

Л. Д. Эркенова², С. А. Мозеров¹, М. А. Долгашова²

¹ Обнинский институт атомной энергетики –

филиал ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Обнинск;

² Ставропольский государственный медицинский университет

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ

УДК 616-091.817

Работа выполнена на экспериментальном материале. Получена экспериментальная модель гипотиреоза путем операции тиреоидэктомии у 76 крыс-самцов массой тела 250–300 г. Были изучены структурные изменения в печени при экспериментальном гипотиреозе.

Ключевые слова: гипотиреоз, печень, гепатоциты, дистрофия, отек, гемодинамические нарушения, плазмолиз.

L. D. Erkenova, S. A. Mozerov, M. A. Dolgashova

PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN THE LIVER WITH EXPERIMENTAL HYPOTHYROIDISM

The work was performed on experimental material. An experimental model of hypothyroidism was obtained by thyroidectomy in 76 male rats weighing 250–300 g. To study structural changes in the liver in experimental hypothyroidism.

Key words: hypothyroidism, liver, hepatocytes, dystrophy, edema, hemodynamic disturbances, plasmolysis.

Заболевания щитовидной железы занимают второе место среди эндокринной патологии после сахарного диабета. За последние годы отмечается неуклонный рост заболеваний щитовидной железы, что обусловлено дефицитом йода, ухудшением экологической ситуации в связи с загрязнением окружающей среды радиоактивными отходами. Наиболее частым заболеванием щитовидной железы является гипотиреоз [1, 2]. Гипотиреоз – это клинический синдром, для которого характерно стойкое уменьшение уровня тиреоидных гормонов в крови. Дефицит тиреоидных гормонов приводит к нарушению всех видов обмена и поражением всех органов и систем организма [3, 4, 7]. При гипотиреозе снижается мышечный тонус желчевыводящих путей, что приводит к застою желчи в печени. Может развиваться хронический гепатит, повышается уровень трансаминаз в крови. В печени происходит метаболизация тироксина путем окислительного дезаминирования и конъюгации. В литературных источниках описаны клинические проявления поражения печени при гипотиреозе. Сведения о структурных изменениях в печени при гипотиреозе малочисленные и разрозненные. Недостаточно изучены морфология и морфогенез гипотиреозидной гепатологии, что явилось основанием для проведения данного исследования [5, 6].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить структурные изменения в печени при экспериментальном гипотиреозе.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на экспериментальном материале. Получена экспериментальная модель гипотиреоза на белых крысах-самцах линии Вистар. Проведена операция тиреоидэктомия у 76 крыс в возрасте 8–9 месяцев массой тела 250–300 гр. Операцию проводили под общим обезболиванием, для наркоза использовали золетил-100 в дозе 1,5 мг/100 г массы тела и миорелаксант ксизаин гидрохлорид в дозе 3 мг на 1 кг массы тела лабораторного животного, золетия и ксилазин гидрохлорид вводили внутримышечно после предварительной премедикации проперидолом. Лабораторных животных укладывали на операционный стол спинкой книзу и фиксировали за лапки. Удаляли шерсть депиляционной мазью на передней поверхности шеи. Проводили линейный разрез по передней поверхности шеи длиной 2–2,5 см, раздвигали фасции шеи, разделяли мышцы, обнажали трахею. Удаляли обе доли щитовидной железы. Проводили гемостаз, мышцы укладывали на место, рану зашивали и обрабатывали слабым раствором метиленового синего. При

проведении опытов соблюдали международные рекомендации Европейской конвенции по защите позвоночных животных. Лабораторных животных выводили из эксперимента через 7, 14, 21, 28, 35 и 45 суток.

Для гистологического исследования брали кусочки печени из всех долей. Кусочки фиксировали в 10%-м растворе забуференного формалина в течение 10 суток, затем проводили через спирты возрастающей крепости, заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5–6 микрон. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизон, толуидиновым синим, по Маллори в модификации Гейденгайна, проводили ШИК-реакцию для гистохимической идентификации углеводов.

Иммуногистохимическое исследование проводили в соответствии с рекомендуемым протоколом фирмы производителя, подбирали рабочее разведение первичных антител и время инкубации. Для достоверности полученных результатов применяли позитивные и негативные контроли антител. В качестве хромогена использовали 3-диаминобензидин тетрагидрохлорид. Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием биомаркеров Ki-67, P53.

В качестве контроля были использованы 22 крысы-самцы, которым операция тиреоидэктомии не проводилась. Лабораторные животные опытной и контрольной группы содержались в одинаковых условиях.

Для подтверждения первичного гипотиреоза определяли уровень тиреоидных гормонов в сыворотке крови крыс методом иммуноферментного анализа с помощью диагностических наборов Т3, Т4, ТТГ: общий тироксин (оТ4), общий трийодтиронин (оТ3) и ТТГ-тиреотропный гормон.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В послеоперационном периоде отмечалось изменение поведения подопытных животных. В первые 14 суток крысы были активными с хо-

рошим аппетитом. Начиная с 15 суток, у крыс отмечалась сонливость, вялость, снижение аппетита, отек лапок и хвоста, мелкоточечные кровоизлияния на коже хвоста, шеи и головы, потускнение шерстяного покрова. К концу эксперимента на 45-е сутки шерсть крыс стала ломкой, появились участки облысения, усилился отек, появились трещины и многочисленные кровоизлияния на коже, гиперкератоз, гиподинамия.

Показатели уровня тиреоидных гормонов в сыворотке крови крыс представлены в табл. 1.

Сравнительный анализ уровня тиреоидных гормонов выявил снижение уровня тироксина (Т4) до $(3,8 \pm 0,03)$ ммоль/л по сравнению с контролем $(18,8 \pm 0,02)$ ммоль/л (табл. 1). Снижение уровня тироксина начинается после 14 суток, наибольшее снижение отмечено на 45-е сутки.

Уровень трийодтиронина (Т3) постепенно снижается до $(2,8 \pm 0,02)$ ммоль/л по сравнению с контролем $(8,9 \pm 0,03)$ ммоль/л (табл. 1). Снижение уровня трийодтиронина отмечено на 14-е сутки, а наибольшее снижение выявлено на 45-е сутки.

Уровень трийодтиронина (Т3) постепенно снижается до $(2,8 \pm 0,02)$ ммоль/л по сравнению с контролем $(8,9 \pm 0,03)$ ммоль/л (табл. 1). Снижение уровня трийодтиронина отмечено на 14-е сутки, а наибольшее снижение выявлено на 45-е сутки.

Уровень тиреотропного гормона (ТТГ) в крови крыс достоверно увеличивается до $(0,30 \pm 0,04)$ ммоль/л по сравнению с контролем $(0,1 \pm 0,03)$ ммоль/л. Повышение уровня ТТГ выявлено на 21-е сутки.

Таким образом, после тиреоидэктомии у лабораторных животных отмечается снижение уровня тиреоидных гормонов (Т3 и Т4) и повышение уровня тиреотропного гормона (ТТГ), что подтверждает развитие первичного гипотиреоза.

При гистологическом исследовании печени обнаружены патоморфологические изменения в динамике. При экспериментальном гипотиреозе отмечается увеличение размеров печени. Длина печени увеличивается почти в 2 раза и достигает $(6,5 \pm 0,03)$ см по сравнению с контролем $(3,8 \pm 0,02)$ (табл. 2).

Таблица 1

Показатели уровня тиреоидных гормонов в крови крыс при экспериментальном гипотиреозе в динамике

Виды гормонов	Сроки эксперимента (в сутках)						
	контроль	7 суток	14 суток	21 сутки	28 суток	35 суток	45 суток
Тироксин (Т4)	$18,8 \pm 0,02$	$18,8 \pm 0,03$	$17,6 \pm 0,03^*$	$10,2 \pm 0,02^*$	$7,6 \pm 0,03^*$	$6,0 \pm 0,02^*$	$3,8 \pm 0,03^*$
Трийод тиронин (Т3)	$8,9 \pm 0,03$	$8,9 \pm 0,02$	$7,5 \pm 0,07^*$	$5,3 \pm 0,03^*$	$4,8 \pm 0,02^*$	$3,5 \pm 0,02^*$	$2,8 \pm 0,02^*$
Тиреотропный гормон (ТТГ)	$0,10 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,02$	$0,13 \pm 0,03^*$	$0,16 \pm 0,02^*$	$0,20 \pm 0,04^*$	$0,24 \pm 0,03^*$	$0,3 \pm 0,04^*$

Примечание. Статистическая значимость различий с контрольным материалом обозначена * $p < 0,05$.

Таблица 2

Показатели размеров печени крыс при экспериментальном гипотиреозе в динамике

Параметры размеров печени в см	Сроки экспериментов (в сутках)						
	контроль	7 сутки	14 сутки	21 сутки	28 сутки	35 сутки	45 сутки
Длина	3,8 ± 0,02	4,3 ± 0,03	4,8 ± 0,04*	5,0 ± 0,02*	5,2 ± 0,03*	5,8 ± 0,02*	6,5 ± 0,03*
Ширина	2,8 ± 0,03	2,8 ± 0,02	3,0 ± 0,03*	3,4 ± 0,02*	3,6 ± 0,04*	3,8 ± 0,03*	4,0 ± 0,03*
Толщина	0,36 ± 0,02	0,36 ± 0,02	0,43 ± 0,03*	0,47 ± 0,02*	0,50 ± 0,02*	0,60 ± 0,03*	0,70 ± 0,02*

Примечание. Статистическая значимость с контрольным материалом обозначена * – $p < 0,05$.

Ширина печени увеличивается с (2,8 ± 0,03) см (контроль) до (4,0 ± 0,03) см к концу эксперимента на 45-е сутки (табл. 2). Толщина печени увеличивается с (0,36 ± 0,02) см (контроль) до (0,7 ± 0,02) см на 45-е сутки.

Таким образом, при экспериментальном гипотиреозе происходит увеличение размеров пе-

чени, что обусловлено развитием отека. При гистологическом исследовании на 7-е сутки эксперимента в печени крыс выявлено неравномерное венозное полнокровие синусоидов, центральных вен и портальных вен. Вены расширены, полнокровные, отмечается сладжирование эритроцитов и стазы (рис. 1).

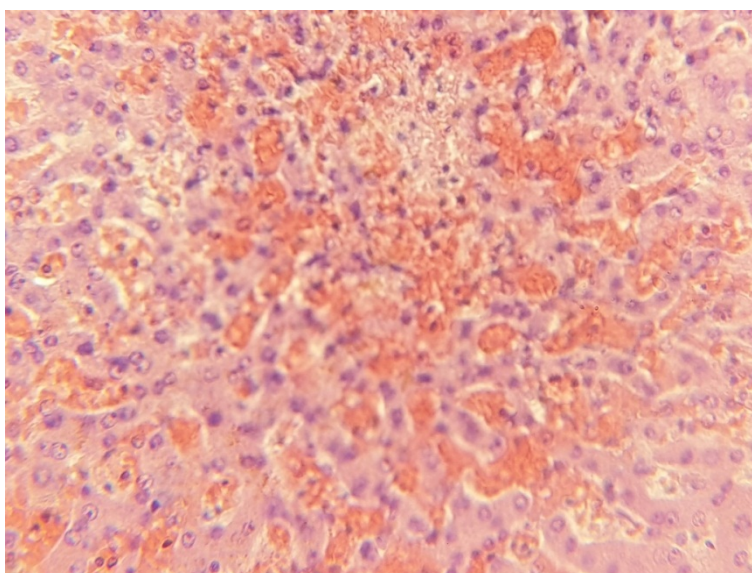


Рис. 1. Полнокровие центральных вен и синусоидов (7-е сутки). Окр. гематоксилином и эозином. Ув.х400

В перипортальных зонах отмечается начинающийся отек стромы. Гистологическая структура печени не нарушена. Сохраняется балочное строение долек. На 14-е сутки эксперимента отмечается увеличение интенсивности отека и распространение его на перисинусоидальные пространства. В участках отека отмечается набухание коллагеновых волокон и основного вещества соединительной ткани. Однако признаки дезорганизации соединительной ткани не выявлены. Метакромазия не наблюдается. Усиливаются гемодинамические нарушения, в патологический процесс вовлекаются все мелкие вены и венулы, повышается проницаемость стенок вен и появляются диапедезные кровоизлияния.

На 14-е сутки в цитоплазме гепатоцитов обнаружены мелкие вакуоли, заполненные ци-

топлазматической жидкостью, т. е. развивается очаговая гидропическая дистрофия.

На 21-е сутки усиливаются гемодинамические нарушения и отек. Отечная жидкость накапливается в портальных и перипортальных зонах, в перисинусоидальных пространствах, в периваскулярных пространствах. Отек становится диффузным. В строме печени отмечается набухание и гомогенизация коллагеновых волокон, распад основного вещества соединительной ткани с накоплением гликозаминогликанов. При окраске толуидиновым синим наблюдается метакромазия, что указывает на возникновение поверхностной дезорганизации соединительной ткани. Нарастают гемодинамические нарушения, усиливается венозный застой, увеличивается количество геморрагий. В эти сроки в строме печени

впервые появляются лимфоцитарные инфильтраты, которые расположены в портальных и перипортальных зонах преимущественно вокруг сосудов. Наблюдается диффузная гидропическая дистрофия гепатоцитов, которая распространяется на всю дольку (рис. 2).

Ядро гепатоцитов сморщенное. Встречаются единичные гепатоциты с признаками баллонной дистрофии. В I зоне долек увеличивается число крупных и двуядерных гепатоцитов, что указывает на усиление процессов регенерации.

На 28-е сутки отек усиливается, становится диффузным и распространяется на всю печень. Усиливаются гемодинамические нарушения. В эти сроки усиливаются деструктивные изменения. Цитоплазма гепатоцитов подвергается лизису, появляются очаги колликвационного некроза, представленные слабо-эозинофильными некро-

тическими массами. Увеличивается количество лимфоцитарных инфильтратов, а также число пролиферирующих гепатоцитов в I зоне.

На 35-е сутки отмечается усиление отека, расширение перисинусоидальных пространств, атрофия и истончение печеночных балок. В паренхиме печени появляются полости разной величины и формы. Между полостями определяются гепатоциты со светлой цитоплазмой и пикнотичными ядрами. В эти сроки в паренхиме печени развиваются тяжелые дистрофические и деструктивные изменения: диффузная гидропическая и баллонная дистрофия, очаги плазмолиза, колликвационного некроза и отмечается наличие множества полостей. В строме печени определяются многочисленные лимфоцитарные инфильтраты с примесью гистиоцитов (рис. 3).

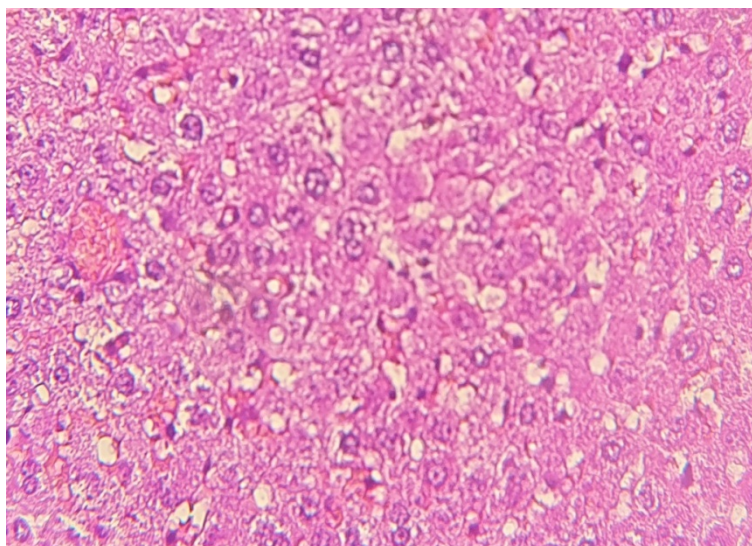


Рис. 2. Гидропическая дистрофия гепатоцитов (21-е сутки). Окр. гематоксилином и эозином. Ув. х400

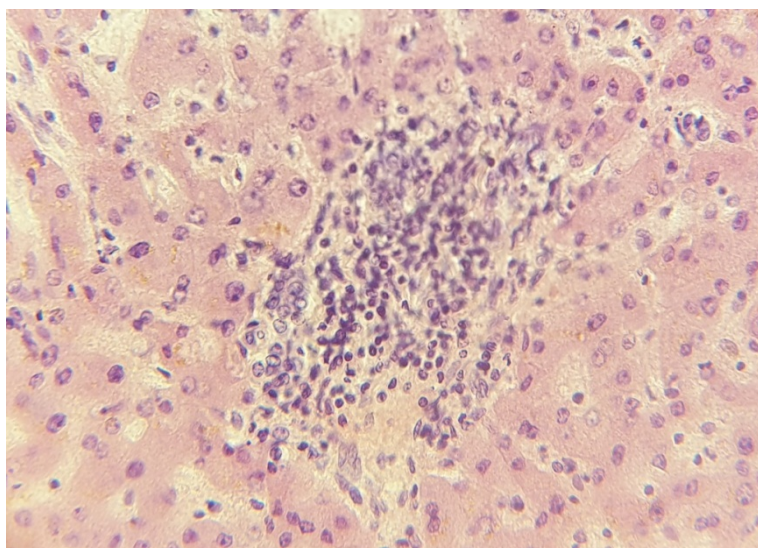


Рис. 3. Очаговые лимфоцитарные инфильтраты в строме печени (35-е сутки). Окр. гематоксилином и эозином. Ув. х400

На 45-е сутки значительно усиливаются отек, гемодинамические нарушения, нарастает тяжесть дистрофических и деструктивных изменений. Происходит выраженная атрофия печеночных балок, истончение их, атрофия гепатоцитов, определяются многочисленные очаги цитолиза, колликвационного некроза и образование полостей.

Таким образом, при экспериментальном гипотиреозе в печени наблюдают гемодинамические нарушения, выраженный микседематозный отек, тяжелые дистрофические и деструктивные изменения с явлениями цитолиза, колликвационного некроза, лимфоцитарных инфильтратов и образования полостей. При иммуногистохимическом исследовании с использованием маркера Ki-67 выявлена позитивная экспрессия протеина Ki-67. Индекс пролиферации в контрольной группе составил 5 %. На 7-е сутки эксперимента пролиферация протеина Ki-67 аналогична контрольной группе. На 14-е сутки отмечено небольшое понижение индекса пролиферации протеина Ki-67 до 4,6 %. На 28-е сутки обнаружено статистически достоверное уменьшение индекса пролиферации до 3 %. Понижение экспрессии протеина Ki-67 наблюдается преимущественно в I и II зонах печеночной дольки. Снижение экспрессии протеина Ki-67 при экспериментальном гипотиреозе обусловлено снижением процессов регенерации гепатоцитов.

Имуногистохимическое исследование с использованием маркера P53 выявило позитивную экспрессию протеина P53. В контрольной группе экспрессия протеина P53 позитивная и равномерная, индекс экспрессии составил 5 %. В экспериментальной группе экспрессия протеина P53 неравномерная. На 7-е сутки индекс экспрессии такой же, как в контрольной группе (5 %). На 14-е сутки наблюдается небольшое повышение экспрессии, индекс составил 5,5 %. На 28-е сутки экспрессия протеина P53 неравномерная, выявлено усиление экспрессии, индекс составил 7 %. К концу эксперимента отмечается значительное усиление экспрессии, индекс составил 10 %.

Таким образом, при экспериментальном гипотиреозе отмечается позитивная экспрессия протеина P53. Индекс экспрессии к концу экспрессии увеличивается в 2 раза, что свидетельствует об увеличении процессов апоптоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тотальная тиреоидэктомия у лабораторных животных приводит к развитию первичного послеоперационного гипотиреоза, что подтвержде-

но значительным уменьшением уровня тиреоидных гормонов (Т4 и Т3) в крови крыс и увеличением уровня тиреотропного гормона (ТТГ).

При экспериментальном гипотиреозе наблюдается нарушение поведения крыс, появляется сонливость, гиподинамия, снижение аппетита, потускнение шерсти, облысение, гиперкератоз, трещины и кровоизлияния на хвосте, на лапках и голове.

В печени при экспериментальном гипотиреозе отмечается увеличение размеров печени в 2 раза. При гистологическом исследовании выявлены гемодинамические нарушения, микседематозный отек, дистрофические и деструктивные изменения, лимфоцитарные инфильтраты, очаги плазмолиза, колликвационного некроза и образование полостей.

Результаты иммуногистохимического исследования показали, что при экспериментальном гипотиреозе отмечается усиление экспрессии P53 в 2 раза, что свидетельствует об увеличении процессов гибели гепатоцитов путем апоптоза. Экспрессия Ki-67 снижается, что указывает на снижение процессов регенерации в печени при гипотиреозе.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Абросимов, А. Ю.* Морфологическая диагностика заболеваний щитовидной железы / А. Ю. Абросимов, И. А. Казанцева, Е. Ф. Лушников. – М. : СИМК, 2012. – 192 с.
2. *Вербовой, А.* Гипотиреоз: клиническая картина и лечение / А. Вербовой // *Врач.* – 2015. – № 10. – С. 21–24.
3. *Городецкая, И. В.* Зависимость изменений перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности в миокарде при остром и хроническом стрессе от тиреоидного статуса организма / И. В. Городецкая, Н. А. Корневская // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* – 2010. – № 4. – С. 38–42.
4. *Замотаева, М. Н.* Исследование эффективности антиоксидантов различной структуры при комбинированном повреждении миокарда у мышей / М. Н. Замотаева, Б. И. Инчина, И. Н. Чаиркин // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 2011. – № 9. – С. 286–289.
5. *Duntas, L. H.* Hypothyroidism and depression: salient aspects of pathogenesis and management / L. H. Duntas, A. Maillis // *Minerva endocrinologica.* – 2013. – Vol. 38, № 4. – P. 365–377.
6. *Gender differences in symptoms of hypothyroidism: a population-based DanThyr study / Allan Carle [et al.] // Clinical endocrinology.* – 2015. – Vol. 83, № 5. – P. 717–725.
7. *Subclinical hypothyroidism and risk of cerebral small vessel disease: A hospital-based observational study // Xiaohao Zhang [et al.] // Clinical endocrinology.* – 2017. – Vol. 87, № 5. – P. 581–586.