

## ВЕТЕРИНАРИЯ

УДК 616.316:613.24

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛИМЕНТАРНОГО ОЖИРЕНИЯ  
НА СТРУКТУРУ ПЕЧЕНИ КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР<sup>1</sup>Д. В. Васендин, кандидат медицинских наук<sup>2</sup>С. В. Мичурина, доктор медицинских наук, профессор<sup>2</sup>И. Ю. Ищенко, кандидат биологических наук<sup>1</sup>Сибирская государственная геодезическая академия<sup>2</sup>Новосибирский НИИ клинической  
и экспериментальной лимфологии

E-mail: vasendindv@gmail.com

<p><i>Ключевые слова:</i> печень, алиментарное ожирение, крысы линии Вистар</p>
---

*Реферат. Ожирение является в настоящее время важной социальной и медицинской проблемой. Печень представляет собой уникальный орган, где перекрещиваются все метаболические пути и осуществляются ключевые обменные процессы. Поэтому целью исследования было выявить и оценить характер структурных изменений в печени крыс линии Вистар в модели алиментарного ожирения. Задачи исследования: провести морфометрическое и светооптическое исследование печени, анализ морфометрических данных структуры и клеточного состава органа на светооптическом уровне при экспериментальном ожирении алиментарной этиологии. В эксперименте использовались половозрелые крысы-самки линии Вистар с исходной массой тела 180–200 г в возрасте 2 месяцев. Было выделено две группы животных: контрольная группа (интактные крысы, получавшие стандартный лабораторный пищевой рацион) и группа, животным которой создавалась модель алиментарного ожирения путем добавления к стандартному лабораторному рациону пищевых жиров животного происхождения в течение 3 месяцев. Животных забивали под этиловым наркозом (40 мг на 1 кг массы тела животного) путем декапитации. Для морфометрического и светооптического исследований (микроскоп LEICA DM 750, камера LEICA ICC 50 HD) гистологические препараты фиксировали в 10%-м забуференном формалине. Морфометрическое исследование препаратов печени проводили при увеличении в 1000 раз на срезах толщиной 5 мкм, окрашенных гематоксилином Майера и эозином, используя метод наложения точечных морфометрических сеток (сетка 256 точек). Определяли относительные площади сети синусоидов, ядер и цитоплазмы гепатоцитов, численные плотности синусоидных клеток, гепатоцитов и двудерных 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 развитию в паренхиме печени жировой дистрофии и одновременно стимулирует функциональную активность гепатоцитов. Структурные изменения в паренхиматозных клетках сопровождаются функциональным напряжением капилляро-соединительнотканых структур, выраженными нарушениями кровообращения и лимфотока в органе.*

Актуальной проблемой в функциональной морфологии печени остается выяснение того, какие сдвиги в структуре этого органа являются морфологическим субстратом его патологии.

В настоящее время ожирение является одним из самых распространенных метаболических нарушений, особенно среди взрослых популяций [1], при этом уникальным органом, где перекрещиваются все метаболические пути и осуществляются ключевые обменные процессы, является печень. Поэтому целью исследования было выявить и оценить характер структурных изменений в печени крыс линии Вистар в модели алиментарного ожирения.

Задачи исследования – провести морфометрическое и светооптическое исследование печени, анализ морфометрических данных структуры и клеточного состава органа на светооптическом уровне при экспериментальном ожирении алиментарной этиологии.

### ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В эксперименте использовались половозрелые крысы-самки линии Вистар с исходной массой тела 180–200 г в возрасте 2 месяцев. Было выделено две группы животных: контрольная группа (интактные крысы, получавшие стандартный лабораторный пищевой рацион) и группа, животным которой создавалась модель алиментарного ожирения путем добавления к стандартному лабораторному рациону пищевых жиров животного происхождения в течение 3 месяцев. Животных забивали под этиминаловым наркозом (40 мг на 1 кг массы тела животного) путем декапитации. Для морфометрического и светооптического исследований (микроскоп LEICA DM 750, камера LEICA ICC 50 HD) гистологические препараты фиксировали в 10%-м забуференном формалине. Морфометрическое исследование препаратов печени проводили при увеличении в 1000 раз на срезах толщиной 5 мкм, окрашенных гематоксилином Майера и эозином, используя метод наложения точечных морфометрических сеток [2]. 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 диплокариотозов от общего числа гепатоцитов, рассчитывали коэффициент Vizotto – отношение площади сети синусоидов к площади паренхимы всех гепатоцитов [3]. Статистическую обработ-

ку результатов исследования проводили методом вариационной статистики при помощи пакета программ Statistica 7.0. с использованием параметрического t-критерия Стьюдента [4]. Различия сравниваемых величин 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 ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование печени интактных животных и крыс с алиментарным ожирением показало, что абсолютная масса печени животных с экспериментальным ожирением увеличилась по сравнению с группой контроля на 32%. Такой прирост массы тела соответствует 1-й степени ожирения.

Структура органа и балочное строение печеночных долек сохранялись. На светооптическом уровне в паренхиме печени обнаружены обширные области с признаками жировой дистрофии гепатоцитов в виде многочисленных липидных капель различного размера.

Множественные липидные капли имели тенденцию к слиянию и образовывали крупные жировые капли. 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  $\beta$ -окисление жирных кислот в митохондриях, развивается стеатоз. Основным механизмом возникновения стеатоза считают подавление секреции триглицеридов в составе липопротеинов очень низкой плотности клетками, что ведет к их накоплению в гепатоцитах.

Выявлены признаки нарушения кровообращения и лимфотока: слабо выражена сеть синусоидных капилляров при неравномерности их кровенаполнения, 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 и формирование нелимфоидных агрегатов (лимфоидных узелков). Расширение лимфатических пространств Малла – щелей между паренхимой

печени и соединительной тканью, окружающей ветви воротной вены, – свидетельствует о напряженном состоянии путей тканевой несосудистой микроциркуляции, затруднении продвижения жидкостных составляющих, отводимых от печеночной дольки. При этом по расширенным тканевым щелям и лимфатическим сосудам происходит интенсивная миграция лимфоидных элементов и макрофагов.

Здесь уместно отметить, что именно макрофагам принадлежит определенная роль в формировании метаболического симптомокомплекса и развитии ожирения (точнее, жировой дистрофии гепатоцитов) как его компонента: макрофаги, подвергаясь воздействию модифицированных липопротеинов низкой плотности, экспрессируют на своей поверхности специфические (мусорщики) рецепторы, которые связывают и усваивают частицы липопротеинов низкой плотности.

Макрофаг, по мере того как его цитозоль переполняется холестерином, приобретает гистологические характеристики так называемой пенистой клетки. Последние усугубляют воспалительный процесс и формирование атеросклеротической бляшки путем продукции матриксных металлопротеиназ, пероксидов и супероксидов, цитокинов и тканевого прокоагулянтного фактора.

Пенистые клетки подвергаются апоптозу и некрозу, в конечном счете способствуя формированию и прогрессированию некротической сердцевинки атеросклеротических бляшек.

Наблюдается формирование нелимфоидных агрегатов, или лимфоидных узелков, которые рассматриваются как временные скопления лимфоидной ткани, формирующиеся в ответ на повреждение, в нашем случае – на избыточное поступление в организм жиров животного происхождения. Внутри печеночных долек отмечено чередование участков расширенных кровеносных синусоидных капилляров с участками их спазмирования. В синусоидах обнаружены картины стаза крови сладжированными эритроцитами (микротромбирование).

Морфометрически установлено, что у крыс с моделью алиментарного ожирения структурно-функциональные показатели клеток паренхимы и стромы, а также микроциркуляторного русла, имеют значительные статистически значимые изменения. Обнаружено, что у этих животных относительная площадь паренхимы увеличилась на 12%, при этом доля гепатоцитов с признаками жировой дистрофии составила 72% от числа всех паренхиматозных клеток на исследуемой площади, а средний размер гепатоцита возрос на 8,5% (таблица).

**Результаты морфометрического исследования срезов печени крыс (M ± m), %**

Показатели	Группа	
	контрольная	опытная
Цитоплазма гепатоцитов	70,84±0,34	73,42±0,29*
Ядро гепатоцитов	8,92±0,19	13,70±0,28*
Кровеносные синусоидальные капилляры	20,12±0,26	9,00±0,19*
Общее количество гепатоцитов	51,54±0,94	53,22±0,85
Количество неизмененных гепатоцитов	51,54±0,94	14,68±0,5*
Количество дистрофически измененных гепатоцитов	0	38,54±0,78*
Число двуядерных клеток	1,72±0,15	5,06±0,27*
Общее число синусоидальных клеток	20,40±0,59	17,26±0,57*
Ядерно-цитоплазматическое отношение	0,130±0,003	0,190±0,004*
Отношение числа синусоидальных клеток к числу всех гепатоцитов	0,40±0,01	0,33±0,01*
Отношение числа двуядерных гепатоцитов к числу всех гепатоцитов	0,030±0,003	0,100±0,006*
Отношение числа кровеносных синусоидальных капилляров к паренхиме	0,260±0,004	0,100±0,002*

\* Отличия достоверны в сравнении с контрольной группой при P < 0,05.

Увеличение относительной площади ядер паренхиматозных клеток (на 54% по сравнению с контролем) превзошло рост относительных размеров их цитоплазмы (на 12% по сравнению с контролем) и, как следствие, значительно повысилось ядерно-цитоплазматическое отношение – почти в 1,5 раза. Нами обнаружено значительное увеличение количества диплокариоцитов

и возрастание их доли среди всех гепатоцитов. 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 стромы органа, что выражалось в возрастании относительной площади синусоидных клеток печени (на 56 %) и в увеличении 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 гранулосодержащие 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. Основываясь на снижении (в 2,6 раза) соотношения удельной площади синусоидов к удельной площади гепатоцитов (коэффициента Vizotto), можно предполагать две причины наблюдаемых изменений – либо усиление дренажной функции регионарных лимфатических узлов, либо недостаточность в кровоснабжении при возросших потребностях паренхимы органа.

По мнению ряда исследователей, именно жировое перерождение печени, формирующееся в ответ на избыточное поступление в организм жиров животного происхождения, в ряде случаев приводит к выраженным изменениям функции печени с последующим развитием тяжелых нарушений и патологического симптомокомплекса, обозначаемого как «метаболический синдром» [5]. Обоснованным является мнение, что измененные функции печени являются первопричиной

нарушений обменных процессов, в первую очередь – процессов липидного обмена [6, 7], следовательно, нарушенное патологическое функционирование печени может быть самостоятельным, дополнительным и независимым фактором риска развития дислипидемий и других ассоциированных с ожирением заболеваний и состояний.

## ВЫВОДЫ

1. Экспериментальное 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 и адаптивную перестройку в ответ на повышенное потребление жиров животного происхождения.
2. Структурные изменения в паренхиматозных клетках сопровождаются функциональным напряжением капилляро-соединительнотканых структур, нарушением кровообращения и лимфотока в печени.
3. Алиментарное ожирение приводит к увеличению емкости синусоидных капилляров на фоне нарушений в системе оттока, что ведет к увеличению давления в синусной системе (это в итоге приводит к нарушению гемато-паренхиматозного барьера), ухудшению трофики паренхиматозных клеток органа, развитию тканевой (гистотоксической) гипоксии, создавая условия к запуску каскада фиброгенеза и инициации процессов некроза.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Ожирение: руководство для врачей* / под ред. Н. А. Беякова и В. И. Мазурова. – СПб.: Изд. дом СПбМАПО, 2003. – 520 с.
2. *Автандилов Г. Г.* Медицинская морфометрия: руководство. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
3. *Characterization by morphometric of liver regeneration in the rat* / L. Vizotto, F. Romani, V.F. Fernario [et al.] // *The Amer. J. of anatomy*. – 1989. – Vol. 185. – P. 444–454.
4. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. – М.: Высш. шк., 1990. – 352 с.
5. *Мартемьянова Е. Г.* Прогностическое значение оценки морфофункционального состояния печени у пациентов с метаболическим синдромом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Екатеринбург, 2012. – 22 с.
6. *Курганова И. В.* Показатели липидного и белкового обмена крови и состояние клеток печени при экспериментальном ожирении: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Новосибирск, 2002. – 16 с.
7. *Freneaux E., Larrey D., Pessayre D.* Steatoses hepatiques medicamenteuses a triglycerides // *Rev. Franc. Gastroenterol.* – 1988. – Vol. 24, N 240. – P. 873–878.

---

---

**THE INFLUENCE OF EXPERIMENTAL ALIMENTARY OBESITY ON THE STRUCTURE OF VISTAR LINE RATS' LIVER****D. V. Vasendin, S. V. Michurina, I. Yu. Ishchenko**

*Key words:* liver, alimentary obesity, Vistar line rats

*Summary.* At the present time obesity is an important social and medical problem. The liver is a unique organ where all metabolic ways cross and principle exchange processes run. Therefore the aim of research was to reveal and estimate the character of structural changes in the liver of Vistar line rats in the model of alimentary obesity. The objectives of the research are to carry out morphometric and light optics examination of the liver; to analyze the morphometric data in the structure and cell composition of the organ on the light optics level at experimental obesity of alimentary etiology. The experiment involved 2-month old sexually mature female-rats of Vistar line with the initial body weight 180–200 g. There were two groups of animals in the experiment: control (intact rats receiving standard laboratory food diet) and experimental (receiving the model of standard laboratory food diet added to by edible fats of animal origin during 3 months). The animals were slaughtered under etaminal anesthesia (40 mg per 1 kg of animal body weight) by decapitation. For the morphometric and light optics examinations (microscope LEICA DM 750, camera LEICA ICC 50 HD) histologic preparations were fixed in 10% buffered formalin. The morphometric examination of liver preparations was carried out with 1000-folded magnification in the cuts of 5mcm thick and stained with Mayer's hematoxylin and eosin using the method of applying point morphometric grids (a grid of 256 points). Relative areas of sinusoid networks, nuclei, and cytoplasm of hepatocytes, numerical densities of sinusoid cells, hepatocytes and binucleated parenchyma cells were determined; nuclear-cytoplasm ratio, the ratio of numerical density of sinusoid cells to the numerical density of all hepatocytes were calculated; the part of diplokaryocytes was calculated from the total number of hepatocytes, Vizotto coefficient was used to calculate the ratio of sinusoid network area to the area of parenchyma of all the hepatocytes. The experimental alimentary obesity is established to result in adipose dystrophy in liver parenchyma and simultaneous stimulation of hepatocytes functional activity. Structural changes in the parenchyma cells are concomitant with functional tension of capillary-connective tissue structures expressed by disorders in blood circulation and lymph flow in the organ.