

В.Б. Стецев'ят, М.М. Багрій, Н.М. Воронич-Семченко
ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ ІЗ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНІСТЮ НА ТЛІ НАБУТОГО І ВРОДЖЕНОГО ЙОДОДЕФІЦИТУ

Резюме. У щурів із інсулінорезистентністю (ІР) виявлено розвиток регенераторних процесів у клітинах печінки, зокрема в ядрах, на що вказує збільшення ядерно-цитоплазматичного індексу та наявність двоядерних гепатоцитів. Проте напруженість регенераторного процесу є невисокою (встановлено зменшення співвідношення площі ядерця до площі ядра гепатоцитів). Статевий диморфізм полягає у наявності осередків жирової дистрофії та вираженому зональному характері дистрофічних процесів гепатоцитів у самок порівняно з самцями, у яких дистрофія має більше дифузний характер. Обтяжує розвиток структурних змін у печінці йододефіцит, особливо, вроджений. Гепатобілярний ризик за умов ІР на тлі йодної депривації вищий у самок.

Ключові слова: інсулінорезистентність; набутий йододефіцит; вроджений йододефіцит; структура печінки; статевий диморфізм.

Актуальність дослідження зумовлена стійкою тенденцією до зростання ендокринної патології (зокрема, захворювань щитоподібної залози та цукрового діабету). Зазначені захворювання призводять до негативних соціальних та медичних наслідків. Незважаючи на цілу низку заходів по їх подоланню, особливий ризик розвитку ендокринної патології, у тому числі поєднаної, мають мешканці ендемічних стосовно зобу регіонів. Відомо про вікові та гендерні особливості частоти розвитку метаболічного синдрому та гіпотиреозу, а також відмінності міжгормонального балансу гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної осі, зміни ліпідного спектру крові за умов тиреоїдної дисфункції [1]. Небезпечним проявом метаболічного синдрому (інсулінорезистентності – ІР та ожиріння) є неалкогольна жирова хвороба печінки. Тому привертає увагу дослідження структурних основ таких порушень в експерименті та дослідження чинників, які підвищують ризик розвитку ускладнень.

Мета дослідження: встановити в експерименті структурні особливості печінки щурів із ІР на тлі набутого (НІД) і вродженого (ВІД) йододефіциту з урахуванням статевого диморфізму.

Матеріал і методи. Дослідження проводили на нелінійних статевозрілих щурах (самцях та самках) масою 150-180 г, які були розділені на шість дослідних груп (по 20 самців та 20 самок кожна): 1-ша – контрольна (інтактні тварини), 2-га – тварини з ІР, 3-тя – із НІД, 4-та – з ВІД

(2-4-та – групи для порівняння), 5-та – ІР + НІД, 6-та – ІР + ВІД. ІР тваринам моделювали шляхом додавання до питної води 10 % розчину фруктози впродовж 8-ми тижнів (2-га, 5-та та 6-та дослідні групи) [2]. Тварини 3-6-ї дослідних груп отримували йододефіцитну дієту, зокрема 4-ї та 6-ї - перебували на дієті у другому поколінні, 3-ї та 5-ї - впродовж 45 днів експерименту [3]. Щури контрольної групи знаходились на стандартному харчовому раціоні. Утримання, вигодовування та евтаназія (декапітація під кетаміновим знечуженням, 100 мг/кг маси тіла) відповідали чинним міжнародним вимогам щодо гуманного відношення до тварин. Для оцінки структурних змін печінки гістологічні препарати забарвлювали гематоксиліном та еозином, за Шабадашем, та проводили PAS-реакцію [4]. Здійснювали порівняльний аналіз показників з урахуванням гендерних особливостей. Гістологічні дослідження проведені на світлооптичному мікроскопі Leica DME. З метою об'єктивізації кількісних досліджень проводили комп'ютерну морфометрію об'єктів у гістологічних препаратах. На першому етапі отримували цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів за допомогою цифрової фотокамери Nikon Coolpix 4500 з подальшим аналізом цифрових копій зображення за допомогою комп'ютерної програми Image Tool 3.0 for Windows. Морфометричний аналіз печінки здійснювали з урахуванням таких показників: середніх периметра та площі гепатоцита, середніх

периметра та площі ядра гепатоцита, середніх периметра та площі ядерця гепатоцита, середньої товщини стінки судин. Вираховували також ядерно-цитоплазматичний індекс та індекс співвідношення площі ядерця до площі ядра печінкової клітини. Статистичний аналіз результатів здійснено за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel та Statistica 5.5.

Результати досліджень. Структурна організація печінки щурів контрольної групи без особливостей (рис. 1).

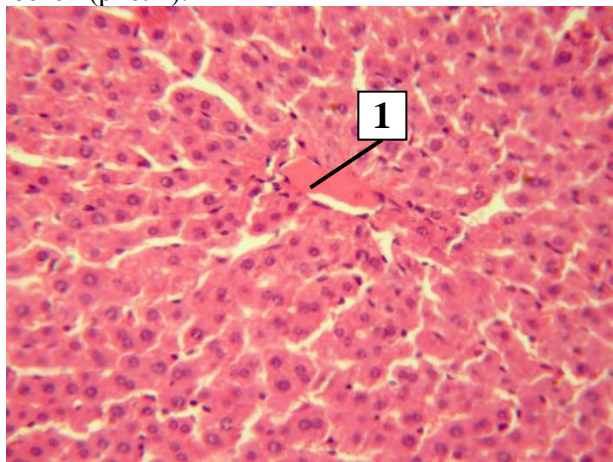


Рис. 1. Структурна організація печінки тварин групи контролю. Збарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: $\times 400$: 1 – трабекули; 2 – синусоїдні гемо капіляри; 3 – центральна вена

У щурів із ІР (2-га дослідна група) виявлено розвиток регенераторних процесів у клітині, зокрема, в ядрі, на що вказують зміни морфометричних показників, збільшення ядерно-цитоплазматичного індексу та наявність двоядерних гепатоцитів (таблиця, рис. 2). При цьому напруженість регенераторного процесу є невисокою, що характеризує зменшення співвідношення площі ядерця до площі ядра гепатоцитів. У самців дистрофія має дифузний характер, тоді як у самок виявили осередки жирової дистрофії гепатоцитів та виражену зональність дистрофічних процесів гепатоцитів.

Пластинчаста будова печінки щурів із НІД (3-тя дослідна група) змінена за рахунок дистрофічних процесів гепатоцитів. Дистрофічні зміни домінують у периферичних відділах часточок, проте в частині випадків прослідковується їх дифузний рівномірний характер. Відзначається просвітлення цитоплазми та збільшення розмірів клітин, що зумовлено дистрофічно-едематозними процесами в гепатоцитах (рис. 3). У частині клітин ядра пікнотичні, місцями не візуалізуються. У таких клітинах відзначається різної інтенсивності просвітлення цитоплазми та виражена нечіткість плазмолем, місцями її фрагментація. Порівняно з

групою тварин із ІР не встановлено достовірної розбіжності середньої площі гепатоцитів (див. табл.). Проте, ядерно-цитоплазматичний індекс за умов НІД у самок має тенденцію до зниження, що відображає з одного боку домінування дистрофічних процесів у цитоплазмі, а з другого — є свідченням зниженої регенераторної здатності клітин за рахунок дистрофічних процесів у ядрі.

Трабекулярна будова печінки щурів із ВІД (4-та дослідна група) також порушена за рахунок дистрофічних змін печінкових клітин. Гепатоцити полігональної форми, значно збільшені в розмірах, зі світлою цитоплазмою (рис. 4). Морфометричні параметри клітин наведені у таблиці.

Забарвлення за Шабдашем засвідчує про наявність гранул глікогену в цитоплазмі печінкових

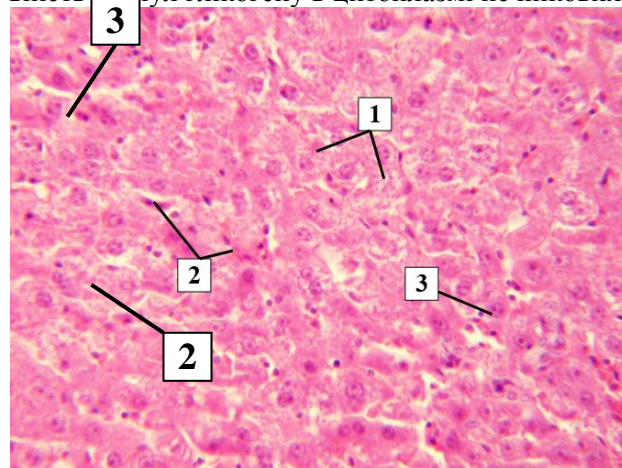


Рис. 2. Структурна організація печінки щура-самця із інсулінорезистентністю. Збарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: $\times 400$: 1 – збільшені в розмірі гепатоцити зі світлою зернистою цитоплазмою; 2 – стиснуті синусоїдні гемо капіляри; 3 – два ядра в ядрі гепатоцита

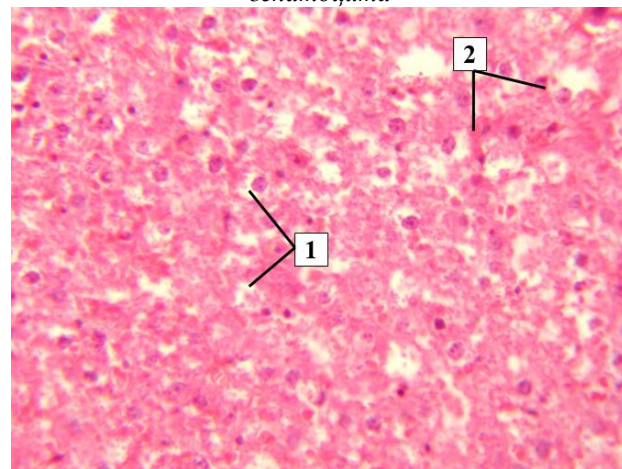


Рис. 3. Структурна організація печінки щура-самця із набутим йододефіцитом. Збарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: $\times 400$: 1 – збільшені в розмірі гепатоцити зі світлою зернистою цитоплазмою; 2 – стиснуті синусоїдні гемокапіляри з компактно розташованими еритроцитами у просвіті

Морфометричні дані гепатоцитів щурів із інсулінорезистентністю (ІР) на тлі належного забезпечення йодом, набутого (НІД) та вродженого (ВІД) йододефіциту (M±m)

Дослідні групи тварин	Периметр гепатоциту, мкм	Площа гепатоциту, мкм	Периметр ядра, мкм	Площа ядра, мкм ²	Ядерно-цитоплазматичний індекс, ум. од.
1-ша (контрольна, інтактні тварини): самці (n=20) самки (n=20)	71,82±5,81 73,45±3,15	348,12±12,59 362,04±10,40	30,64±2,92 31,97±1,15	56,41±3,77 57,16±3,01	0,16±0,02 0,16±0,01
2-га (тварини із ІР): самці (n=20) самки (n=20)	92,89±8,26* 82,64±8,75	574,63±37,61* 446,99±12,45*#	40,18±3,49* 35,86±2,16	111,75±13,58* 87,63±11,37*#	0,19±0,01 0,20±0,02
3-тя (тварини із НІД), самці (n=20) самки (n=20)	92,76±10,15 94,84±13,37	576,66±131,47 596,38±168,91	37,85±2,38 35,55±3,07	97,90±12,62* 86,94±15,87	0,17±0,02 0,15±0,03
4-та (тварини із ВІД), самці (n=20) самки (n=20)	104,99±16,57 103,46±12,74*	716,03±207,08 713,12±171,53*	38,04±3,43 40,23±2,87*	98,78±19,66* 112,61±15,91*	0,14±0,01 0,16±0,02
5-та (тварини із ІР+НІД), самці (n=20) самки (n=20)	123,18±18,56* 121,70±15,20*	998,42±284,23* 993,15±244,55*	50,81±8,16* 42,98±5,06*	178,778±59,06* 827,97±30,84*	0,18±0,02 0,13±0,01#
6-та (тварини із ІР+ВІД), самці (n=20) самки (n=20)	125,19±16,25* 131,71±12,44*	1046,69±308,35* 1157,43±212,55* p ₂₋₆ <0,05 p ₃₋₆ <0,05	50,28±8,38* 42,55±4,23* p ₂₋₆ <0,05	177,12±63,38 124,89±26,29*	0,17±0,02 0,11±0,01*# p ₂₋₆ <0,05 p ₄₋₆ <0,05

Примітка. * — достовірна різниця щодо контролю ($p < 0,05$); # — достовірна різниця щодо даних у самців у межах дослідної групи ($p < 0,05$); p з арабськими цифрами — достовірні зміни між показниками у дослідних групах з урахуванням гендерних особливостей

клітин, проте в меншій кількості, ніж у тварин 1-3-ї груп (рис. 5). Середня площа гепатоцитів самок із ВІД у два рази ($p < 0,05$) перевищує контрольні дані та має тенденцію до збільшення щодо даних у тварин із НІД, що свідчить про більшу вираженість дистрофії у цитоплазмі клітин. Така ж тенденція зберігається щодо значень інших досліджуваних морфометричних показників (див. табл.). Цитоплазма гепатоцитів тварин 5-ї дослідної групи просвітлена, крупно-зерниста, містить поодинокі гранули глікогену. Контури плазмолемі візуалізуються, дещо завуальовані, розміри гепатоцитів збільшені порівняно з контролем, має тенденцію до збільшення щодо даних у тварин за умов ізольованої ІР та ВІД (див. табл.). Гепатоцити містять округлої форми різних метричних параметрів ядра з різною кількістю ядерців (до 4-5 у ядрі). Ядерця розташовані дифузно, на певній віддалі один від одного. Простежуються в невеликій кількості двоядерні гепатоцити. У каріоплазмі окремих ядер відзначаються округлі прозорі вакуолі, які зміщують елементи ядра навколо (рис. 6).

Синусоїдні гемокапіляри нерівномірного кровонаповнення, осередково заповнені еритроцитами, які здебільшого компактно розташовані один до одного. У випадках зниженого кровонаповнення просвіти капілярів звужені, з поодинокими еритроцитами чи без їх візуалізації, та простежуються у вигляді тяжів ендотеліоцитів поміж пластинок гепатоцитів. Центральні вени та судини портального тракту заповнені еритроцитами, здебільшого розширені. В окремих судинах, головним чином, у стінці центральних вен, відзначається нерівномірність контуру стінки, світло-еозинофільний характер. В окремих центральних венах стінка забарвлена еозином візуалізується більш інтенсивно, гомогенна. При PAS реакції відзначається накопичення глікопротеїнів у вигляді безядерних насичено-пурпурових мас, дозовні від яких візуалізуються ядра гладких міоцитів (рис. 7). Аналогічні зміни гепатоцитів встановлено у самок цієї ж групи. Привертають увагу осередково групи гепатоцитів із дрібними та середнього калібру округлими прозорими вакуолями в цитоплазмі, які

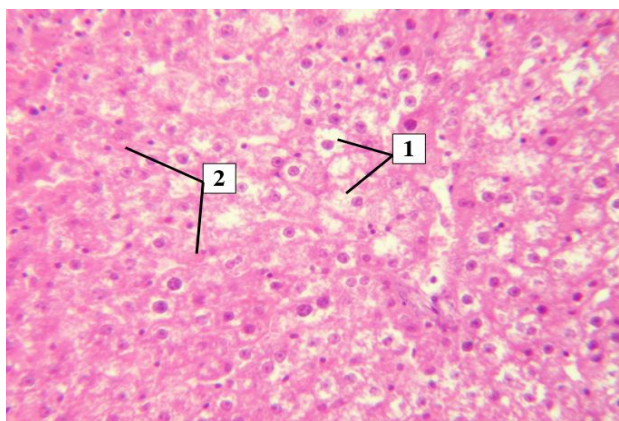


Рис. 4. Структурна організація печінки щура-самки із вродженим йододефіцитом. Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: $\times 400$: 1 – збільшені в розмірі гепатоцити зі світлою зернистою цитоплазмою; 2 – стиснуті синусоїдні гемокапіляри

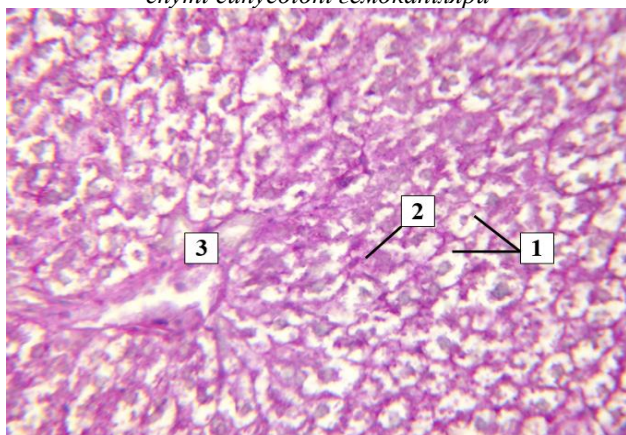


Рис. 5. Структурна організація печінки щура-самця із вродженим йододефіцитом. Забарвлення: за Шабдашем. Зб.: $\times 400$: 1 – збільшені в розмірах гепатоцити зі світлою цитоплазмою; 2 – невелика кількість гранул глікогену у цитоплазмі гепатоцитів; 3 – портальний тракт

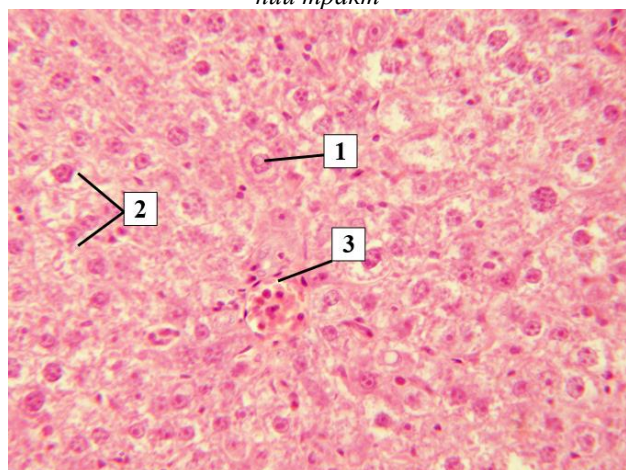


Рис. 6. Структурна організація печінки щура-самця із інсулінорезистентністю та набутим йододефіцитом. Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: $\times 400$: 1 – включення в ядрі гепатоцитів; 2 – світла зерниста цитоплазма збільшених у розмірах гепатоцитів; 3 – портальний тракт

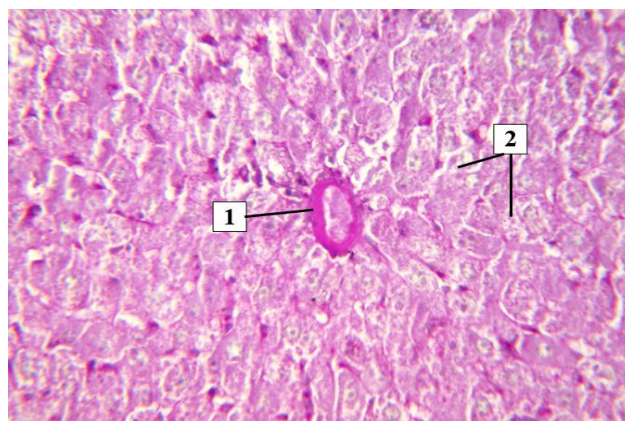


Рис. 7. Структурна організація печінки щура-самця із інсулінорезистентністю та набутим йододефіцитом. Забарвлення: PAS. Зб.: $\times 400$: 1 – глікоген стінки центральної вени; 2 – збільшені в розмірі гепатоцити з просвітленням цитоплазми

зміщують навколо елементи цитозолу. У ядрах гепатоцитів прослідковуються одне, іноді два, рідко три ядра. Місцями внутрішньочасточково відзначаються лейкоцити у просвіті синусоїдних капілярів. Достовірних розбіжностей морфометричних показників у самок щодо самців встановлено не було.

Гепатоцити щурів 6-ї дослідної групи мають збільшені розміри, характеризуються структурними змінами у вигляді просвітлення та зернистості цитоплазми. У цитоплазмі печінкових паренхіматозних елементів відзначаються лише поодинокі гранули глікогену. Синусоїдні гемокапіляри стиснуті, прослідковуються здебільшого у вигляді витягнутих ядер ендотеліальних клітин, подекуди з поодинокими еритроцитами у просвіті. Стінка частини центральних вен і портальних судин циркулярно потовщена, насичено еозинофільна, з поодинокими клітинами дозовні. Зі внутрішнього боку відзначаються поодинокі ядра ендотеліальних клітин, у просвіті – еритроцити (рис. 8).

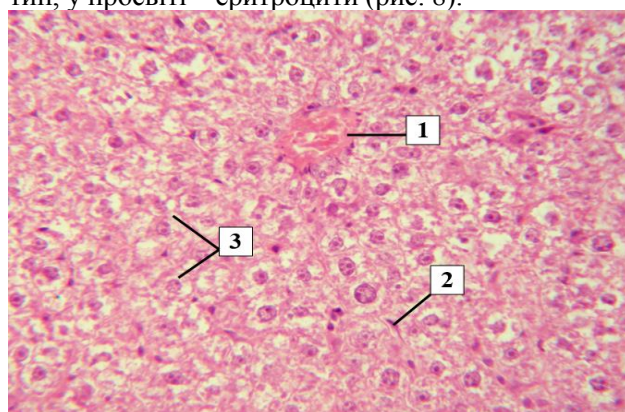


Рис. 8. Структурна організація печінки щура-самця із інсулінорезистентністю та вродженим йододефіцитом. Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: $\times 400$: 1 – глікоген стінки центральної вени; 2 – ендотеліоцити стиснутих синусоїдних гемокапілярів; 3 – просвітлення цитоплазми збільшених у розмірі печінкових клітин

Співнапрямлені структурні зміни гепатоцитів спостерігали у самок. У результаті проведення порівняльного аналізу встановлено, що розміри печінкових клітин на 10,6 % ($p < 0,05$) перевищують такі у самців відповідної дослідної групи та на 16,6 % ($p < 0,05$) перевищують площу клітин при поєднанні інсулінорезистентності та набутого йододефіциту у самок. Ядерно-цитоплазматичний індекс у самок є найнижчим поміж усіх дослідних груп, що свідчить про домінування дистрофічних процесів у цитопла-

змі і ослаблення репаративних процесів у клітині.

Висновок. ІР супроводжується розвитком дистрофічних змін у гепатоцитах. Негативно впливає на ступінь таких процесів йодний дефіцит, особливо вроджений. Гепатобіліарний ризик за умов ІР на тлі йодної депривації вищий у самок.

Перспективи подальшого дослідження. Розширення превентивних заходів розвитку метаболічного синдрому та супутньої патології для мешканців ендемічних регіонів.

Список використаної літератури

1. Исмаилов СИ, Гулямова ХР, Ахмедова ШУ, Максимова НН. Взаимосвязь сахарного диабета и тиреодной патологии (обзор литературы). *Международный эндокринологический журнал*. 2015;3(67):148-52.
2. Шупрович АА, Гуріна НМ, Корпачева-Зінич ОВ. Нарушения обмена сечевой кислоты у щурів з експериментальним інсулінорезистентним синдромом, індукованим фруктозою. *Фізіологічний журнал*. 2011;57(1):72-81.
3. Martinez-Galan JR, Pedraza P, Santacana M. Early effect of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus. *J Clin Invest*. 1997;99:2701-9.
4. Багрій ММ, Діброва ВА. *Методики морфологічних досліджень: монографія*. Вінниця: Нова книга; 2016.

References

1. Ismailov SI, Huliamova KhR, Akhmedova ShU, Maksutova NN. Vzaimosvyaz' sakharnogo diabeta i tireoidnoy patologii (obzor literatury) [Correlation of diabetes mellitus and thyroid pathology (literature review)]. *International Journal of Endocrinology*. 2015;3(67):148-52. (in Russian).
2. Shuprovych AA. Porushennya obminu sechovoyi kysloty u shchuriv z eksperymental'nym insulinoresyistentnym synd-romom, indukovanym fruktozoyu [Violation of uric acid metabolism in rats with experimental insulin resistant syndrome induced by fructose]. *Fiziol Zh*. 2011;57(1):72-81. (in Ukrainian).
3. Martinez-Galan JR, Pedraza P, Santacana M. Early effect of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus. *J Clin Invest*. 1997;99:2701-9.
4. Bagriy MM, Dibrova VA. *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen'* [Methods of morphological research]. Vinnitsa: Nova knyha; 2016. (in Ukrainian).

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ У КРЫС С ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ НА ФОНЕ ПРИОБРЕТЕННОГО И ВРОЖДЕННОГО ЙОДОДЕФИЦИТА

Резюме. У крыс с инсулинорезистентностью (ИР) выявлено развитие регенераторных процессов у клетках печени, в частности, в ядрах, на что указывает увеличение ядерно-цитоплазматического индекса и наличие двуядерных гепатоцитов. Однако напряженность регенераторного процесса невысокая (установлено уменьшение соотношения площади ядра к площади ядра гепатоцитов). Половой диморфизм состоит в наличии очагов жировой дистрофии и выраженном очаговом характере дистрофических процессов гепатоцитов у самок по сравнению с самцами, у которых дистрофия имеет более диффузный характер. Отягощает развитие структурных изменений в печени йододефицит, особенно, врожденный. Гепатобилиарный риск в условиях ИР на фоне йодной депривации выше у самок.

Ключевые слова: инсулинорезистентность; приобретенный йододефицит; врожденный йододефицит; структура печени; половой диморфизм.

STRUCTURAL CHANGES OF THE LIVER IN RATS WITH INSULIN RESISTANCE AGAINST THE BACKGROUND OF ACQUIRED AND CONGENITAL IODINE DEFICIENCY

Abstract. The age and gender characteristics of the metabolic syndrome and hypothyroidism development, as well as the differences between the hormonal balance of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis, changes in the lipid profile of blood under conditions of thyroid dysfunction, are known. A dangerous manifestation of metabolic syndrome (insulin resistance and obesity) is non-alcoholic fatty liver disease. The purpose of the study: to establish in the experiment the structural features of the liver of rats with IP in the background of acquired and congenital iodine deficiency, taking into account sexual dimorphism. The studies were conducted on non-linear, sexually mature rats (males and females) weighing 150-180 g, which were divided into six

experimental groups (20 males and 20 females each). The IP animals were modeled by adding 10% fructose solution to drinking water for 8 weeks (2nd, 5th and 6th experimental groups). Animals of 3-6th experimental groups received iodine deficient diet, in particular, 4th and 6th - were on the second generation diet, 3rd and 5th - during the 45 days of the experiment. In rats with insulin resistance, there was revealed the development of regenerative processes in the cell, in particular, in the nucleus, which is indicated by an increase of the nuclear-cytoplasmic index and the presence of binuclear hepatocytes. But the intensity of the regenerative process is low (the decrease of the ratio of the nucleus area to the hepatocyte nucleus is determined). Sexual dimorphism is in the presence of foci of the fatty dystrophy of hepatocytes and the pronounced zonal character of hepatocyte dystrophic processes in females compared with males, whose dystrophy is more diffuse in nature. Aggravated the development of structural changes in the liver, iodine deficiency, in particular, congenital. Hepatobiliary risk under the conditions of the IR on the background of iodine deprivation is higher in females. **Key words:** insulin resistance, acquired iodine deficiency, congenital iodine deficiency, liver, sexual dimorphism.

Відомості про авторів:

Стецев'ят В.Б. – асистент кафедри фізіології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»;

Багрій Микола Миколайович – кандидат медичних наук, доцент кафедри патоморфології та судової медицини ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»;

Воронич-Семченко Наталія Миколаївна – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри фізіології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет».

Information about authors:

Stetsevyat V.B. – Assistant of the Department of Physiology SHEE «Ivano-Frankivsk National Medical University»;

Bagrii Mykola M. – Associate Professor, Department of Pathomorphology and Forensic Medicine SHEE «Ivano-Frankivsk National Medical University»;

Voronych-Semchenko Nataliia M. – Chief of the Physiology Department, Professor, SHEE «Ivano-Frankivsk National Medical University».

Надійшла 11.04.2019 р.

Рецензент – проф. Давиденко І.С. (Чернівці)