
Вопросы общей патологии

УДК 616.38–003.826:93

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ КРЫС ВИСТАР С МОДЕЛЬЮ АЛИМЕНТАРНОГО ОЖИРЕНИЯ

С. В. Мичурина¹, доктор медицинских наук,
Д. В. Васендин^{2*}, кандидат медицинских наук,
И. Ю. Ищенко¹, кандидат биологических наук

¹ ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии Сибирского отделения Российской академии медицинских наук», 630117, Россия, г. Новосибирск, ул. Академика Тимакова, д. 2

² ФГБОУ ВПО «Сибирская государственная геодезическая академия» Минобрнауки России, 630108, Россия, г. Новосибирск, ул. Плеханова, д. 10

РЕЗЮМЕ Целью исследования явилось изучение морфологических изменений в печени крыс линии Вистар с экспериментальным алиментарным ожирением, в стандартный пищевой рацион которых добавлялись жиры животного происхождения без ограничений в течение 3 месяцев. Определяли относительные площади сети синусоидов, ядер и цитоплазмы гепатоцитов, численные плотности синусоидных клеток, гепатоцитов и двухъядерных паренхиматозных клеток; рассчитывали ядерно-цитоплазматическое отношение, отношение численной плотности синусоидных клеток к численной плотности всех гепатоцитов, вычисляли долю диплокариоцитов от общего числа гепатоцитов, рассчитывали коэффициент Vizotto – отношение площади сети синусоидов к площади паренхимы всех гепатоцитов. Установлено, что экспериментальное алиментарное ожирение приводит к значительным структурным изменениям в печени крыс. Структурные изменения в паренхиматозных клетках сопровождаются функциональным напряжением капилляро-соединительнотканых структур, нарушением кровообращения и лимфотока в печени.

Ключевые слова: печень, алиментарное ожирение, эксперимент, крысы линии Вистар.

* Ответственный за переписку: vasendindv@gmail.com.

В настоящее время ожирение является одним из самых распространенных метаболических нарушений у взрослого населения, особенно в экономически развитых странах, где ожирением страдают 25–30% населения. В России в среднем 30% лиц трудоспособного возраста имеют ожирение и 25% – избыточную массу тела. До 1980 г. частота

ожирения в индустриально развитых странах не превышала 10%, а уже в 2005 г. свыше 1,6 млрд жителей планеты имели избыточный вес, в том числе более 400 млн – ожирение. Согласно прогнозам, к 2016 г. избыточная масса тела будет отмечаться у 2,3 млрд человек, ожирение – более чем у 700 млн [5]. Помимо того, что ожирение само

S. V. Michurina, D. V. Vasendin, I. Yu. Ishchenko

LIVER MORPHOLOGICAL ALTERATIONS IN WISTAR RATS WITH ALIMENTARY OBESITY MODEL

ABSTRACT The authors studied liver morphological alterations in Wistar rats with alimentary obesity model. Fats of animal origin were added to the standard diet without any restrictions within 3 months. Relative squares of sinusoid net, nuclei and hepatocyte cytoplasm, numerical density of sinusoidal cells, hepatocyte and dual-core parenchymatous cells were determined; nuclear/cytoplasmic ratio and numerical density of sinusoidal cells/numerical density of all hepatocytes ratio were calculated; share of dual-core hepatocytes in the total number of erythrocytes was calculated; Vizotto coefficient (sinusoidal net square/all hepatocytes parenchyma square ratio) was calculated. It was stated that experimental alimentary obesity resulted in significant structural alterations in rat liver. Structural changes in parenchymatous cells were accompanied by functional tension in capillary/connective tissue structures and by disturbances of circulation and lymph flow in rat liver.

Key words: liver, alimentary obesity, experiment, Wistar rats.

по себе вызывает серьезные метаболические нарушения, оно также в большинстве случаев предрасполагает к развитию тяжелых заболеваний, таких как атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, инсулинонезависимый сахарный диабет, заболевания печени, эндокринной системы и др. [3]. При ожирении страдают практически все системы организма, при этом уникальным органом, где перекрещиваются все метаболические пути и осуществляются ключевые обменные процессы, является печень. В связи с важностью проблемы диагностики и терапии ожирения, профилактики его осложнений представляется актуальным выяснение того, в какой мере страдают клетки печени и окружающие ткани в целом, в экспериментальной модели ожирения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовались половозрелые крысы-самки Вистар с исходной массой тела 180–200 г в возрасте 2 месяцев. Было выделено 2 группы по 25 животных в каждой: контрольная группа (интактные крысы) и основная группа, к стандартному лабораторному пищевому рациону которой добавляли пищевые жиры животного происхождения в течение 3 месяцев – создавалась экспериментальная модель алиментарного ожирения. Животных забивали под этиминаловым наркозом (40 мг на кг массы тела животного) путем декапитации. Для морфометрического и светооптического исследований по общепринятой методике гистологические препараты фиксировали в растворе по Телесницкому. Морфометрическое исследование препаратов печени проводили при увеличении в 1000 раз на срезах толщиной 5 мкм, окрашенных гематоксилином Майера и эозином, с использованием метода наложения точечных морфометрических сеток (сетка 256 точек) [1]. Определяли относительные площади сети синусоидов, ядер и цитоплазмы гепатоцитов, численные плотности синусоидных клеток, гепатоцитов и двуядерных паренхиматозных клеток; рассчитывали ядерно-цитоплазматическое отношение, отношение численной плотности синусоидных клеток к численной плотности всех гепатоцитов, вычисляли долю диплокариоцитов от общего числа гепатоцитов, рассчитывали коэффициент Vizotto [11] – отношение площади сети синусоидов к площади паренхимы всех гепатоцитов. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с применением параметрического t-критерия Стьюдента [4]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Все экспериментальные работы выполнены с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите

позвоночных животных, используемых для лабораторных или иных целей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование показало, что абсолютная масса печени животных с экспериментальным ожирением увеличилась на 32% по сравнению с контрольной группой, что соответствует I степени ожирения [3].

Морфометрически установлено, что у крыс с экспериментальным алиментарным ожирением структурно-функциональные показатели клеток паренхимы и стромы, а также микроциркуляторного русла имеют значительные статистически значимые различия. Относительная площадь цитоплазмы у животных основной группы была больше, чем у контрольной: $73,42 \pm 0,29$ и $70,84 \pm 0,34$ соответственно ($p < 0,05$). Относительная площадь ядер гепатоцитов при ожирении также была увеличена: $13,7 \pm 0,28$ и $8,92 \pm 0,19$ соответственно ($p < 0,05$). Таким образом, относительная площадь паренхимы возросла на 12%, при этом доля гепатоцитов с признаками жировой дистрофии составила $38,54 \pm 0,78$ (72% от числа всех паренхиматозных клеток на исследуемой площади) ($p < 0,05$), а средний размер гепатоцита возрос на 8,5%. Увеличение относительной площади ядер (на 54% по сравнению с контролем) превзошло рост площади цитоплазмы паренхиматозных клеток (на 12% по сравнению с контролем), и, как следствие, значительно повысилось ядерно-цитоплазматическое отношение – с $0,13 \pm 0,003$ до $0,19 \pm 0,004$ ($p < 0,05$), то есть почти в 1,5 раза. Именно увеличение размеров цитоплазмы и ядер гепатоцитов, приводящее в итоге к нарушению ядерно-цитоплазматического соотношения, является важнейшим признаком гипертрофии гепатоцитов, что согласуется с мнением ряда исследователей [6, 7]. Нами обнаружено значительное увеличение количества диплокариоцитов и возрастание их доли среди всех гепатоцитов (рис. 1).

Наблюдаемые изменения паренхиматозных клеток печени свидетельствуют об активизации обменных процессов как между ядром и цитоплазмой, так и между клеткой и внеклеточной средой, что обычно сопровождается высоким функциональным напряжением капилляро-соединительнотканых структур. В нашем эксперименте у животных с моделью ожирения структурно-функциональные перестройки в гепатоцитах проходили на фоне активации непаренхиматозных структур, что выражалось в возрастании относительной площади синусоидных клеток печени с $20,4 \pm 0,59$ до $17,26 \pm 0,57$ (на 56%) ($p < 0,05$) и в увеличе-

нии среднего размера «синусоидной клетки» (на 86%). При этом необходимо помнить, что в группу «синусоидных клеток» входят эндотелиальные клетки синусоидных капилляров, клетки Купфера, клетки Ито и Pit-клетки, или большие гранулодержущие лимфоциты. Анализ патогистологических препаратов печени крыс с моделью алиментарного ожирения обнаружил уменьшение в 2,2 раза относительной площади сети синусоидных капилляров в промежуточной зоне печеночных долек (с $20,12 \pm 0,26$ до $9,0 \pm 0,19$, $p < 0,05$). Основываясь на снижении (в 2,6 раза) коэффициента Vizotto (отношение удельной площади синусоидов к удельной площади гепатоцитов), можно предполагать две причины наблюдаемых изменений – либо усиление дренажной функции регионарных лимфатических узлов, либо недостаточность кровоснабжения при возросших потребностях паренхимы органа, что требует дальнейшего исследования.

Структура органа и балочное строение печеночных долек сохранялись. В паренхиме обнаружены обширные области гепатоцитов с признаками жировой дистрофии в виде множественных липидных капель различного размера (рис. 2).

Многочисленные липидные капли имели тенденцию к слиянию и образовывали крупные жировые капли без признаков растворения. При жировой дегенерации печени свободные жирные кислоты, холестерин и фосфолипиды накапливаются в лизосомах гепатоцитов. Одной из причин может быть нарушение окислительных процессов в митохондриях. При ожирении подавляется как окислительное фосфорилирование, так и β -окисление жирных кислот в митохондриях, развивается стеатоз [2].

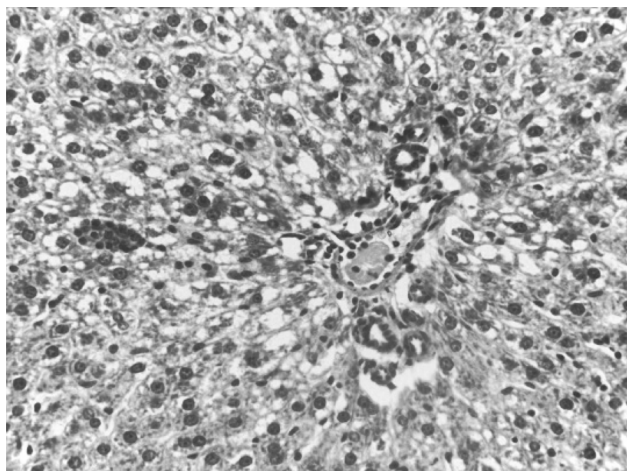


Рис. 1. Печень крыс основной группы. Увеличение количества диплокариоцитов. Окраска гематоксилином Майера и эозином. Объектив 40, окуляр 10

Основным механизмом возникновения стеатоза считают подавление секреции триглицеридов в составе липопротеидов очень низкой плотности клетками, что ведет к их накоплению в гепатоцитах [9, 10]. Выявлены признаки нарушения кровообращения и лимфотока: расширение поддольковых и внутридольковых вен, стаз эритроцитов в венах и артериях портального тракта, дилатация лимфатических пространств Малла и инфильтрация их клетками лимфоидного ряда, миграция лимфоцитов в паренхиму и перицентральные области. Расширение пространств Малла – щелей между паренхимой печени и соединительной тканью, окружающей ветви воротной вены – свидетельствует о напряженном состоянии путей тканевой несосудистой микроциркуляции. Внутри печеночных долек отмечено чередование участков расширенных кровеносных синусоидных капилляров с участками их спазмирования. В синусоидах обнаружены картины стаза крови сладжированными эритроцитами (микротромбирование).

ВЫВОДЫ

Таким образом, алиментарное ожирение приводит, с одной стороны, к развитию в паренхиме органа жировой дистрофии, а с другой – стимулирует функциональную активность гепатоцитов, что можно расценивать как компенсаторную реакцию (адаптивную перестройку) в ответ на повышенное потребление жиров животного происхождения. Структурные изменения в паренхиматозных клетках сопровождаются функциональным напряжением капилляро-соединительнотканых структур, нарушением кровообращения и лимфотока в печени.

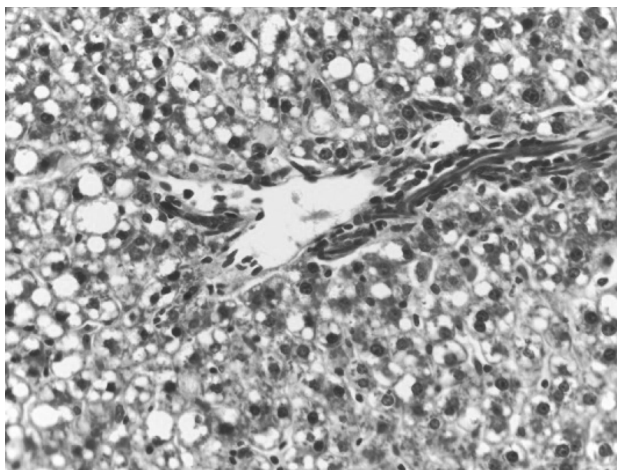


Рис. 2. Печень крыс основной группы. Многочисленные липидные капли в цитоплазме гепатоцитов. Окраска гематоксилином Майера и эозином. Объектив 40, окуляр 10

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия : руково / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.
2. Курганова, И. В. Показатели липидного и белкового обмена крови и состояние клеток печени при экспериментальном ожирении : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.16 / Курганова Инна Валерьевна. – Новосибирск, 2002. – 16 с.
3. Ожирение : рук-во для врачей / под ред. Н. А. Белякова и В. И. Мазурова. – СПб. СПбМАПО, 2003. – 520 с.
4. Плохинский, Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. – М. : МГУ, 1970. – 367 с.
5. Романцова, Т. И. Эпидемия ожирения: очевидные и вероятные причины / Т. И. Романцова // Ожирение и метаболизм. – 2011. – № 1. – С. 5–19.
6. Структурно-временная организация печени, лимфатической, иммунной, эндокринной систем при нарушении светового режима и введении мелатонина / Ю. И. Бородин [и др.]. – Новосибирск : Манускрипт, 2012. – 208 с.
7. Шкурупий, В. А. Ультраструктура клеток печени при стрессе / В. А. Шкурупий. – Новосибирск : Наука. Сиб. отделение, 1989. – 144 с.
8. Якушенко, С. М. Клиническая значимость морфологических индексов при хронических болезнях печени у детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.09 / Якушенко Сергей Михайлович. – М., 2005. – 25 с.
9. Freneaux, E. Steatoses hepatiques medicamenteuses a triglycerides / E. Freneaux, D. Larrey, D. Pessayre // Rev. Franc. Gastroenterol. – 1988. – Vol. 24, № 240. – P. 873–878.
10. Manne, J. Mechanisms for pleiotropic effects of the agouti gene / J. Manne, A. C. Argeson, L. D. Siracusa // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1995. – Vol. 92. – P. 4721–4724.
11. Vizotto, L. Characterization by morphometric of liver regeneration in the rat / L. Vizotto, F. Romani, V. F. Fernario // The Amer. J. of Anatomy. – 1989. – Vol. 185. – P. 444–454.