

МОРФОЛОГІЧНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ НА 56-ТУ ДОБУ ЕКСПЕРИМЕНТУ

Ю.В. Боднарчук

Івано-Франківський національний медичний університет

Резюме. Цукровий діабет є одним із найпоширеніших захворювань ендокринної системи. Незважаючи на те, що значна кількість наукових робіт присвячена питанням патогенезу та лікуванню діабету, це захворювання все ще залишається значною медико-соціальною проблемою сьогодення. Тому встановлення особливостей морфофункціональних змін у печінці щурів при стрептозотоциновому ЦД є актуальним.

За даними світлооптичних і ультраструктурних досліджень, у печінці нестатевозрілих щурів на 56-ту добу експерименту є найбільше молодих (темних) гепатоцитів, які характеризуються: щільною цитоплазмою, великою кількістю молодих мітохондрій, достатньою кількістю гранул глікогену, гіпертрофованими гранулярною і гладкою ендоплазматичними сітками.

Для дослідження використано щурів-самців лінії Вістар 3-міс. (масою 80-100 г), яких було розподілено на 2 групи. До першої групи увійшло 10 тварин, яким моделювали експериментальний стрептозотоциновий цукровий діабет одноразовим внутрішньо-очеревинним введенням стрептозотину, попередньо розведеного в 0,1 М цитратному буфері з рН 4,5, із розрахунку: 7 мг/100 г маси тіла тварини. До другої (контрольної) групи увійшло 10 тварин, яким в еквівалентній дозі внутрішньоочеревинно вводили 0,1 М цитратний буфер із рН 4,5.

Ключові слова: печінка, гепатоцит, ворітна триада, синусоїд, стрептозотоциновий цукровий діабет.



Morphological and functional changes of the liver in experimental diabetes mellitus on the 56th day of the experiment

Yu.V. Bodnarchuk

Ivano-Frankivsk National Medical University

Abstract. Diabetes mellitus (DM) is one of the most common diseases of the endocrine system. Despite the fact that a significant number of scientific researches are devoted to the

УДК: 591.436+616.379-008.64+616-092.9

DOI: 10.31793/2709-7404.2021.2-4.83

© Ю.В. Боднарчук

issues of pathomorphogenesis of diabetes and its management, this disease still remains a significant medical and social problem. The main role in the progression of diabetes is attributed to chronic hyperglycemia and the lack of its compensation, which has a significant effect on the pathogenesis of late complications. Therefore, it is currently important to establish specific characteristics of morphofunctional changes of liver in rats of different ages with streptozotocin-induced diabetes mellitus.

The morphometric study of the liver in rats aged 3 months light-optical and ultrastructural studies of cells shows that there are the largest number of young (dark) hepatocytes, which are characterized by: dense cytoplasm, large number of young mitochondria, sufficient number of glycogen granules, hypertrophied granular endoplasmic cells. We have observed glycogen inclusions in light and dark hepatocytes, as a manifestation of compensatory-reducing processes.

Male Wistar rats aged 3 months (with the weight of 80-100 g), were involved in the study and divided into 2 groups. Group I consisted of 10 animals where experimental diabetes mellitus was induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (SIGMA Chemical (USA), previously diluted in 0.1 M of citrate buffer at pH 4.5: were given 7 mg/100 g of the body weight, Group II (control) consisted of 10 animals which received 0.1 M citrate buffer with a pH of 4.5 intraperitoneally in the equivalent dose.

Keywords: liver, hepatocyte, portal triad, sinusoidal capillary, streptozotocin-induced diabetes mellitus.

Актуальність теми. Серед різноманітних патологічних станів, які виникають у печінці та викликаються різними чинниками, вагоме місце посідає цукровий діабет [1, 2, 8]. Медико-соціальна проблема діабету полягає в тому, що ускладнення, які виникають при цьому, призводять до втрати працездатності, інвалідності та смертності пацієнтів [5, 7], значну частку серед яких становлять діти [9]. Саме тому **метою** нашого дослідження є вивчення особливостей морфофункціональних змін печінки молодих тварин на пізніх етапах експерименту, що дасть змогу розкрити важливі аспекти діабетичних гепатопатій.

Матеріали та методи

Експериментальний цукровий діабет було змодельовано на щурах-самцях лінії Вістар 3-міс. (масою 80-100 г), одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину, що розведений у 0,1 М цитратному буфері з рН 4,5, із розрахунку: 7 мг/100 г маси тіла. Тварин розподілено на дві групи: перша група — 10 тварин, яким моделювали експериментальний стрептозотоциновий цукровий діабет (ЕСЦД), а друга (контрольна) група — 10 тварин, яким в еквівалентній дозі внутрішньоочеревинно вводили 0,1 М цитратний буфер із рН 4,5. Рівень глюкози (ммоль/л) вимірювали щоденно в краплині крові з хвостової вени натще

глюкометром Accu-Chek Active (Roche GmbH). А вміст глікозильованого гемоглобіну в крові визначали в сертифікованій лабораторії «Діамеб» та виражали у %. Статистичні дані аналізувалися за допомогою пакета статистичного аналізу STATISTICA (StatSoft, Inc. (2010), STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com).

Для дослідження використано щурів-самців лінії Вістар 3-міс. (масою 80-100 г), яких було розподілено на 2 групи. До першої групи увійшло 10 тварин, яким моделювали експериментальний стрептозотоциновий цукровий діабет (ЕСЦД) одноразовим внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину [10], попередньо розведеного в 0,1 М цитратному буфері з рН 4,5, із розрахунку: 3-міс. щурам — 7 мг/100 г маси тіла. До другої (контрольної) групи увійшло 10 тварин, яким в еквівалентній дозі внутрішньоочеревинно вводили 0,1 М цитратний буфер із рН 4,5. Експерименти на щурах проводили з дотриманням усіх етичних вимог та відповідно до положення Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЄЕС (1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 15 грудня 2009 року та наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. (експертний висновок комісії з питань етики ДВНЗ «Івано-Франківський

національний медичний університет», протокол № 104/18 від 25.10.2018 р.).

Результати та їх обговорення

На пізніх термінах розвитку ЦД (56-та доба) у 3-міс. щурів рівень глюкози ($15,99 \pm 0,41$ ммоль/л) та глікозильованого гемоглобіну ($9,74 \pm 0,17\%$) статистично достовірно збільшується порівняно з контрольними показниками ($3,26 \pm 0,03$ ммоль/л, $p < 0,05$ та $9,74 \pm 0,17\%$, $p < 0,05$), але є меншими порівняно з попереднім терміном експерименту.

На світлооптичному рівні (56-та доба розвитку стрептозотоцинового цукрового діабету) у щурів 3-міс. віку розподіл гранул глікогену в цитоплазмі гепатоцитів несуттєво змінюється (рис. 1а). Однак спостерігається розростання сполучної тканини навколо портальних трактів (рис. 1б). Відзначено появу світлих і темних гепатоцитів, які перебувають у стані вакуольної та гідропічної дистрофії (див. рис. 1б). Спостерігається лімфоцитарна інфільтрація перикапілярних просторів, що підтверджується даними електронної мікроскопії. Площа синусоїдних капілярів вірогідно не відрізняється від показників контролю (експериментальна група — $62,91 \pm 1,32$ мкм²; контрольна група — $59,72 \pm 1,22$ мкм²), при цьому площа просвіту зменшується (експериментальна група — $33,53 \pm 0,48$ мкм²; контрольна група — $37,63 \pm 0,43$ мкм²), а площа їхньої стінки збільшується (експериментальна група — $29,38 \pm 0,72$ мкм²; контрольна група — $22,09 \pm 0,41$ мкм²) у всіх випадках ($p < 0,05$).

Зазначимо, що на пізніх термінах розвитку цукрового діабету (56-та доба експерименту) у нестатевозрілих щурів на ультраструктурному рівні у світлих і темних гепатоцитах з'являються ліпідні включення та вакуолі великих розмірів. Поряд візуалізуються малозмінені або майже не змінені гепатоцити, які містять мітохондрії із просвітленим матриксом та дезорганізованими кристами.

Простежується розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки та проліферація гладкої ендоплазматичної сітки, редукція комплексу Гольджі (рис. 2а-б). Наростає вакуольна дистрофія світлих гепатоцитів (див. рис. 2б). Водночас характерним є збільшення кількості темних гепатоцитів.

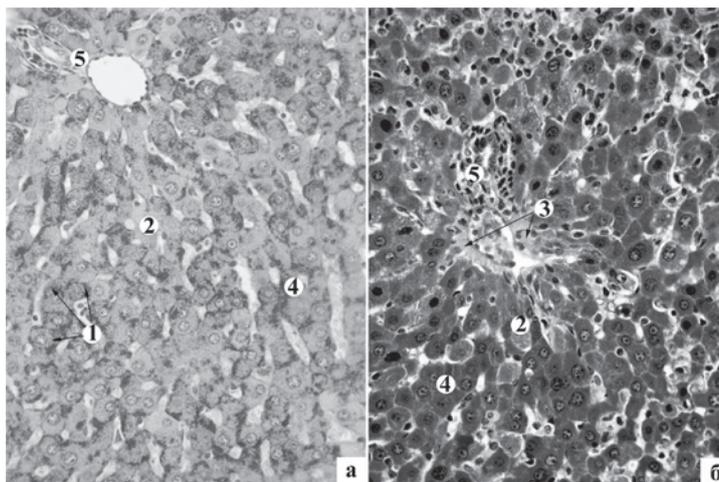
На ультраструктурному рівні в гепатоцитах центральної та периферичної зон часточки печінки спостерігаємо зменшення гранул

Рисунок 1

Нерівномірний розподіл глікогену в різних зонах печінкової часточки (а) та перипортальний фіброз (б) на 56-ту добу розвитку ЕСЦД. Забарвлення: за Шабашем (а), трихром за Массоном (б). Мікрофотографії. Зб.: а, б) $\times 400$

Figure 1

Uneven distribution of glycogen in different areas of the liver lobes (a) and periportal fibrosis (b) at 56 days of development ESCD. Coloring: according to Shabadash (a), trichrome according to Masson (b). Microphotographs. Coll.: a, b) $\times 400$



Позначення: 1 — гранули глікогену, 2 — світлі гепатоцити, 3 — сполучна тканина, 4 — темні гепатоцити, 5 — триада печінки.

глікогену в цитоплазмі. Виявляються гепатоцити з апоптичними тільцями. Виявляються молоді гепатоцити зі щільною цитоплазмою помірної щільності, добре розвинутою гранулярною ендоплазматичною сіткою, незміненими мітохондріями та накопиченням ліпофусцину, що може вказувати на відносні компенсаторні процеси (рис. 2в).

У гемомікроциркуляторному руслі чітко простежуються всі ознаки діабетичної мікроангіопатії: у просвіті мікрогемосудин виявляється стаз крові зі сладжем еритроцитів у вигляді монетних стовпчиків; адгезія еритроцитів і тромбоцитів; вакуольна дистрофія ендотеліоцитів; зростання чисельності зірчастих макрофагоцитів та Pit-клітин (рис. 3).

У зірчастих макрофагоцитах простежується велика кількість первинних і вторинних лізосом, розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки. У жиронакопичувальних клітинах Іто простежується дегрануляція ліпідних крапель, а на їхньому місці утворюються вакуолі. Навколо цих клітин спостерігається розростання колагенових волокон, що призводить в окремих випадках до розвитку капіляросклерозу.

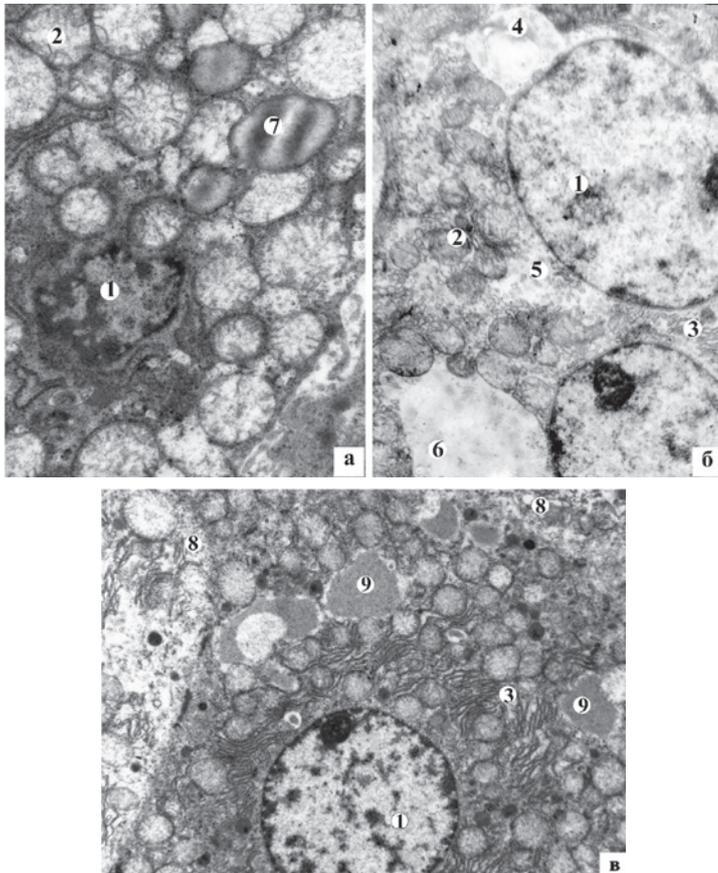
Отже, на 56-ту добу стрептозотозин-індукованого діабету в 3-міс. щурів збільшення

Рисунок 2

Жирова (а), вакуольна (б) дистрофії та молоді гепатоцити (в) у печінці 3-міс. щурів на 56-ту добу розвитку цукрового діабету. Електронні мікрофотографії. Зб.: а) $\times 8000$, б) $\times 6400$, в) $\times 4000$

Figure 2

Fat (a), vacuolar (b) dystrophy and young hepatocytes (c) in the liver for 3 months. rats at 56 days of diabetes mellitus. Electronic microphotographs. Coll.: a) $\times 8000$, b) $\times 6400$, c) $\times 4000$



Позначення: 1 — ядро гепатоциту, 2 — мітохондрія, 3 — ГлЕС, 4 — вакуоля, 5 — гранули глікогену, 6 — балон, 7 — ліпідна крапля, 8 — ГлЕС, 9 — ліпофусцин.

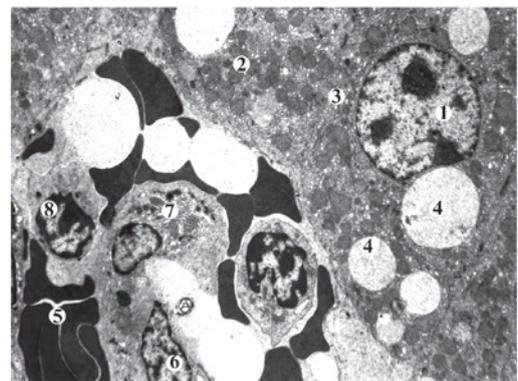
площі гепатоцитів відбувається за рахунок появи як молодих гепатоцитів, так і дистрофічно змінених (зерниста, вакуольна та балонна дистрофії). Найбільша частка гепатоцитів на 56-ту добу експерименту — це молоді гепатоцити, що характеризуються: щільною цитоплазмою, великою кількістю молодих мітохондрій, достатньою кількістю гранул глікогену, гіпертрофованими гранулярною і гладкою ендоплазматичними сітками. Схожі зміни, а також порушення гемомікроциркуляторного русла при цукровому діабеті простежували і інші науковці [3, 6, 7]. Описані морфологічні зміни, а також високі показники глюкози та глікозильованого гемоглобіну, що, однак, є меншими з попереднім терміном експерименту, вказують на часткову компенсаторну реакцію

Рисунок 3

Гемореологічні порушення крові та балонна дистрофія гепатоцитів на 56-ту добу розвитку експериментального стрептозотцинового цукрового діабету. Електронна мікрофотографія. Зб.: $\times 2400$

Figure 3

Hemorheological blood disorders and balloon hepatocyte dystrophy on the 56th day of development of experimental streptozotocin diabetes mellitus. Electron microphotography. Coll.: $\times 2400$



Позначення: 1 — ядро гепатоциту, 2 — мітохондрії, 3 — ГлЕС, 4 — балон, 5 — еритроцитарний сладж, 6 — ендотеліоцит, 7 — зірчастий макрофагоцит, 8 — Pit-клітина.

з боку молодих тварин, а також на розвиток компенсаторно-відновних процесів у печінці нестатевозрілих тварин [4, 6, 7].

Висновки

На підставі наведеного вище можна зробити такі висновки:

На пізніх етапах розвитку стрептозотцинового діабету простежуються всі ознаки діабетичної мікроангіопатії, що проявляється сладжем еритроцитів у вигляді монетних стовпчиків; адгезією еритроцитів і тромбоцитів; вакуольною дистрофією ендотеліоцитів; збільшенням чисельності зірчастих макрофагоцитів та Pit-клітин.

Таким чином, на 56-ту добу експериментального цукрового діабету в 3-міс. тварин у динаміці морфофункціональних змін печінки простежуємо стрес-реактивні та дистрофічні зміни й початковий розвиток компенсаторно-відновних процесів.

Дані зміни корелюються високими показниками глюкози та глікозильованого гемоглобіну.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення особливостей морфофункціональних

змін печінки молодих тварин в експерименті дає змогу розкрити важливі аспекти діабетичних гепатопатій. Дані дослідження можуть бути

цінними при подальшому вивченні як цукрового діабету, так і інших захворювань печінки, а також при лікуванні даних нозологій.

Список використаної літератури

- Rodriguez V, Plavnik L, Tolosa de Talamoni N. Naringin attenuates liver damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diomedicine & Pharmacotherapy*. 2018; 105:95–102.
- Nazarian-Samani Z, Sewell RDE, Lorigooini Z, Rafieian-Kopaei M. Medicinal Plants with Multiple Effects on Diabetes Mellitus and Its Complications: a Systematic Review *Current Diabetes Reports*. 2018;18:72.
- Maiyah AT, Widiastuti EL, Umar S. Ameliorative effects of *Costus speciosus* on biochemical and histopathological changes in alloxan-induced diabetic mice. *Science Letters*. 2016; 4(2):140-6.
- Kumar R. Hepatogenous diabetes: an under estimated problem of liver cirrhosis. *Indian J Endocr Metab*. 2018;22:552-9.
- Kang YB, Eo J, Mert S, Yarmush ML, Usta OB. Metabolic Patterning on a Chip: Towards in vitro Liver Zonation of Primary Rat and Human Hepatocytes. 2018; 8(1):8951.
- Hamman WO. Effect of Flaxseed Extract on the Liver Histological Structure in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *International Medical Journal Malaysia*. 2017;16(1):91-8.
- Dhurandhar D, Bharihoke V, Kalrah S. A histomorphometric evaluation of effects of sucralose ingestion on liver of albino rats. *International Journal of Scientific Researc*. 2018; 7(5):45-6.
- Colnot S, Peret C. Liver Zonation Molecular Pathology of Liver Diseases. *Molecular Pathology Library*. 2011;13:7-16.
- Chudhary D, Cleveland DA, Agdere L, Graetz R, Etienne D. Does the Use of Diabetes Electronic Medical Record Template Lead to Improvement of Screening for Complications of Tipe 1 Diabetes Mellitus in the Pediatric Population. *Pediatrics*. 2018; 141(1):122-8.
- Савицький ІВ, Сарахан ВМ, Кузьменко ІЯ, Якимчук НВ. Експериментальне дослідження цукрового діабету: особливості методик моделювання. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2017;6(8):41-5.

Для цитування: Боднарчук ЮВ. Морфологічні та функціональні зміни печінки при експериментальному цукровому діабеті на 56-ту добу експерименту (оригінальне дослідження). *Терапевтика / імені професора М.М. Бережницького*. 2021;2(4):83-87. DOI: 10.31793/2709-7404.2021.2-4.83.

Адреса для листування: Боднарчук Юлія Володимирівна, bodnarchuk_yuv@ukr.net; Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ, 76018, Україна.

Відомості про авторів: Боднарчук Юлія Володимирівна, кандидатка медичних наук, асистентка кафедри фармакології та внутрішньої медицини №3 імені професора М.М. Бережницького, Івано-Франківського національного медичного університету, ORCID 0000-0001-8031-5368.

Особистий внесок: Боднарчук Ю.В. — аналіз проблеми та результатів, аналітичний огляд літератури, написання статті, підготовка статті до друку.

Фінансування: Стаття підготовлена в рамках фінансування Івано-Франківського національного медичного університету.

Декларація з етики: Авторка задекларувала відсутність конфлікту інтересів і фінансових зобов'язань.

Проходження статті: Надійшла до редакції 06.12.2021 року; перероблена 09.12.2021 року; прийнята до друку 15.12.2021 року; надрукована 28.12.2021 року.

For citation: Bodnarchuk YuV. Morphological and functional changes of the liver in experimental diabetes mellitus on the 56th day of the experiment *Terapevtyka / of professor M.M. Berezhnyskyi* 2021;2(4):83-87. DOI: 10.31793/2709-7404.2021.2-4.83.

Correspondence address: Bodnarchuk Yuliia Volodymyrivna, bodnarchuk_yuv@ukr.net; Ivano-Frankivsk National Medical University, Halyts'ka Street, 2, Ivano-Frankivsk, 76018, Ukraine.

Information about the authors: Bodnarchuk Yuliia Volodymyrivna, PhD in Medicine, Assistant Professor, Department of Pharmacology and Internal Medicine №3 named after prof. M. Berezhnyskyi, Ivano-Frankivsk National Medical University, ORCID 0000-0001-8031-5368/

Personal contribution: Bodnarchuk YuV — analysis of the problem and results, analytical review of the literature, writing an article, preparation of the article for publication.

Funding: The article was prepared in the framework of financing Ivano-Frankivsk National Medical University.

Declaration of Ethics: The author declare that there is no conflict of interest or financial obligations.

Article: Received 06 December 2021; revised on 09 December 2021; accepted 15 December 2021; published 28 December 2021.