

ЖИРОВОЙ ГЕПАТОЗ КРЫС ПРИ ВЫСОКОЖИРОВОЙ И ВЫСОКОУГЛЕВОДНОЙ ДИЕТЫ

*Илясов Азиз Саитмуродович — доктор биологических наук, профессор,
Навоийский инновационный университет*

*Джуманова Наргиза Эшмаматовна — соискатель, Навоийский
инновационный университет*

*Расулова Рухиона Максуджоновна - Студентка Навоийского
инновационного университета.*

Введение. Экспериментальные модели жирового гепатоза (ЖГ) используются для изучения механизмов формирования, выяснения роли различных факторов внешней и внутренней среды в становлении патологических процессов в печени, а также позволяют детально изучить патогенез и изыскать средства для рациональной терапии и профилактики [Cai-Yu Lian., et al. 2020., Лапшина Н.А., и др. 2021].

За последнее время многочисленными исследованиями выявлено, что у человека основным этиологическим фактором и предиктором неалкогольного жирового болезни печени (НАЖБП) является образ жизни: высококалорийное питание, избыточное потребление насыщенных жиров, рафинированных углеводов, подслащенных сахаром напитков и малоподвижный образ жизни [Джабраилова Х.А. и др. 2021]. Избыточное поступление калорий приводит к нарушению липидного и углеводного обмена, увеличению поступления свободных жирных кислот в печень и их внутриклеточному накоплению. При этом развивается стеатоз гепатоцитов, сопровождающийся митохондриальной дисфункцией, окислительным стрессом и воспалительными реакциями, что может служить пусковым механизмом прогрессирования НАЖБП до стеатогепатита и фиброза печени [Кузнецова И.В., и др. 2021].



При ЖГ у животных наблюдаются увеличение массы тела, гипергликемия, гиперлипидемия, инсулинорезистентность и накопление жира в печени. Исползованный высокожировой и высокоуглеводной диеты (ВЖВУД) обеспечивает высокую степень поедаемости корма животными и поддержание нормального водного баланса организма. Показатель воспроизводимости ЖГ при использовании данной модели в течение 12 нед достигает 100% [Янко Р.В., и др. 2021].

Экспериментальный рацион ВЖВУД в наибольшей степени соответствует рациону питания людей, страдающих ЖГ. Создание подобных животных моделей ВЖВУД остается по-прежнему актуальной задачей экспериментальной медицины.

Материалы и методы исследования. Гистологическое исследование является ключевым методом оценки изменений печени при ВЖВУД. Применение стандартных и специальных методов окраски (гематоксилин-эозин, Судан III/IV, ван Гизон) позволяет визуализировать структурные нарушения, отложение липидов и изменения соединительнотканного каркаса. Эти методы дают возможность комплексно оценивать морфофункциональное состояние печени и динамику патологических процессов.

В эксперименте использовались белые беспородные крысы. Животные содержались в стандартных выварных условиях при свободном доступе к воде и пище, с соблюдением температурного режима и светового дня (12/12 ч). Все процедуры проводились в соответствии с этическими принципами обращения с животными и одобрены локальным этическим комитетом.

Контрольная группа $n = 10$ содержалась на стандартном лабораторном корме. Каждая крыса ежедневно съедала 20 г комбикорма: белки 24%, жиры 6%, углеводы 44% и чистую воду (66,0 ккал в сутки на 1 крысу). Для моделирования ЖГ печени животные основной группы ($n = 20$) в течение срока 12 недель получали ВЖВУД. Каждая крыса получала 6 г специально приготовленного гранулированного корма «ВЖВУД» комбинированного



(жироуглеводного) высококалорийного рациона (70% стандартного комбикорма с добавлением 30% свиного смальца); 6,8 г свиного сала, 3,6 г белых сухарей; 3,6 г семян подсолнечника. Через день вместо воды подопытные крысы получали 10% раствор фруктозы (161,5 ккал в сутки на 1 крысу).

По окончании эксперимента животных выводили из опыта гуманным способом. Печень извлекали, фиксировали в 10 % нейтральном формалине, после чего проводили стандартную гистологическую обработку. Для получения срезов использовали микротом, толщина срезов составляла 4–5 мкм.

Срезы окрашивали следующими методами: Гематоксилин-эозин — для общей оценки гистоархитектоники ткани; Судан III — для выявления липидных включений (на замороженных срезах). Ван Гизон — для оценки соединительнотканного каркаса и состояния пучков коллагеновых волокон в печени.

Массу тела крыс еженедельно измеряли на весах SATURN (Китай). После выведения животных из эксперимента проводили диссекцию, взвешивание висцеральной жировой ткани и печени на лабораторных весах (Scout Pro, Китай). Массовые коэффициенты органов рассчитывали по формуле: $\text{массовый коэффициент} = (\text{масса органа} / \text{масса тела}) \cdot 100 \%$.

Биохимические показатели сыворотки крови крыс общий холестерин (ОХ), триглицериды (ТГ), общий билирубин (ОБ), аланинаминотрансферазу (АЛТ), аспаратаминотрансферазу (АСТ), щелочную фосфатазу (ЩФ) определяли общепринятыми методами на биохимическом автоматическом анализаторе BS 200.

Для оценки содержания ТГ в тканях органа использовали окраску суданом III. Исследование микропрепаратов, морфометрию и изготовление микрофотографий проводили с помощью светового микроскопа «Альтами LUM 1», оснащенного цифровой фотокамерой.



При условии нормальности распределения использовали параметрические методы статистики: данные представляли в виде среднего \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm SEM$), а статистическую значимость отличий оценивали на основании t-критерия Стьюдента. Данные считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение. В группе интактных животных патологических изменений выявлено не было. В группе контрольных животных у 62,5 % животных выявлены морфологические признаки ЖГ. Данные о летальности лабораторных животных в алиментарных моделях ЖГ немногочисленны. В основной массе источников она или не отмечалась, или такие результаты не были приведены. У животных, получавших при ВЖВУД, к концу эксперимента отмечалось увеличение массы тела в среднем на 25–30% по сравнению с контрольной группой.

У животных, получавших при ВЖВУД, к концу эксперимента отмечалось увеличение массы тела в среднем на 25–30% по сравнению с контрольной группой. В исследовании, где животные, получали гиперкалорийную диету с примерно равным соотношением жиров и углеводов (25,5% и 20,1% соответственно) к концу первого месяца исследования значимо прибавляли 40,0% от первоначальной массы тела.

У крыс экспериментальной группы визуально печень имела увеличенные размеры, более светлый оттенок и рыхлую консистенцию.

Гистологическое исследование выявило выраженные морфологические изменения в печени экспериментальных животных. На срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, наблюдалось увеличение размеров гепатоцитов, наличие жировых вакуолей различной величины, преимущественно в периферических отделах цитоплазмы, со смещением ядер к периферии клеток. Нарушалась балочная структура печени, расширялись синусоиды, местами выявлялись признаки начальных дистрофических изменений



В эксперименте при окрашивании Суданом III - липидные включения в гепатоцитах отчетливо визуализировались в виде красно-желтых капель, располагающихся диффузно. При окрашиваниях по Ван - Гизону выявили умеренное увеличение пучков коллагеновых волокон в портальных трактах и перисинусоидальных зонах, что может указывать на начальные проявления фиброза печени.

Анализ полученных данных эксперимента показывает, что ВЖВУД приводит к развитию типичных признаков ЖГ, аналогичных ранним стадиям ЖГ у человека. Накопление липидов в гепатоцитах сопровождается нарушением структуры ткани и активацией соединительнотканного компонента.

Помимо морфологических изменений печени, у животных опытной группы отмечались выраженные метаболические сдвиги, отражающие развитие ЖГ и нарушения обмена веществ. Наиболее существенные различия наблюдались в показателях липидного и углеводного обмена.

Анализ ключевых биохимических показателей сыворотки крови исследуемых групп животных выявил наличие нарушений липидного, углеводного, а также белкового обменов у контрольной группы. Нарушения липидного обмен проявлялись синдромом дислипидемии, а именно: гиперхолестеринемией и гипертриглицеридемией у контрольной группы животных, нарастающими на протяжении всего эксперимента. При этом в показателях интактной группы никаких значимых колебаний данных показателей не наблюдалось. Отмечено, что средний уровень триглицеридов (ТГ) животных через 12 месяцев пребывания на ВЖВУД в 1,9 раза превышал уровень интактной группы соответственно ($p < 0,05$).

По данными Буценко Н.С. и Костина О.А. (2020) накопление липидных вакуолей, смещение ядер к периферии клеток, дезорганизация балочной структуры, расширение синусоидов и умеренное увеличение количества коллагеновых волокон в портальных трактах сопровождаются значимыми сдвигами в биохимических показателях крови — гипергликемией,



гиперлипидемией и повышением активности печёночных ферментов (*АЛТ*, *АСТ*), что свидетельствует о нарушении обмена веществ и повреждении гепатоцитов.

При исследовании уровня трансаминаз перед окончанием эксперимента выявлена тенденция к повышению концентраций *АсАТ* и *АлАТ* сыворотки крови по сравнению с контрольной группы животных. В таблица 2. показаны биохимические показатели крови в эксперименте.

Влияние НАЖБП на показатели липидного обмена различно и зависит от морфологической формы заболевания, возраста пациентов, а также наличия сопутствующих заболеваний и синдромов. При исследования показывают прямую зависимость уровней *ОХ* и *ТГ* сыворотки крови от степени НАЖБП.

Также, изменения биохимических показателей крови могут быть связаны с преобладанием тех или иных веществ в диете. В исследованиях с выраженным преобладанием углеводов в диете у животных уровень *ТГ* и *ОХ* повышался, в исследованиях с преобладанием жирового компонента диеты наблюдалась тенденция к снижению их концентраций.

Многие исследования подчеркивают связь между *ЖГ* и несколькими факторами *МС*, включая абдоминальное ожирение, инсулинорезистентность (*ИР*) и дислипидемию.

В эксперименте при *ВЖВУД* накопление *ТГ* в печени, вероятно, является следствием избыточного окисления жирных кислот и секреции Липопротеид низкой плотности (*ЛПОНП*), поскольку оба этих пути активируются у пациентов с *ЖГ*.

Свободные жирные кислоты (*СЖК*) транспортируются в печень, где преобразуются в *ТГ*. Накопление триглицеридов в печени сопровождается нарушением энергетического обмена и способности инсулина подавлять продукцию глюкозы и *ЛПОНП*, что приводит к гипергликемии, гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии.



По мнению авторов возрастание концентрации липидов, холестерина и триглицеридов в ткани печени подопытных крыс свидетельствует о развитии ЖГ, который в дальнейшем может привести к стеатогепатиту и циррозу печени. В печени часть свободных жирных кислот этерифицируется с образованием триглицеридов, а часть вступает в реакции β -окисления, затем в цикл Кребса с образованием аденозинтрифосфата. При большом количестве жирных кислот образуется избыток триглицеридов, холестерина и липопротеинов очень низкой плотности, увеличивается их содержание в крови, а также накопление в гепатоцитах.

Развитие гипергликемии описано во множестве моделей НАЖБП при использовании гиперкалорийной диеты, насыщенной фруктозой. Так, добавление 10 % фруктозы в питьевую воду в эксперименте на крысах линии Wistar, приводило к возникновению гипергликемии на фоне сопутствующего ожирения и нарушений липидного обмена.

Таким образом, модель ЖГ крыс характеризуется не только схожестью условий формирования (гиперкалорийное питание и с развитие висцерального ожирения), но и морфологическими (признаки стеатогепатита) и биохимическими (дислипидемия, гипергликемия) проявлениями. Однако, значимым недостатком модели ЖГ является высокая продолжительность формирования патологии, и как следствие – ее трудозатратность. Но данные результаты исследование дополняют морфофункциональные показатели и подтверждают формирование у животных экспериментальной модели МС и ЖГ, аналогичной НАЖБП у человека.

ВЫВОДЫ.

1. Длительное воздействие ВЖВУД приводит к развитию у животных выраженных морфологических и биохимических изменений, (возрастание концентрации глюкозы, триглицеридов и холестерина) отражающих развитием гипергликемии и дислипидемии.



2. Повышение активности АЛТ и АСТ указывает на цитолитический синдром, связанный с нарушением морфофункциональных структур гепатоцитов что приводит развитием МС в печени.
3. Модель ЖГ на основе комбинированного ВЖВУД у всех лабораторных крыс может быть использована для дальнейшего изучения патогенеза заболевания, а также для профилактических подходов к данной патологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cai-Yu Lian, Zhen-Zhen Zhai, Zi-Fa Li, et al. High fat diet triggered nonalcoholic fatty liver disease: A review of proposed mechanisms. *Chemico-Biological Interactions*. 2020; 330:109-199. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.109199>.
2. Лапшина Н.А., Климова И.А. Морфофункциональные изменения печени при избыточном калораже рациона у лабораторных животных //Морфология. 2021. – Т. 160, № 4. – С. 45–52.
3. Джабраилова Х.А., Исмаилова А.А. Роль жировой дистрофии печени в формировании метаболического синдрома //Медицинский вестник. – 2021. – № 3. – С. 55–60.
4. Кузнецова И. В., Петрова О. С., Лапшина Н. А. Морфологические аспекты ранних стадий неалкогольной жировой болезни печени //Российский медицинский журнал. – 2021. – № 3. – С. 45–51.
5. Янко Р.В., Чака Е.Г., Зинченко А.С., Сафонов С.Л., Левашов М.И. Особенности моделирования жирового гепатоза у крыс разного возраста на основе высококалорийного рациона //Ожирение и метаболизм. — 2021. — Т. 18. — №4. – 387-397. doi: <https://doi.org/10.14341/omet12789>— С. 34-39.

