

**С.В. Щелоченков, М.Б. Петрова, Г.С. Джулай, Д.В. Килейников**  
**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС, ВОСПРОИЗВОДЯЩИЕ**  
**КАРТИНУ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ**  
**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ГИПОТИРЕОЗА**

*ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Минздрава  
России*

**В статье приведены результаты светооптического и электронно-микроскопического исследования печени 30 крыс в условиях экспериментального послеоперационного гипотиреоза, формируемого путем тотальной тиреоидэктомии. В ходе эксперимента через 4 недели была воспроизведена морфологическая картина жировой болезни печени, соответствующая изменениям, свойственным метаболическому синдрому, с наличием жировой и белковой дистрофии гепатоцитов, явлений колликвационного некроза, гепатита минимальной активности и начальных проявлений фибротизации печени. Увеличение срока до 8 недель сопровождается прогрессированием дистрофических и некротических процессов в гепатоцитах, а также признаками трансформации стеатозавстеатогепатит и стеатофиброз печени. Ультраструктурные изменения демонстрируют разобщение процессов дыхания и фосфорилирования с развитием выраженного энергетического дефицита в гепатоцитах функциональной недостаточности органа. Эксперимент наглядно демонстрирует взаимосвязь между морфофункциональным состоянием печени и тиреоидным статусом, а его результаты могут быть использованы для оптимизации диагностических и лечебных подходов ведения больных с первичным (послеоперационным) гипотиреозом.**

***Ключевые слова:** экспериментальный послеоперационный гипотиреоз у крыс, жировая и белковая дистрофия гепатоцитов, колликвационный некроз, гепатит минимальной активности, стеатофиброз печени.*

## **Введение**

В популяции человека происходит абсолютный и повсеместный рост числа случаев неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Ее морфологическим субстратом выступает жировая дистрофия печени – гетерогенная по этиологии форма реакции органа на экзогенные или эндогенные метаболические нарушения. Среди этиологических факторов развития НАЖБП наибольшее значение имеют сахарный диабет, ожирение, белково-энергетическая недостаточность, полное парентеральное питание и назначение лекарственных средств. Актуально обсуждение НАЖБП с точки зрения проблемы метаболического синдрома, поскольку печень при данном состоянии, с одной стороны, является органом-мишенью, с другой же, именно метаболические процессы печени реализуют ключевые звенья его патогенеза.

Логично предполагать наличие взаимосвязи первичного (послеоперационного) гипотиреоза и НАЖБП, исходя как из высокой частоты обеих нозологических форм в

популяции, так и из очевидно метаболического характерасвойственных им нарушений. Однако сведения об особенностях тиреоидного статуса и морфофункционального состояния печени в литературе представлены преимущественно клиническими наблюдениями, касающимися развития поражений печени при снижении тиреоидной функции.

Наибольшую доказательность участия расстройств тиреоидного статуса в формировании жировой дистрофии печени может предоставить морфологическое исследование в условиях эксперимента с воспроизведением первичного (послеоперационного) гипотиреоза.

**Цель исследования:** изучить в условиях экспериментального послеоперационного гипотиреоза морфологические особенности печени у животных в разные сроки после оперативного вмешательства на светооптическом и электронно-микроскопическом уровнях.

#### **Материалы и методы**

Исследование выполнено на 40 лабораторных крысах-самках нелинейной породы массой 140-160 г. Содержание животных и постановка эксперимента проведены в соответствии с требованиями приказов № 1179 МЗ СССР от 11.10.1983 года и № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 года, а также международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Животные были распределены на 2 группы: 1-я (исследовательская – 30 особей), в которой проводилась тотальная тиреоидэктомия; 2-я (группа контроля – 10 особей), в которой проводилась мобилизация щитовидной железы без тиреоидэктомии. Анестезия осуществлялась путем ингаляции животным паров эфира. После обработки операционного поля производился разрез кожи и разведение краев раны на держалках. Тупым способом разводились мышцы, обнажалась трахея, открывая доступ к щитовидной железе. Электрокоагулятором производилась коагуляция щитовидных артерий на протяжении 0,5-0,8 см, после чего иссекались обе доли щитовидной железы и перешеек с дополнительной обработкой ложа органа. Результатом проведенных манипуляций являлась тотальная тиреоидэктомия, обеспечивающая надежный первичный (послеоперационный) гипотиреоз без необходимости дальнейшего контроля гормонального статуса животного. После завершения вмешательства рана послойно ушивалась капроновыми нитями. Животным контрольной группы мобилизация щитовидной железы выполнялась по описанной выше методике, но без удаления органа. После завершения хирургического вмешательства животные обеих групп помещались в клетки и содержались в стандартных условиях вивария на стандартном рационе.

Выведение животных из эксперимента осуществлялось на сроках 4 и 8 недель путем передозировки эфирного наркоза в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 ЕЕС. Производился забор печени животных, а также осмотр области трахеи в непосредственной топографической близости со щитовидной железой для исключения возможности регенерации ее ткани. На этих сроках эксперимента трахея имела нормальное строение, роста ткани щитовидной железы на ней выявлено не было.

По стандартным методикам осуществлялась гистологическая проводка полученного материала. Окраска микропрепаратов ткани печени осуществлялась стандартным (гематоксилин-эозин) и специальными красителями: суданом III – для выявления липидов, пикрофуксином по Ван-Гизон – для выявления соединительной ткани. Кроме того, производился забор материала для изучения образцов с помощью электронной микроскопии, проводка осуществлялась по стандартным методикам.

### **Результаты**

Анализ результатов экспериментального исследования показал, что в контрольной группе животных в срок 4-8 недель после тиреоидэктомии обнаруживается типичная морфологическая структура печени. Орган представлен дольками, не имеющими четких границ и разделенными тонкой прослойкой соединительной ткани. Междольковая соединительная ткань печени крысы развита слабо, об очертаниях долек можно судить по расположению центральной вены и портальных трактов. Паренхима долек образована радиально расположенными вокруг центральной вены печеночными балками. Гепатоциты имеют полигональную форму, цитоплазма выглядит гранулярной и амфобильной с одним, реже двумя ядрами правильной округлой или вытянутой формы. Ядро располагается в центре клетки, содержит одно или несколько ядрышек. В цитоплазме гепатоцитов содержится гликоген, при окраске суданом III в единичных гепатоцитах выявляются едва различимые липидные капли, расположенные преимущественно перинуклеарно. Портальные тракты представлены триадами: артериола, венула и желчные протоки. Артериолы имеют хорошо выраженную интиму, внутреннюю эластическую мембрану и несколько слоев гладкомышечных клеток в среднем слое стенки. Просвет вен широкий, ограничен одним слоем эндотелия, стенка их лишена гладкомышечных клеток. Междольковые желчные протоки располагаются в центре портальных трактов, стенка выстлана кубовидными эпителиальными клетками. Ядра этих клеток мелкие, округлые, цитоплазма развита слабо. Строма портальных трактов содержит единичные макрофаги, гистиоциты, лимфоциты и полиморфно-ядерные лейкоциты. Синусоидальные капилляры

внутри долек представляют собой очень мелкие сосуды, стенки их выстланы эндотелием. Лейкоцитарные инфильтраты и соединительнотканые волокна в паренхиме не выявляются.

На ультраструктурном уровне в цитоплазме гепатоцитов выявляется хорошо выраженный гранулярный и агранулярный эндоплазматический ретикулум, многочисленные лизосомы и пероксисомы, аппарат Гольджи. Митохондрии имеют сферическую или овальную форму, с хорошо различимыми кристами и электронноплотным матриксом, в котором расположены митохондриальные гранулы. В цитоплазме гепатоцитов находятся включения гликогена и липидов. Ядра располагаются преимущественно в центре гепатоцитов и имеют овальную или сферическую форму. В ядрах насчитываются 1-2 ядрышка, имеющих широкопетлистую ретикулярную структуру. При ультраструктурном исследовании портальных триад хорошо видны междольковые артерии, вены, желчные протоки, а также лимфатические сосуды.

В исследовательской группе животных к 4-й неделе после тиреоидэктомии в печени обнаружены выраженные дистрофические процессы. Во всех препаратах выявлялась картина белковой (зернистой) дистрофии: гепатоциты выглядели увеличенными в размерах, набухшими, с множеством ацидофильных белковых гранул в цитоплазме, придающих ей характерный для данного типа дистрофии грубозернистый вид. Ядро в части случаев имело плохо различаемую хроматиновую структуру, в других случаях определялись лишь тени ядер, окрашенные в голубоватый цвет. Границы между клетками определялись неотчетливо.

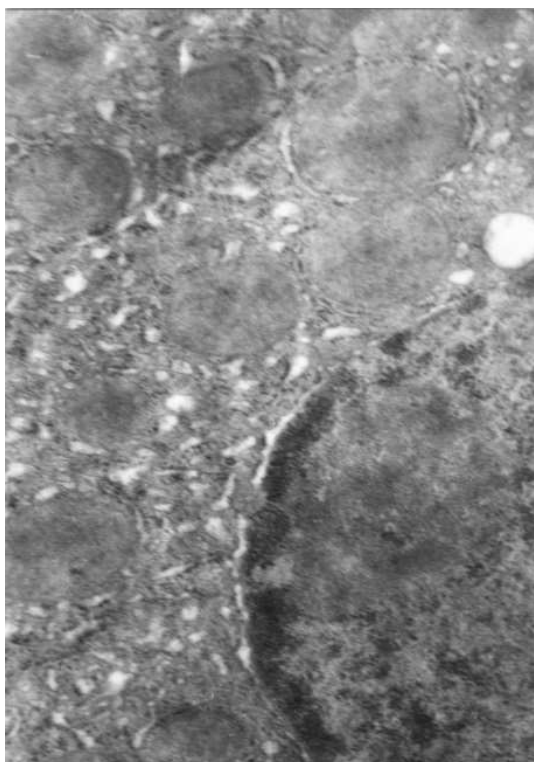
Помимо зернистой, выявлялась гидропическая (баллонная) дистрофия: резко набухшие гепатоциты с оптически пустой и разряженной цитоплазмой. Контуры клеток хорошо очерчены, ядра расположены преимущественно центрально с явлениями кариопикноза и кариолизиса. Остатки слабоэозинофильной зернистой цитоплазмы располагались вокруг ядер или вдоль клеточных мембран. Гидропическая дистрофия встречалась преимущественно в периферических отделах дольки.

К 4-й неделе эксперимента гепатоциты всех крыс содержали липидные капли различного диаметра, преимущественно мелкие (рисунок 1). При окраске суданом III хорошо определялись мелкие включения нейтрального жира, расположенные преимущественно перинуклеарно, цитоплазма клеток представлялась равномерно «запыленной» мелкими зернами, дающими реакцию на жир. При этом ядро оставалось в центре гепатоцита. Такой тип жирового перерождения принято называть мелкозернистым или пылевым. В большинстве образцов ткани печени присутствовали и другие признаки дистрофических изменений – слабое окрашивание ядер, распад части клеток. У всех

животных жировая дистрофия, имея диффузный характер, была несколько более выражена в перипортальной зоне. Жировые вакуоли выявлялись в 1/3 гепатоцитов, что соответствует первой степени стеатоза. По мнению А.И. Абрикосова и соавт., мелкозернистое ожирение следует интерпретировать как дегенеративное, так как в основе процесса в данном случае лежит повреждение печеночных клеток.

Уже на 4-й неделе эксперимента в ткани печени крыс появлялись фокусы воспалительной инфильтрации, чаще в перипортальной зоне, представленные скоплением лимфоцитов и плазматических клеток. Такая гистологическая картина характерна для хронического гепатита с минимальной активностью. Признаков фибротизации печени на данных сроках не выявлено. Гистоархитектоника органа сохраняла нормальное строение. Обращало внимание расширение синусоидов, что можно рассматривать как признак серозного отека. Эритроциты нередко образовывали столбики, типичные для явлений стаза.

Ультрамикроскопическая картина гепатоцитов характеризовалась увеличением числа и размеров липидных включений, признаками внутриклеточного отека собилием вакуолей, сформированных в результате расширения цистерн эндоплазматического



ретикулума («функциональная перегрузка» эндоплазматического ретикулума) (рисунок2), набуханием митохондрий, расширением межмембранных пространств, нечеткостью контуров наружной мембраны. При этом количество крист было значительно снижено, и располагались они преимущественно по

Рис 2. Вакуоли в цитоплазме гепатоцита, расширение цистерн эндоплазматического ретикулума. Электронное микрофото.  $\times 10000$ .

периферии, наблюдалась гомогенизация матрикса. Изменения выявлялись и в ядрах гепатоцитов: обнаруживалась неровность контуров, расширение перинуклеарных пространств, в ряде ядер отсутствовали ядрышки.

Таким образом, уже на 4-ой неделе после операционного гипотиреоза в печени крыс четко прослеживались грубые дистрофические изменения – белково-жировая дистрофия с

признаками хронического гепатита с минимальной активностью на фоне серозного отека, нарушения внутриклеточного дыхания и фосфорилирования.

На 8-й неделе эксперимента патологический процесс в печени претерпевал ряд изменений в связи с прогрессированием дистрофических процессов. Признаки белковой дистрофии, сохраняясь, имели большую степень выраженности. Цитоплазма гепатоцитов была резко разрежена, грубо зерниста, определялась гипохромия ядер. В большинстве образцов печени выявлялась гидропическая дистрофия (рисунок 3), более выраженная, чем на сроке 4-х недель. Цитоплазма клеток прозрачная, характерен подчеркнутый контур гепатоцитов за счет хорошо различимых мембран.

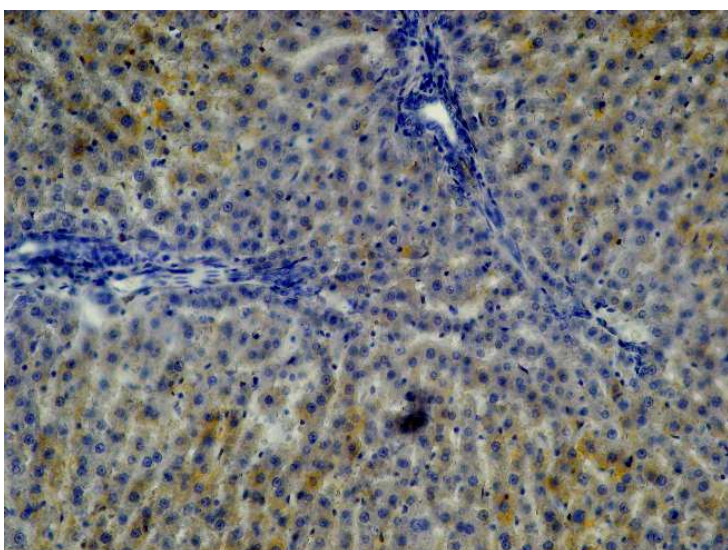


Рис 3. Зернистая дистрофия гепатоцитов, полнокровие синусоидов. Окраска суданом III.  $\times 288$ .

На фоне сохраняющейся плевидной дистрофии гепатоцитов выявлялись клетки, цитоплазма которых была полностью заполнена нейтральным жиром. В большинстве препаратов отмечалась картина хронического гепатита минимальной степени активности, однако в указанные сроки после тиреоидэктомии ее выраженность была больше, чем на 4-й неделе эксперимента.

Поиск признаков фиброза в ткани печени крыс показал в препаратах, окрашенных по Ван-Гизон, разрастание соединительной ткани, расширение крупных портальных трактов за счет утолщения стромы, формирование соединительнотканых тяжей из триад к центральной вене.

Помимо ультрамикроскопических изменений, выявленных на более ранних сроках, как и на светооптическом уровне, с увеличением продолжительности эксперимента

нарастали патологические изменения в гепатоцитах (рисунок 4). На сроке 8 недель обнаруживалась частичная или полная деструкция органоидов гепатоцитов, которая приводила к зернистой или гидропической дистрофии. Помимо отека и деструкции крипт митохондрий, часть их была полностью разрушена, обнаруживались значительные скопления крупных вторичных лизосом, образованных на месте



Рис 4.Липидные включения в цитоплазме гепатоцита. Деформация ядра гепатоцита.Увеличение:  $\times 10000$ .

разрушенных электронноплотных митохондрий и фрагментов гранулярного эндоплазматического ретикулума. В большинстве ядер гепатоцитов

выявляются участки расслоения

ядерной мембраны и ее микронадрывы, хроматин занимал краевое положение.

#### Обсуждение

В ходе проведенного эксперимента на лабораторных животных с моделированием первичного послеоперационного гипотиреоза воспроизведены изменения в печени, практически полностью повторяющие таковые при НАЖБП на фоне метаболического синдрома. Это позволяет предположить наличие единых патогенетических механизмов поражения печени при гипотиреозе и метаболическом синдроме. Их обсуждение должно учитывать функциональную роль щитовидной железы как ведущего органа в координации метаболических процессов, осуществляющего регуляторное влияние посредством йодсодержащих гормонов – тироксина ( $T_4$ ), рассматриваемого как прогормон, и трийодтиронина ( $T_3$ ). Механизм биологического действия  $T_3$  реализуется через связывание с ядерными рецепторами (TR)  $\alpha$  и  $\beta$  на уровне генома, хотя известно и их негеномное влияние (на мембрану клетки, цитоплазму и митохондрии). Это приводит к ряду эффектов: повышению потребности тканей в кислороде, стимуляции метаболизма белков, жиров и углеводов, росту функциональной активности сердечно-сосудистой и центральной нервной систем. При выключении тиреоидной функции щитовидной железы, как это и предусматривал эксперимент, развивается первичный гипотиреоз, характеризующийся выраженными дисметаболическими процессами в организме млекопитающих: снижается уровень глюкозы в крови и активность процесса

глюконеогенеза в печени, захват и утилизация глюкозы клетками (что лежит в основе инсулинорезистентности), замедляется липолиз (в первую очередь,  $\beta$ -окисление свободных жирных кислот), повышается содержание ЛПНП, триглицеридов и снижается уровень ЛПВП, стимулируется образование и отложение жира в тканях и органах.

Таким образом, выявленная у экспериментальных животных с первичным послеоперационным гипотиреозом диффузная мелкокапельная жировая дистрофия печени может быть интерпретирована как следствие развивающейся инсулинорезистентности на фоне снижения тиреоидной функции, которая влечет за собой поступление через портальную систему печени свободных жирных кислот (СЖК) и, как результат, накопление нейтрального жира в цитоплазме гепатоцитов.

Гидропическая дистрофия гепатоцитов, обнаруживаемая у экспериментальных животных в условиях послеоперационного гипотиреоза, является отражением нарушений водно-электролитного и белкового обмена, которые приводят к изменению коллоидно-осмотического давления в клетке. Данный патологический процесс протекает с повреждением мембран гепатоцитов, приводящим к дестабилизации мембран органоидов, в первую очередь, лизосом с активацией их гидролитических ферментов, разрывающих внутримолекулярные связи с присоединением воды.

Наличие в печени крыс с послеоперационным гипотиреозом сочетания диффузной мелкокапельной жировой и вакуольной (гидропической) дистрофии, проявлений воспалительной реакции, а также начальных признаков фибротизации органа даже в короткие сроки после тиреоидэктомии, заставляет пересмотреть сложившееся представление о НАЖБП как о «безопасном» заболевании печени.

### **Выводы**

1. Эксперимент с проведением тиреоидэктомии у крыс через 4-8 недель воспроизводит морфологическую картину жировой болезни печени, соответствующую основным характеристикам изменений, свойственных метаболическому синдрому, убедительно доказывая взаимосвязь между морфофункциональным состоянием печени и тиреоидным статусом.
2. Морфологические изменения в печени экспериментальных животных уже через 4 недели послеоперационного гипотиреоза характеризуются наличием жировой и белковой дистрофии гепатоцитов с явлениями колликвационного некроза, гепатита минимальной активности и начальными проявлениями фибротизации печени.
3. Увеличение срока после тиреоидэктомии до 8 недель сопровождается прогрессированием дистрофических и некротических процессов в гепатоцитах, а также признаками трансформации стеатоза в стеатогепатит и стеатофиброз печени.



4. Выявленные ультраструктурные изменения в печени свидетельствуют о разобщении процессов дыхания и фосфорилирования с развитием выраженного энергетического дефицита в клетках, и, как следствие, функциональной недостаточности органа.
5. Эксперимент позволяет прояснить некоторые морфологические и патогенетические аспекты формирования жировой болезни печени при первичном (послеоперационном) гипотиреозе для оптимизации диагностических и лечебных подходов ведения данной категории больных.

#### **Литература/References**

1. Балукова, Е.В. Неалкогольная жировая болезнь печени и метаболический синдром /Е.В. Балукова, Ю.П. Успенский // Поликлиника. – 2014. – № 2. – С. 45-48.
2. Фадеев, В.В. Современные концепции диагностики и лечения гипотиреоза у взрослых /В.В. Фадеев // Пробл. эндокринологии. – 2004. – №2. – С. 47-53.
3. Доскина, Е.В. Гипотиреоз у пожилых больных /Е.В. Доскина // РМЖ. – 2007. – №27. – С. 2103-2105.
4. Руководство по патологической анатомии в 9-х т.; под ред. акад. А.И. Абрикосова. – М.: Государственное издательство медицинской литературы, 1956. –Т. 4, Кн. 2. – 551 с.
5. Патент РФ №2015130985 25.08.2016 Способ моделирования неалкогольной жировой болезни печени у крыс // Патент России № 2600476 / Щелоченков С.В., Джулай Г.С., Петрова М.Б. [и др.].
6. Свириденко, Н.Ю., Косьянова Н.А. Гипотиреоз: диагностика, принципы заместительной терапии/ Н.Ю. Свириденко, Н.А. Косьянова// РМЖ. – 2006. – №26. –С. 1911.