УДК 616.36–008–092.9–02:613.2:613.863

***М.А. Кузнецова***

***Харьковский национальный медицинский университет***

**ВЛИЯНИЕ гиперкалорийного рациона питания БЕРЕМЕННЫХ КРЫС НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ**

**Введение**

 Патология печени занимает одно из ведущих мест среди заболеваний органов пищеварения. По информации ВОЗ в мире более 2 млрд. человек страдает заболеваниями печени, что в 100 раз превышает распространенность ВИЧ-инфекции. В Украине за последние 10 лет данный показатель увеличился на 20,1% [1]. Среди беременных заболевания печени являются одной из наиболее распространенных (составляет 3-5% от всех заболеваний) и значимых форм гестационной патологии [2]. Согласно статистическим данным, за последние годы в структуре поражений печени преобладают алкогольные и вирусные гепатиты и циррозы, увеличился процент опухолевой патологии печени, аутоиммунных заболеваний и поражение печени вследствие нарушений обмена веществ, в том числе ожирения [3,4].

 Достаточно много экспериментальных исследований посвящено изучению влияния ожирения, вызванного высокожировым рационом питания на организм небеременных самок крыс [5,6,7]. Были выявлены гипертрофия гепатоцитов, накопление в них жировых вакуолей и нарушение внутриклеточной архитектоники преимущественно в перипортальной зоне, угнетение макрофагальной системы печени (снижение количество и функциональная активность клеток Купфера) [5,6].

 Установлено роль алиментарного фактора в развитии ожирения, липидных нарушений и инсулинорезистентности у беременных женщин [8]. В экспериментах на грызунах показано, что высококалорийное питание приводит к уменьшению количества митахондриальной ДНК в печени [9].

 Но, не смотря на наличие работ, посвященных изучению влияния экзогенных факторов на организм крыс комплексное действие несбалансированного рациона питания с избытком жиров и углеводов на морфофункциональное состояние печени беременных самок крыс остается не до конца изученным.

**Цель работы** – изучение влияния нерационального питания с избытком углеводов и жиров на морфофункциональное состояние печени беременных крыс.

**Материал и методы исследования.** Экспериментальное исследование проведено на 3-месячных рандомбредных крысах-самках популяции WAG/G Sto, которых были разделены на две группы: 7 самок, получавших в период беременности рациональное питание, составили 1-ю группу (контрольную); 6 самок, которые на протяжении беременности получали нерациональное питание с избытком углеводов и жиров, включены во 2-ю группу (основную). Моделирование влияния алиментарного фактора на крыс осуществлялось с использованием экспериментальной модели, разработанной на кафедре патологической физиологии им. Д.Е. Альперна Харьковского национального медицинского университета [10].

 Морфологическое исследование ткани печени проведено по об-щепринятым методикам [11]. В ткани печени исследован фракционный состав липидов (холестерина – ХС, фосфолипидов – ФЛ, триглицеридов – ТГ, неэстерифицированных жирных кислот – НЭЖК) методом тонкослойной хроматографии на пластинах Silufol [12, С.559-565] и содержание гликогена (ГГ) спектрофотометрическим методом по В.Г. Асатиани [12,С.522-528]. В сыворотке крови определялся уровень аланин- и аспартатаминотрансферазы (АлАТ, АсАТ), γ-глутамилтрансферазы (ГГТ), сорбитолдегидрогеназы (СДГ), общего белка и его фракций (альбуминов, α1-, α2-, β-, γ-глобулинов), мочевины и глюкозы спектрофотометрическим методом с помощью наборов реактивов «Филисит Диагностикум» (Днепр, Украина), ХС, ТГ, липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) с помощью наборов реактивов фирмы «Ольвекс» (Россия), липопротеидов низкой и очень низкой плотности (ЛПНП, ЛПОНП) расчётным методом [12,С.409].

Исследования выполнены с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Выведение животных из эксперимента проводилось сразу после рождения крысят с использованием высоких концентраций диоксида углерода (СО2) с последующей декапитацией. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы STATISTICA-10. Для определения достоверности отличий использовали критерий U Манна-Уитни.

**Результаты и их обсуждение.** При макроскопическом исследовании существенных отличий ткани печени у крыс основной (2-й) и контрольной (1-й) групп не выявлено. При микроскопическом исследовании в печени крыс, получавших гиперкалорийную диету устано-влены существенные отличия от животных группы контроля в виде дискомплексации балочно-радиарного строения. В центрах долек гепатоциты зачастую были в состоянии белковой дистрофии, а перипортально обнаруживались набухшие гепатоциты со светлой пенистой цитоплазмой и пикнотичными гиперхромными ядрами, что свидете-льствует о нарушении их морфофункциональной активности.

 Степень повреждения паренхимы печени оценивалась на основании определения регенераторной активности и определения относительного объёма элементов паренхимы и стромы с вычислением стро-мально-паренхиматозного индекса (СПИ).

 Регенераторная активность печени оценивалась на основании подсчёта количества двуядерных гепатоцитов в процентном соотношении к их одноядерным формам. Установлено, что у крыс 2-й гр. количество двуядерных гепатоцитов в 1,5 раза (p<0,05) превышает их количество у животных 1-й гр. (соответственно 3,44±0,03% и 2,37±0,03%). Это свидетельствует об умеренной интенсивности повреждения печени и активации процесса регенерации паренхимы.

 Результаты исследования структурных элементов печени представлены в табл. 1. Установлено, что у крыс 2-й гр. имеет место досто-верное уменьшение объёма паренхимы увеличение объёма стромаль-ной части печени; СПИ увеличен на 5,2% (р<0,05). Полученные дан- ные свидетельствуют об активации процесса пролиферации в строме

Таблица 1

**Структурные элементы печени у крыс (М±m)**

|  |  |
| --- | --- |
| Структурные элементы | Группа исследования |
| 1 группа (n=7) | 2 группа (n=6) |
| Строма, % | 28,1±1,1 | 29,3±1,1\* |
| Паренхима, % | 71,9±1,1 | 70,7±1,1\* |
| Стромально-паренхиматозный индекс (СПИ) | 0,39±0,01 | 0,41±0,01\* |

Примечание: \* - р<0,05 – сравнение с 1-й гр.

печени, что чревато развитием её фиброза в дальнейшем.

 Для оценки функционального состояния печени было проведены биохимические исследования крови и ткани печени, результаты которых представлены в таблицах 2 и 3.

В сыворотке крови крыс 1-й гр. (см. табл. 1) повышается активность органоспецифического «печёночного» фермента – СДГ (на 48,46%, p<0,05), что свидетельствует о дестабилизации мембраны ге-

патоцитов и «утечке» фермента из цитозоля. В то же время активность АсАТ, АлАТ изменяется умеренно, а ГГТ практически не изменяется, что может быть связано со снижением содержания или активности этих ферментов в гепатоцитах.

Таблица 2

**Уровень биохимических показателей функционального состояния печени в сыворотке крови крыс (М±m)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | 1 группа (n=6) | 2 группа (n=7) |
| АсАТ, нмоль/с·л | 27,07±0,84 | 25,79±0,63\*\* |
| АлАТ, нмоль/с·л | 28,13±0,92 | 26,64±1,71\* |
| ГГТ, нмоль/с·л | 143,65±3,67 | 134,14±4,13 |
| СДГ, нмоль/с·л | 5,63±0,62 | 8,36±0,23\* |
| Общий белок, г/л | 64,86±1,01 | 69,32±0,68\*\* |
|  альбумина, % | 52,48±0,75 | 50,75±0,64 |
|  α1-глобулины, % | 8,05±0,39 | 7,25±0,24 |
|  α2-глобулины, % | 8,25±0,45 | 10,4±0,39\*\* |
|  β-глобулины, % | 14,09±1,09 | 16,91±0,61\* |
|  γ-глобулины, % | 16,39±0,65 | 14,74±0,53\* |
| Мочевина, моль/л | 7,67±0,23 | 3,14±0,27\* |
| Холестерин, ммоль/л | 6,63±0,21 | 6,94±0,25\* |
| Триглицериды, ммоль/л | 1,07±0,32 | 2,69±0,14\*\* |
| ЛПНП, ммоль/л | 2,86±0,15 | 3,32±0,17\* |
| ЛПОНП, ммоль/л | 0,49±0,14 | 1,15±0,06\*\* |
| ЛПВП, ммоль/л | 3,24±0,32 | 1,9±0,17\* |
| Глюкоза, ммоль/л | 6,17±0,34 | 7,81±0,27\*\* |
| Кетоновые тела, ммоль/л | 1,85±0,35 | 4,11±0,29\*\* |

Примечание: \* - р<0,05; \*\* - р<0,01 – сравнение с 1-й гр.

Таблица 3

**Уровень биохимических показателей функционального состояния печени в гомогенате печени крыс (М±m)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | 1 группа (n=6) | 2 группа (n=7) |
| Холестерин, мг/г | 0,64±0,04 | 0,46±0,03\*\* |
| Фосфолипиды, мг/г | 24,37±1,34 | 20,68±1,05 |
| Триглицериды, мг/г | 5,71±0,82 | 9±0,16\*\* |
| НЭЖК, мг/г | 8,55±1,3 | 14,36±0,42\*\* |
| Гликоген, мг/г | 26,38±1,43 | 26,07±2,46 |

Примечание: \* - р<0,05; \*\* - р<0,01 – сравнение с 1-й гр.

В сыворотке крови крыс 2-й гр. содержание общего белка и альбуминов соответствуют их уровню у животных 1-й гр. (см. табл. 2), отмечается повышение α2- и β-глобулинов (на 26,08% и 19,97% соответственно), по-видимому за счёт повышения содержания транспортных белков и ЛПОНП; выявлено уменьшение γ-глобулинов (на 10,04%). Такие показатели свидетельствуют о наличии диспротеинемии, обусловленной особенностями питания.

Содержание ХС в сыворотке крови крыс 2-й гр. соответствует их уровню у крыс 1-й гр., а ТГ – достоверно выше (на 151,24%), соот- ветственно в крови повышено содержание ЛПОНП на 136,37% (см. табл. 2). Анализ содержания липидов в гомогенате печени показал, что ХС снижен (на 27,86%) (см. табл. 3) в связи с повышением его се-

креции в составе липопротеинов. Следует отметить, что в печени повышено содержание ТГ и НЭЖК (на 57,65% и 67,89% соответственно) (см. табл. 3), что при повышении уровня ЛПОНП в сыворотке крови свидетельствует об активации синтеза и секреции (возможно и депонирования) ТГ. Концентрация ЛПВП в крови достоверно снижена (на 41,31%) (см. табл. 2), что при достаточном уровне ФЛ в печени (см. табл. 3), свидетельствует об увеличении захвата ЛПВП тканями в связи с создающимся избытком ХС.

Выявленные нарушения в липидном спектре сыворотки крови можно рассматривать как риск развития сахарного диабета (СД) 2 типа и жировой инфильтрации печени. Это подтверждается достоверным повышением содержания в сыворотке крови крыс глюкозы (на 26,58%) и КТ (на 121,89%), что свидетельствует о снижении толеран-тности к глюкозе и, в связи с этим, повышении кетогенеза.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что у крыс, находившихся на высококалорийной диете в течение беременности, развивается дислипидемия (с повышением уровня ЛПНП, ЛПОНП, ХС, ТГ), гипергликемия, что можно расценивать как риск развития СД 2 типа.

В гомогенате печени крыс выявлены повышение уровня ТГ и НЭЖК (см. табл. 3), что чревато повышенным накоплением липидов печени. Это подтверждается данными исследования сыворотки крови и свидетельствует о наличии функциональных нарушений в органе на момент эксперимента и может стать причиной развития в будущем стеатоза, стеатогепатита и другой патологии печени.

**Выводы**

1. Питание с избытком жиров и углеводов в рационе беременных самок приводит к морфофункциональным нарушениям печени, проявлявшимся дискомплексацией балочно-радиарного строения, бел-ковой дистрофией гепатоцитов, повышенной регенераторной акти-вностью органа и повышением СПИ в ткани печени, которые могут стать причиной развития фиброза печени.
2. Функциональные изменения печени проявлялись диспротеинемией, гиперлипидемией (повышение уровня ХС, ЛПНП, ТГ, ЛПОНП, ЛПНП) и гипергликемией, что является фактором риска развития инсулинорезистентности, а, следовательно, СД 2 типа.
3. Биохимические показатели ткани печени свидетельствуют о нару-шении в ней жирового обмена в виде снижения общего ХС, ФЛ и накопления ТГ и НЭЖК, что может привести впоследствии к жировому гепатозу и различной органической патологии печени.

**Список использованной литературы**

1. Дудук Н. И., Зиматкин С. М. Холестаз беременных и его последствия для матери и потомства// Журнал Гр ГМУ. 2011. №1. С. 3.
2. Ибальдин А. С., Шарунов Г. И., Буираев К. М. Заболевания печени у беременных, принципы лечения// Вестник Каз НМУ. 2013. №4 (2). С. 269.
3. Романцова Т.И. Эпидемия ожирения: очевидные и вероятные причины // Ожирение и метаболизм. 2011. №1. С. 5–19.
4. Чабанова Н. Б., Василькова Т. Н., Василькова Г. А. Материнское ожирение как фактор риска гестационных осложнений// Евразийский союз ученых. 2016. №30-1. С. 84-85.
5. Васендин Д. В., Мичурина С. В., Ищенко И.Ю. Морфологические особенности печени крыс Вистар при экспериментальном ожирении // Вестник Ивановской Медицинской академии. 2014. Т. 19. №4. С. 19 – 22.
6. Новгородцева Т. П., Караман Ю. К., Бивалькевич Н. В. Состав липидов эритроцитов крыс при развитии фиброза печени в условиях алиментарной дислипидемии // Бюллетень РАМН. 2010. Т. 30. №1. С. 53 - 58.
7. Курганова И. В. Показатели липидного и белкового обмена крови и состояние клеток печени при экспериментальном ожирении: автореф. дис. … канд. мед. наук – Новосибирск, 2002. – 16с.
8. DelCurto H., Wu G., Satterfield M. C. Nutrition and reproduction: links to epigenetics and metabolic syndrome in offspring // Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care. 2013. V. 16. №2. P. 385-391.
9. Cetin I., Berti C., Calabrese S. Role of micronutrients in the periconceptional period // Hum Reprod Update. 2010. V. 16. №1. P. 80-95.
10. Пат. 80979 Україна МПК G09B 23/28 (2006.01) Спосіб моделювання надмірної ваги/ Ніколаєва О. В., Ковальцова М. В., Євтушенко Т. Г.; заявник та патентовласник Харківський національний медичний університет . - № u 2013 01221; заявл. 01.02. 2013; опубл. 10.06.2013, Бюл. № 11.
11. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. 384с.
12. Камышников В. С. Методы клинических лабораторных исследований. Москва: «Медипресс – информ», 2016. 736с.

***М.А. Кузнецова***

ВЛИЯНИЕ гиперкалорийного рациона питания БЕРЕМЕННЫХ КРЫС НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ

Исследовано морфофункциональное состояние печени 7 крыс, получавших в течение беременности несбалансированное питание с избытком углеводов и жиров, и 6 крыс группы контроля. Морфологические изменения органа у крыс 2-й гр. заключались в дискомплексации балочно-радиарного строения, белковой дистрофии гепатоцитов, повышении регенераторной активностью печени и повышении СПИ в ткани печени. Функциональные нарушения проявлялись развитием диспротеинемии, гиперлипидемии, гипергликемии, гиперкетонемии. Это свидетельствует о наличии риска развития у животных фиброза печени, жирового гепатоза и СД 2 типа.

*Ключевые слова*: морфофункциональное состояние печени, гиперкалорийная диета, беременные крысы.

***М.О. Кузнецова***

ВПЛИВ гІперкалорІйного рацІонУ ХАРЧУВАННя ВАГІТНИХ ЩУРІВ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ

Досліджено морфофункціональний стан печінки 7 щурів, що от-римували впродовж вагітності незбалансоване харчування з надлишком вуглеводів і жирів, і 6 щурів групи контролю. Морфологічні зміни органу у щурів 2-й гр. полягали в дискомплексації балочно-радіарної будови, білкової дистрофії гепатоцитів, підвищенні регенераторної активності печінки і підвищенні СПІ в тканині печінки. Функціональні порушення проявлялися розвитком диспротеїнемії, гіперліпідемії, гіперглікемії, гіперкетонемії. Це свідчить про наявність ризику розвитку у тварин фіброзу печінки, жирового гепатозу і ЦД 2 типу.

*Ключові слова*: морфофункціональний стан печінки, гіперкалорійна дієта, вагітні щури.

***M.O. Kuznetcova***

Impact of the hypercaloric food on the morphological functional state of the liver pregnant rats

 The study involved examination of morphofunctional state of the liver in 7 rats receiving an unbalanced diet with an excess of carbohydrates and fats during pregnancy, and 6 rats in the control group. Morphological changes in the organ in rats of the 2nd group included discomplexation of lamino-radial structure, protein dystrophy of hepatocytes, increased regenerative activity of the liver, and enhanced conduction velocity in liver tissue. Functional disorders were manifested in the development of disproteinemia, hyperlipidemia, hyperglycemia and hyperketonemia. This indicated a risk of developing liver fibrosis, fatty hepatosis, and type 2 diabetes in the animals.

*Key words:* morphofunctional state of the liver, hypercaloric diet, pregnant rats.