistar male rats. The animals were divided into 2 groups: control group (5 animals) and experimental group (20 animals). Diabetes was modeled to the experimental animals. It was performed by a single intraperitoneal streptozotocin administration manufactured by "Sigma" (USA) in a dose of 6 mg/100 grams dissolved in 0.1 M citrate buffer (pH 4.5). The equivalent dose of 0.1M citrate buffer (pH 4.5) was administered to the control group. The animals were decapitated under anesthesia with thiopental. The blood and liver were taken for the examination during the 14th, the 28th, the 42nd and the 56th days of the experiment. The histological methods (staining: hematoxylin-eosin, the Shabadash method, Sudan III), electron microscopic and statistical (STATISTICA (StatSoft, Inc. (2011), STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com) were used for study.

Using morphometric parameters of hepatocytes by cluster analysis in the hepatic lobules three clusters of cells were defined (C1, C2, C3). They differ in their size, area of nucleus and nuclear-cytoplasmic index. It was established that in early stages of diabetes (14th day) the areas of hepatocytes and their nuclei were significantly reduced in all clusters except the second one, the cells which are mainly located around the central vein. During the 28th day the morphometric changes were observed in all clusters, connected with glycogenolysis, glycogenesis disorders and protein synthesis function of hepatocytes. These parameters had histological and ultrastructural confirmation.

In the long term course of streptozotocin-induced diabetes (the 42nd and the 56th days) the area of hepatocytes and their nuclei increased. These morphometric changes were associated with different pathological processes. First, due to the development of diabetic angiopathy in hepatocytes hydropic degeneration was developed. It was the most evident: in C3 – large granular degeneration that developed into a ballooning one; in C1 small- and medium drop hydropic degeneration was also seen. Secondly, lipid accumulation in the cytoplasm, leading to fatty degeneration was observed in hepatocytes. Herein, the inclusion of glycogen in hepatocytes was absent.

Thus, in the early stages of development (the 14th- the 28th days) streptozotocin-induced diabetes a statistically significant decrease in the area of hepatocytes of all clusters by glycogenolysis and metabolism disorder in them take place. In the later stages of the streptozotocin-induced diabetes course (the 42nd, the 56th days) in the liver diabetic hepatopathy is observed. It is characterized by a statistically significant growth of hepatocyte's area of all clusters by developing hydropic and fatty degeneration. It should also be noted that different clusters of hepatocytes in the long term, of streptozotocin-induced diabetes course the following polymorphic changes were observed: hydropic, ballooning and fatty degeneration, colliquation necrosis and apoptosis, developed in severe diabetic microangiopathy.

Keywords: morphological changes, hepatocyte, cluster analysis, streptozotocin-induced diabetes.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 15.03.2016 року