

# Предиктори цитолізу гепатоцитів інсулінорезистентних щурів за умов пре- та постнатального йододефіциту

В.Б. Стецев'ят<sup>1</sup>, Н.М. Воронич-Семченко<sup>1</sup>, М.М. Багрій<sup>2</sup>, Т.В. Гуранич<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Івано-Франківський національний медичний університет, Україна;

<sup>2</sup>Інститут патології та цитології університетської клініки Руппін-Бранденбург, Федеральна Земля Бранденбург, Німеччина; e-mail: vstetsevyat@ifnmu.edu.ua

*Вивчали маркери вуглеводного обміну, показники тиреоїдного профілю, активність трансаміназ і структурні особливості печінки щурів, які перебували на високофруктозній дієті за умов належного забезпечення йодом, пре- і постнатального йододефіциту з урахуванням статевого диморфізму. Виявили, що при навантаженні фруктозою тварин із йододефіцитом ризик розвитку інсулінорезистентності (ІР) підвищується (індекс НОМА-ІР у інсулінорезистентних щурів-самців на тлі пре- і постнатального йододефіциту збільшується на 22 та 13% відповідно щодо значень у тварин, які отримували високовуглеводну дієту і належне забезпечення йодом). Важливо, що у самців та самиць із ІР зменшувалася секреція вільного трийодтироніну на 36 та 40%, тиреотропного гормону – на 28 та 34% відповідно щодо значень у інтактних тварин. Розвиток ІР супроводжувався активацією амінотрансфераз у сироватці крові (більше у самців). Зокрема, у щурів-самців із ІР за умов пре- та постнатального йододефіциту зростала активність аспаратамінотрансферази у 2,7 та 2,4 раза, аланінамінотрансферази – у 3,9 та 2,7 раза відповідно, що зумовило зниження індексу де-Ріміса (більше на тлі пренатального йододефіциту – на 25%) щодо значень у тварин, які перебували на стандартному харчовому раціоні. Активність амінотрансфераз у щурів із ІР та йододефіцитом була більшою, ніж у тварин із ізольованими дефіцитом йоду – на 11–56% та ІР – на 13–47%. У тварин із ІР виявили наявність двоядерних гепатоцитів і дифузне зменшення у них кількості гранул глікогену та накопичення глікопротеїнів у стінці судин печінки. У самиць ідентифікували осередки жирової дистрофії та виражений зональний характер дистрофічних процесів у гепатоцитах, у самців переважала дифузна дистрофія. У цитоплазмі гепатоцитів тварин із ІР за умов пренатального йододефіциту спостерігали просвітлення та зернистість, поодинокі гранули глікогену. Були збільшені середні периметр (на 74%) та площа (втричі) гепатоцитів, середня площа ядра (у 3,1 раза), середні периметр (на 50%) та площа (на 66%) ядерця щодо контролю. Структурні зміни узгоджувалися зі зростанням активності трансаміназ. Таким чином, навантаження фруктозою та розвиток ІР виступає тригером цитолізу гепатоцитів, що посилюється за умов йододефіциту, особливо пренатального.*

*Ключові слова:* гепатобілярна система; амінотрансферази; інсулінорезистентність; пре- та постнатальний йододефіцит.

## ВСТУП

Актуальність дослідження зумовлена тенденцією до зростання поширеності цукрового діабету (ЦД) та тиреоїдної патології, їх коморбідності, особливо в період пандемії коронавірусної інфекції COVID-19. За даними наукових досліджень у 11–23% хворих

на ЦД діагностують порушення тиреоїдного гомеостазу (від мінімальної тиреоїдної недостатності до маніфестного гіпотиреозу), а у 13–19% пацієнтів із гіпотиреозом – інсулінорезистентність (ІР), предіабет чи діабет [1–5]. Відомо, що за умов ЦД формується дисфункція гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної осі, зменшується секреція тиреотропного

гормону (ТТГ) у відповідь на стимуляцію аденогіпофіза тиреоліберином гіпоталамуса. Клінічно підтверджено, що гіпотиреоз асоціюється зі зниженою чутливістю тканин до інсуліну [6–9].

Висока ймовірність взаємного впливу коронавірусної хвороби та ЦД, формування тиреоїдної патології у гострий період і після перенесеного захворювання. Відомо, що COVID-19 може виступати тригером порушення функцій печінки у пацієнтів без ураження органа та підвищувати ризики за умов хронічних захворювань (гепатиту, цирозу). Структурно-функціональні зміни органа можуть бути пов'язані з цитопатичними ефектами вірусу SARS-CoV-2, використанням гепатотоксичних препаратів (протівірусних, нестероїдних протизапальних препаратів, глюкокортикостероїдів тощо). До факторів, які асоційовані з дисфункцією печінки при COVID-19, належать чоловіча стать, похилий вік, надлишкова маса тіла, захворювання самого органа, коморбідна патологія (ендокринні, серцево-судинні захворювання, імунодефіцитні стани та ін.) [1, 10–15]. Зазначені зміни вуглеводного, тиреоїдного гомеостазу, гепатобілярної системи можуть потенціюватися на тлі стресу, що підвищує ризики розвитку захворювань у період війни.

У генезі розвитку ІР та ЦД 2-го типу заслуговують на увагу аліментарні чинники, зокрема, надмірне споживання харчової фруктози та сахарози. Відомо, що фруктоза зумовлює розвиток метаболічного синдрому, асоційованого зі збільшенням маси тіла, розвитком абдомінального ожиріння та підвищенням толерантності до глюкози [16, 17]. Некорегована гіперглікемія суттєво впливає на перебіг метаболічних процесів. Проте спектр специфічних порушень з урахуванням статевого диморфізму та механізми їх розвитку залишаються дискусійними, особливо за умов йододефіциту.

Мета нашого дослідження – вивчити маркери вуглеводного обміну, показники тиреоїдного профілю, активність печінкових

трансаміназ і структурні особливості печінки у щурів за умов високофруктозної дієти, пре- і постнатального йододефіциту та їх поєднання з урахуванням статевого диморфізму.

## МЕТОДИКА

Дослідження проведені на нелінійних статевозрілих щурах (самцях та самицях), рандомізованих методом випадкової вибірки. Тварини були розділені на такі групи: 1-ша – інтактні тварини (контрольна група, 12 самців і 12 самиць), 2-га – тварини, які перебували на йододефіцитній дієті у другому поколінні (щури з пренатальним йододефіцитом, група порівняння, 15 самців і 11 самиць), 3-тя – тварини, які перебували на йододефіцитній дієті у статевозрілому віці (щури з постнатальним йододефіцитом, група порівняння, 20 самців і 20 самиць), 4-та – тварини, які перебували в умовах тривалого високофруктозного вигодовування за умов належного забезпечення йодом (20 самців і 20 самиць), 5-та – тварини з ІР, індукованою фруктозою, та пренатальним йододефіцитом (18 самців і 15 самиць), 6-та – тварини з ІР, індукованою фруктозою, та постнатальним йододефіцитом (20 самців і 20 самиць). Тварини 4–6-ї груп масою 150–165 г перебували в умовах високофруктозного вигодовування (отримували замість питної води 20%-й розчин фруктози; «Голден Фарм», Україна) впродовж 8 тиж [13]. Тварини 2-ї та 5-ї груп (покоління, яке народжене після природного спарювання від щурів, які перебували на йододефіцитній дієті не менше ніж 2 міс, включаючи гестаційний період самиць) – отримували дієту з обмеженим вмістом йоду від народження; 3-ї та 6-ї – отримували йододефіцитну дієту у статевозрілому віці впродовж 2 міс [18]. Щури контрольної групи знаходилися на стандартному харчовому раціоні віварію з вільним доступом до звичайної води. Тварин виводили з експерименту декапітацією під кетаміновим наркозом (Кетамін, ВАТ «Фармак», Київ, Україна, 100 мг/кг маси тіла внутрішньоочеревинно).

Для оцінки тиреоїдного статусу тварин визначали вміст вільних трийодтироніну ( $vT_3$ ) та тироксину ( $vT_4$ ), тиреотропного гормону (ТТГ) у сироватці крові методом імуноферментного аналізу на аналізаторі ER-500 ("Sinnowa", Китай) із використанням набору "ELISA" ("Elabscience", США) і наступним обчисленням індексів  $vT_3/vT_4$ , ТТГ/ $vT_4$  та концентрацію йоду в сечі. ІР діагностували за індексом НОМА-ІР (Homeostasis Model Assessment Insulin Resistane), який знаходили за значеннями глюкози та інсуліну у сироватці крові, а також установлювали вміст глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) у цільній крові. Концентрацію глюкози у сироватці крові визначали, використовуючи набори «Реагент» (Дніпропетровськ, Україна), вміст інсуліну – реактиви EIA-2935 ("ELISA", Elabscience, США). Кількість загального гемоглобіну досліджували ацетонціангідриновим методом, вміст HbA1c оцінювали за концентрацією 1-дезоксигіалуроніду (N-валіл)-фруктози («Реагент», Дніпропетровськ, Україна). Вимірювання проводили на планшетному імуноферментному аналізаторі STAT FAX 2100 (Китай). Для характеристики проникності мембран гепатоцитів у сироватці крові визначали активність амінотрансфераз: аспаратамінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ), використовуючи реактиви «Філісіт-Діагностика» (Дніпропетровськ, Україна) та обчислювали коефіцієнт де-Рітіса (співвідношення АсАТ/АлАТ).

Для здійснення загальногістологічного та спеціальних гістологічних досліджень печінку впродовж 24 год фіксували у 10%-му розчині нейтрального формаліну (рН 7,0). Згодом її шматочки поміщали у висхідну серію спиртів для дегідратації, далі – у хлороформ, суміш хлороформ-парафін (1:1), парафін (при 37°C). Після парафінової передпідготовки, шматочки заливали у парафін. Серійні парафінові зрізи товщиною 4–6 мкм виготовляли на санному мікромомі. Гістологічні зрізи печінки забарвлювали гематоксиліном та еозинном, за Шабадашем (для ідентифікації глікогену) та проводили PAS-забарвлення

(для верифікації глікопротеїнів) [19].

Умови утримання та маніпуляції, які проводили з тваринами під час дослідження, виведення шурів із експерименту відповідали вимогам законодавства України (Київ, 2000; 2006) та принципів Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Статистичний аналіз цифрових результатів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Excel пакета Microsoft Office 365 ProPlus. Результати представлені у вигляді  $M \pm m$ . Достовірність відмінностей оцінювали за критерієм *t* Стьюдента. Різницю параметрів вважали вірогідною при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті дослідження встановили, що у тварин, які перебували на високофруктозній дієті, порушувався вуглеводний обмін: зростала концентрація глюкози на 46 та 30%, інсуліну – на 35 та 28% у сироватці крові та вміст HbA1c у крові на 76 та 52% у самців і самиць відповідно щодо значень у інтактних тварин ( $P < 0,05$ ; рис. 1). За таких умов індекс НОМА-ІР перевищив контрольні значення у самців майже вдвічі ( $P < 0,05$ ), у самиць – на 60% ( $P < 0,05$ ). Достовірна розбіжність між досліджуваними показниками вуглеводного обміну у різностатевих тварин на тлі високофруктозної дієти дає змогу підтвердити дані літератури про більшу чутливість шурів-самців до навантаження вуглеводами і вищий ризик у них розвитку ІР [11].

У шурів, які знаходились на йододефіцитній дієті впродовж двох поколінь, спостерігали гіперглікемію, гіперінсулінемію, збільшення вмісту HbA1c у крові та зростання індексу НОМА-ІР щодо контрольних значень (див. рис. 1). За умов постнатального йододефіциту виявлено тенденцію до гіперглікемії та зростання вмісту HbA1c у цільній крові, проте їх значення достовірно не відрізнялися від контролю. Такі зміни зумовлені

особливостями тиреоїдного статусу, адже відомо, що гормони щитоподібної залози впливають на обмін глюкози. Більш виражені розбіжності за умов пренатального йододефіциту можуть бути наслідком порушеного дозрівання інсулінової системи [3, 7]. При навантаженні фруктозою самців у разі пре- і постнатального йододефіциту встановили вірогідне зростання індексу НОМА-ІR (на

22 та 13%) і вмісту HbA1c у крові (на 23 та 10%) відповідно щодо значень у тварин, які отримували тільки високовуглеводну дієту. У самиць зміни вуглеводного обміну були виражені менше. Це дає змогу припустити зростання ймовірності розвитку ІР за умов йодної депривації, особливо у самців.

У щурів із ІР порушується тиреоїдний гомеостаз: зменшується секреція  $VT_3$  на 36 та

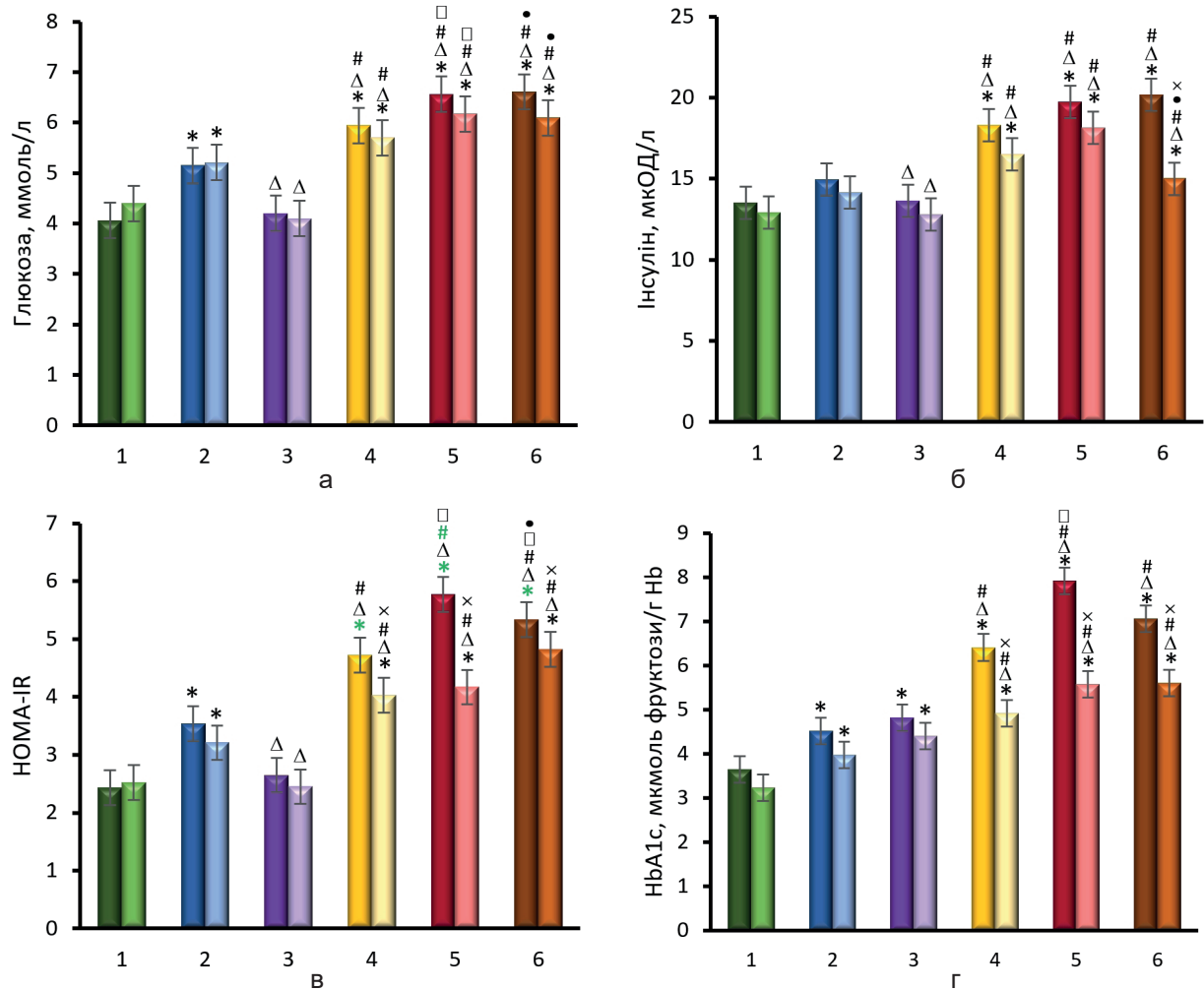


Рис. 1. Зміни показників вуглеводного обміну інтактних тварин, за умов пре- і постнатального йододефіциту, інсулінорезистентності (ІР) та їх поєднання ( $M \pm m$ ): а – глюкоза, б – інсулін, в – індекс НОМА-ІR, г – глікозильований гемоглобін. 1 – інтактні тварини (контрольна група), 2 – тварини з пренатальним йододефіцитом, 3 – тварини з постнатальним йододефіцитом, 4 – тварини з інсулінорезистентністю за умов належного забезпечення йодом, 5 – тварини з інсулінорезистентністю та пренатальним йододефіцитом, 6 – тварини з інсулінорезистентністю та постнатальним йододефіцитом; темні смужки - самці, світлі - самиці \* $P < 0,05$  – щодо значень у інтактних тварин,  $\Delta P < 0,05$  – щодо значень у тварин із пренатальним йододефіцитом, # $P < 0,05$  – щодо значень у тварин із постнатальним йододефіцитом,  $P < 0,05$  – щодо значень у інсулінорезистентних тварин, • $P < 0,05$  – щодо значень у інсулінорезистентних тварин за умов пренатального йододефіциту (із урахуванням статевого диморфізму)

40% ( $P < 0,05$ ), ТТГ – на 28 та 34% ( $P < 0,05$ ) відповідно у самців та самиць щодо значень у інтактних тварин (рис. 2). Відомо, що ІР змінює центральні механізми гіпоталамо-гіпофізарної регуляції, що супроводжується розладами компенсаторної реакції щитоподібної залози на вплив струмогенів. За таких умов поліорганні зміни у результаті гіпотиреоїдної недостатності можуть розвиватися інтенсив-

ніше [3, 6, 7]. У разі перебування щурів на високовуглеводній та йододефіцитній дієтах одночасно у сироватці крові знижується вміст  $вТ_3$  (на 13–74%,  $P < 0,05$ ) та  $вТ_4$  (на 19–72%,  $P < 0,05$ ) щодо аналогічних показників у щурів із монодефіцитом йоду. Маркерами порушень тиреоїдного гомеостазу за умов ІР можна вважати зменшення індексів  $вТ_3/вТ_4$  та  $ТТГ/вТ_4$ .

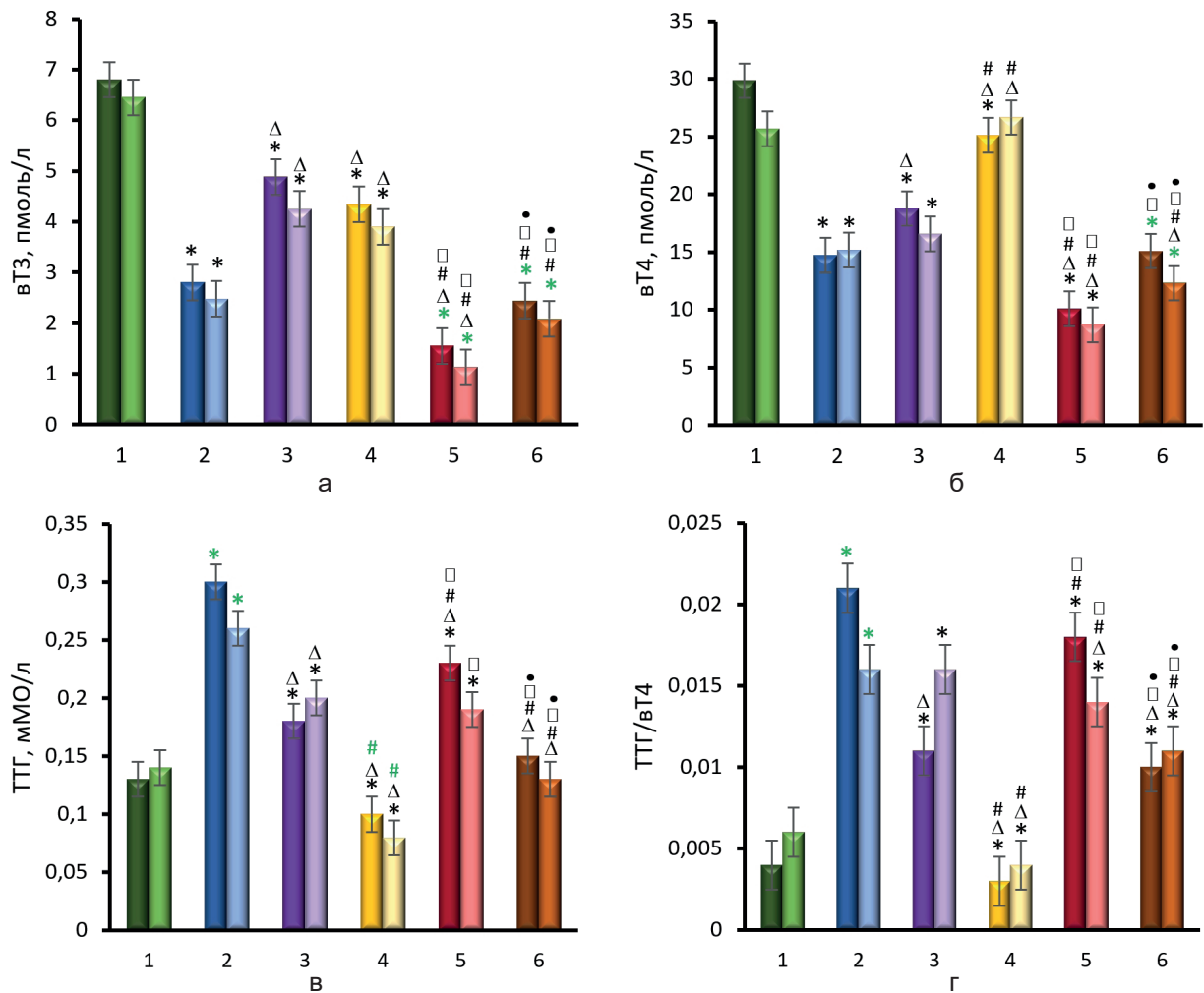


Рис. 2. Зміни показників тиреоїдного статусу інтактних тварин, за умов пре- і постнатального йододефіциту, інсулінорезистентності (ІР) та їх поєднання ( $M \pm m$ ): а – вільний трийодтиронін ( $вТ_3$ ), б – вільний тироксин ( $вТ_4$ ), в – тиреотропний гормон (ТТГ), г –  $ТТГ/вТ_4$ . 1 – інтактні тварини (контрольна група), 2 – тварини з пренатальним йододефіцитом, 3 – тварини з постнатальним йододефіцитом, 4 – тварини з інсулінорезистентністю за умов належного забезпечення йодом, 5 – тварини з інсулінорезистентністю та пренатальним йододефіцитом, 6 – тварини з інсулінорезистентністю та постнатальним йододефіцитом; темні смужки - самці, світлі - самиці. \* $P < 0,05$  – щодо значень у інтактних тварин,  $\Delta P < 0,05$  – щодо значень у тварин із пренатальним йододефіцитом, # $P < 0,05$  – щодо значень у тварин із постнатальним йододефіцитом,  $P < 0,05$  – щодо значень у інсулінорезистентних тварин, • $P < 0,05$  – щодо значень у інсулінорезистентних тварин за умов пренатального йододефіциту (із урахуванням статевого диморфізму)

У регуляції вуглеводного обміну вагому роль відіграє печінка, адже у гепатоцитах синтезується та депонується глікоген. Перебіг ЦД корелює зі структурними і функціональними порушеннями печінки та синтезу глікогену. Одним зі структурних ускладнень, що виникають за умов ЦД, є жирова дистрофія печінки, що виявляється у 10–24% випадків. Неалкогольна жирова хвороба печінки включає спектр уражень від стеатозу та стеатогепатиту до некротичного ураження та цирозу. Важливими чинниками зазначених змін є ІР, а також надмірна маса тіла [20–24].

У інсулінорезистентних щурів (самців і самиць відповідно) встановили вірогідну активацію АсАТ у 2,3 раза і на 30%, АлАТ – у 3,3 раза і на 42% та зниження індексу дерітиса на 29 і 12% щодо значень у інтактних тварин (рис. 3). Зростання активності АсАТ у тварин на тлі висококалорійної дієти може відображати метаболічну гіперактивність клітин для забезпечення фізіологічних функцій, зважаючи на участь амінотрансферази у трансмембранному транспорті відновних

потенціалів через мембрану мітохондрій та регенерацію НАДН [18, 20].

Слід відмітити активацію АсАТ на 75 і 32% ( $P < 0,05$ ), АлАТ – у 2,5 раза і на 47% ( $P < 0,05$ ) у самців і самиць відповідно за умов пренатального йододефіциту щодо контролю. У тварин із постнатальним йододефіцитом зміни активності амінотрансфераз не були такими суттєвими (у щурів-самців достовірно зросла активність АсАТ на 25%, АлАТ – на 74%, тоді як у щурів-самиць зміни активності ферментів щодо значень у інтактних тварин не були вірогідними). Проте відсутність виражених змін активності амінотрансфераз не виключає розвитку запально-деструктивного процесу і фіброзу гепатоцитів. Загалом активація АлАТ і АсАТ за умов йододефіциту односпрямована із формуванням ІР та зростанням індексу НОМА-ІР. Такі зміни можуть вказувати на розвиток дефекту інсулінової секреції у відповідь на гіперглікемію, гіперінсулінемію, можливе порушення периферичної утилізації глюкози у разі гіпотиреоїдної дисфункції на тлі йододефіциту [21–24].

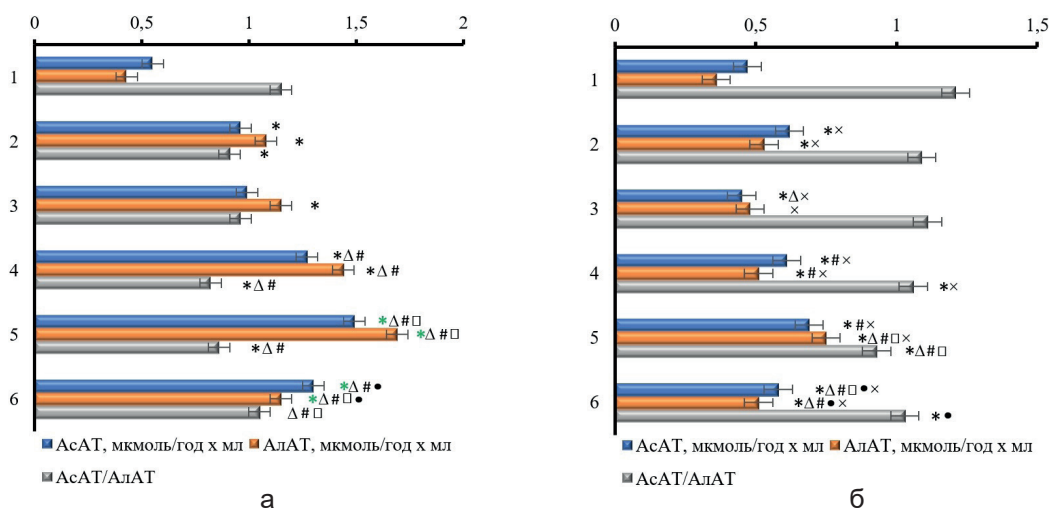


Рис. 3. Зміни активності амінотрансфераз сироватки крові щурів (а – самців, б – самиць) інтактних тварин, за умов пре- і постнатального йододефіциту, інсулінорезистентності та їх поєднання ( $M \pm m$ ). 1 – інтактні тварини (контрольна група), 2 – тварини з пренатальним йододефіцитом, 3 – тварини з постнатальним йододефіцитом, 4 – тварини з інсулінорезистентністю за умов належного забезпечення йодом, 5 – тварини з інсулінорезистентністю та пренатальним йододефіцитом, 6 – тварини з інсулінорезистентністю та постнатальним йододефіцитом; \* $P < 0,05$  – щодо значень у інтактних тварин,  $\Delta P < 0,05$  – щодо значень у тварин із пренатальним йододефіцитом, # $P < 0,05$  – щодо значень у тварин із постнатальним йододефіцитом,  $P < 0,05$  – щодо значень у інсулінорезистентних тварин, • $P < 0,05$  – щодо значень у інсулінорезистентних тварин за умов пренатального йододефіциту (із урахуванням статевого диморфізму)

Перебування тварин із йододефіцитом у другому поколінні на високофруктозній дієті супроводжувалося вірогідним зростанням активності АсАТ у 2,7 раза, АлАТ – майже у 4 рази та зниженням індексу де-Рітиса на 25% у самців щодо значень у інтактних тварин. У самиць встановили активацію АсАТ на 27%, АлАТ – вдвічі та зменшення індексу де-Рітиса на 23% порівняно з контролем ( $P < 0,05$ ). Важливо, що активність АсАТ була більшою на 55%, АлАТ – на 57% щодо значень у тварин із пренатальним йододефіцитом ( $P < 0,05$ ), АсАТ – у 2,2 раза, АлАТ – у 2,3 раза щодо значень у тварин із постнатальним йододефіцитом ( $P < 0,05$ ), АсАТ та АлАТ – на 17% ( $P < 0,05$ ) порівняно зі значеннями у тварин із ІР. Така сама закономірність змін досліджуваних показників спостерігалась у самиць. У тварин із ІР на тлі постнатального йододефіциту розбіжності досліджуваних показників щодо ізольованих ІР та монойододефіциту були виражені менше. Загалом підвищення вмісту досліджуваних ферментів у сироватці крові щурів 5-ї та 6-ї дослідних груп відображає вираженість цитолітичного синдрому, високу ймовірність ускладненого перебігу та несприятливого прогнозу за умов коморбідної патології, зокрема, розвитку глікогенової гепатопатії [18, 25]. Значення коефіцієнту де-Рітиса в інсулінорезистентних тварин за умов належного та обмеженого забезпечення йодом можуть відображати розвиток нетоксичного стеатозу та стеатогепатиту, що особливо важливо у разі поєднаної патології.

Виявлені біохімічні порушення узгоджувались зі структурними особливостями печінки при різних досліджуваних умовах. Гепатоцити інтактних тварин були без особливостей. У щурів із ІР пластинчаста організація печінки порушена через дистрофічні зміни, що переважали у периферичних відділах. Установлено збільшення периметра та площі печінкових клітин, зростання ядерно-цитоплазматичного індексу, а також наявність двоядерних гепатоцитів, що можна

тракувати як прояв регенераторних процесів у гепатоцитах (табл. 1; 2). Проте виявлене зниження співвідношення площі ядерця до площі ядра гепатоцитів може характеризувати низький рівень регенераторного процесу. Загалом гепатоцити були зі світлою цитоплазмою, у якій відзначається еозинофільна зернистість, межі клітин дещо завуальовані, ядра ущільнені, місцями фрагментовані, деформовані.

Установлено суттєве зменшення кількості гранул глікогену у клітинах переважно дифузного характеру (рис. 4, а), а також сегментарне потовщення стінки судин, іноді зі значним звуженням просвіту, накопичення у ній глікопротеїнів (див. рис. 4, б). За таких умов стінка центральних вен має ознаки гіалінозу, артерій – плазматичного просякання. У деяких випадках стінка центральних вен і портальних судин дещо розмита, світло-еозинофільна, нерівномірно потовщена (рис. 5). Такі особливості структурної організації можуть бути наслідком гіперглікемії. У тварин виявляли також осередки жирової дистрофії гепатоцитів. У просвіті окремих синусоїдних гемокапілярів та у перисинусоїдальних просторах скупчувалися лейкоцити без дегенеративно-некротичних змін у гепатоцитах. Цитоплазма окремих гепатоцитів містила різного розміру прозорі округлі вакуолі. Дистрофія гепатоцитів за умов ІР у самців мала дифузний характер, тоді як у самиць – виражений зональний. Просвітлення цитоплазми ймовірно зумовлено втратою печінковими клітинами глікогену. Важливо, що ступінь ферментної активності може не відповідати інтенсивності структурних змін, що збігається з літературними даними і може характеризувати ранні зміни – предиктори цитолізу гепатоцитів [9, 26, 27].

Трабекулярна будова печінки тварин із пренатальним йододефіцитом порушена внаслідок дистрофічних змін без статевих особливостей (рис. 6). Середня площа гепатоцитів у тварин удвічі ( $P < 0,05$ ) більша від контролю. Ядра клітин округлі, з дріб-

Таблиця 1. Морфометричні параметри гепатоцитів інтактних та інсулінорезистентних шурів (самців) за умов належного забезпечення йодом, пре- та постнатального йододефіциту ( $M \pm m$ )

Морфометричні параметри	Інтактні тварини (1-ша група, контрольна)	Тварини з пренатальним йододефіцитом (2-га група)	Тварини із постнатальним йододефіцитом (3-тя група)	Тварини з інсулінорезистентністю та належним забезпеченням йодом (4-та група)	Тварини з інсулінорезистентністю та пренатальним йододефіцитом (5-та група)	Тварини з інсулінорезистентністю та постнатальним йододефіцитом (6-та група)
Середній периметр гепатоцита, мкм	71,82 ± 5,81	104,99 ± 16,57	92,76 ± 10,15	92,89 ± 8,26 $P_{1,4} < 0,05$	125,19 ± 16,25 $P_{1,5} < 0,05$	123,18 ± 18,56 $P_{1,6} < 0,05$
Середня площа гепатоцита, мкм <sup>2</sup>	348,12 ± 12,59	716,03 ± 107,08 $P_{1,2} < 0,05$	576,66 ± 131,47	574,63 ± 37,61 $P_{1,4} < 0,01$	1046,69 ± 308,35 $P_{1,5} < 0,001$	998,42 ± 284,23 $P_{1,6} < 0,05$
Середній периметр ядра гепатоцита, мкм	30,64 ± 2,92	38,04 ± 3,43	37,85 ± 2,38	40,18 ± 3,49 $P_{1,4} < 0,05$	50,28 ± 8,38	50,81 ± 8,16 $P_{1,6} < 0,05$
Середня площа ядра гепатоцита, мкм <sup>2</sup>	56,41 ± 3,77	98,78 ± 19,66 $P_{1,2} < 0,05$	97,90 ± 12,62 $P_{1,3} < 0,01$	111,75 ± 13,58 $P_{1,4} < 0,05$	177,12 ± 63,38 $P_{1,5} < 0,01$	178,78 ± 59,06 $P_{1,6} < 0,001$
Ядерно-цитоплазматичний індекс, ум. од.	0,16 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,19 ± 0,01 $P_{2,4} < 0,05$	0,17 ± 0,02	0,18 ± 0,02
Середній периметр ядра гепатоцита, мкм	9,45 ± 0,55	9,92 ± 1,41	10,87 ± 1,04	12,22 ± 2,24	14,22 ± 1,74 $P_{1,5} < 0,05$	13,52 ± 2,58
Середня площа ядра гепатоцита, мкм <sup>2</sup>	7,87 ± 1,11	6,05 ± 1,74	7,47 ± 1,68	9,74 ± 3,52	13,08 ± 3,06 $P_{1,5} < 0,05$	11,86 ± 4,32
Співвідношення площі ядра до площі ядра гепатоцита, ум. од.	0,14 ± 0,03	0,06 ± 0,02 $P_{1,2} < 0,05$	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,02	0,07 ± 0,01 $P_{1,5} < 0,05$	0,07 ± 0,01 $P_{1,6} < 0,01$

Примітка: тут і в табл. 2: P - достовірні розбіжності між показниками відповідних дослідних груп.



Таблиця 2. Морфометричні параметри гепатоцитів інтактних та інсулінорезистентних шурів (саміць) за умов належного забезпечення йодом, пре- та постнатального йододефіциту (M ± m)

Морфометричні параметри	Інтактні тварини (1-ша група, контрольна)	Тварини з пренатальним йододефіцитом (2-га група)	Тварини із постнатальним йододефіцитом (3-тя група)	Тварини з інсулінорезистентністю та належним забезпеченням йодом (4-та група)	Тварини з інсулінорезистентністю та пренатальним йододефіцитом (5-та група)	Тварини з інсулінорезистентністю та постнатальним йододефіцитом (6-та група)
Середній периметр гепатоцита, мкм	73,45 ± 3,15	103,46 ± 12,74 P <sub>1-2</sub> < 0,05	94,84 ± 13,37	82,64 ± 8,75	131,71 ± 12,44 <sup>x</sup> P <sub>1-5</sub> < 0,01	121,70 ± 15,20 P <sub>1-6</sub> < 0,01 P <sub>4-6</sub> < 0,05
Середня площа гепатоцита, мкм <sup>2</sup>	362,04 ± 10,40	713,12 ± 171,53 P <sub>1-2</sub> < 0,05	596,38 ± 168,91	446,99 ± 12,45 P <sub>1-4</sub> < 0,05	1157,43 ± 212,55 P <sub>1-5</sub> < 0,01	993,15 ± 244,55 P <sub>1-6</sub> < 0,05 P <sub>4-6</sub> < 0,05
Середній периметр ядра гепатоцита, мкм	31,97 ± 1,15	40,23 ± 2,87 P <sub>1-2</sub> < 0,05	35,55 ± 3,07	35,86 ± 2,16	42,55 ± 4,23 P <sub>1-5</sub> < 0,05	42,98 ± 5,06 P <sub>1-6</sub> < 0,05
Середня площа ядра гепатоцита, мкм <sup>2</sup>	57,16 ± 3,01	112,61 ± 15,91 P <sub>1-2</sub> < 0,01	86,94 ± 15,87	87,63 ± 11,37 P <sub>1-4</sub> < 0,05	124,89 ± 26,29 P <sub>1-5</sub> < 0,05	127,97 ± 30,84 P <sub>1-6</sub> < 0,01
Ядерно-цитоплазматичний індекс, ум. од.	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,02	0,15 ± 0,03	0,20 ± 0,02	0,11 ± 0,01 P <sub>1-5</sub> < 0,05 P <sub>2-5</sub> < 0,05	0,13 ± 0,01 P <sub>4-6</sub> < 0,01
Середній периметр ядра гепатоцита, мкм	9,81 ± 0,89	12,64 ± 1,02	11,13 ± 1,05	10,58 ± 1,13	11,91 ± 1,32	13,04 ± 1,76 P <sub>1-6</sub> < 0,05
Середня площа ядра гепатоцита, мкм <sup>2</sup>	7,55 ± 0,96	10,84 ± 1,72	7,96 ± 1,52	6,98 ± 1,45	9,03 ± 2,10	11,25 ± 3,50
Співвідношення площі ядра до площі ядра гепатоцита, ум. од.	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,02	0,07 ± 0,01 P <sub>1-5</sub> < 0,05	0,09 ± 0,01

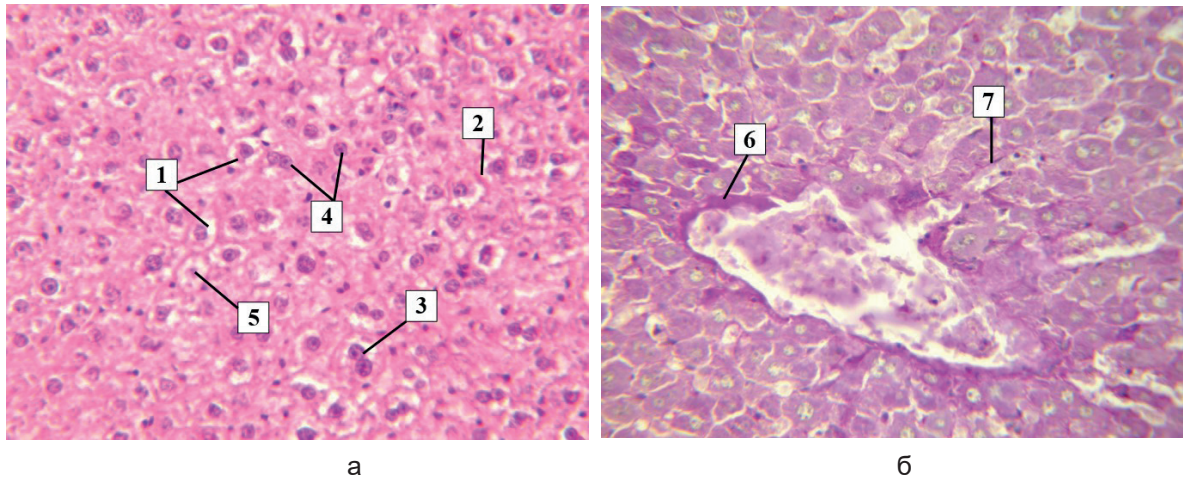


Рис. 4. Печінка інсулінорезистентного щура-самця: 1 – збільшені в розмірі гепатоцити зі світлою зернистою цитоплазмою, 2 – стиснуті синусоїдні гемокапіляри, 3 – двоядерні гепатоцити, 4 – округлої форми центрально розміщені ядрця, 5 – апоптично змінені гепатоцити, 6 – плазматичне просякання стінки центральної вени, 7 – базальна мембрана синусоїдних гемокапілярів. Забарвлення: гематоксилін та еозин (а), PAS (б). Зб.  $\times 400$

нозернистим хроматином, 1–2 ядрцями, розміщеними в їх центральній чи парацентральної частині. Синусоїдні гемокапіляри часто стиснуті, містять поодинокі еритроцити, осередково розташовані капіляри також заповнені еритроцитами з поодинокими лейкоцитами. Гепатоцити зі світлою цитоплазмою, яка містить незначну кількість гранул глікогену. У тварин, які перебували на йододефіцитній дієті у статевозрілому

віці, виявили зменшення ядерно-цитоплазматичного індексу, що може, з одного боку, характеризувати домінування дистрофічних процесів у цитоплазмі, з іншого – зниження регенераторної здатності клітин [9, 24, 25]. У ядрах спостерігали наявність 2-3 ядерць, синусоїдні гемокапіляри заповнені еритроцитами, стінки судин містять глікопротеїни. Гранул глікогену менше у гепатоцитах самиць. При аналізі метричних показників виявлено

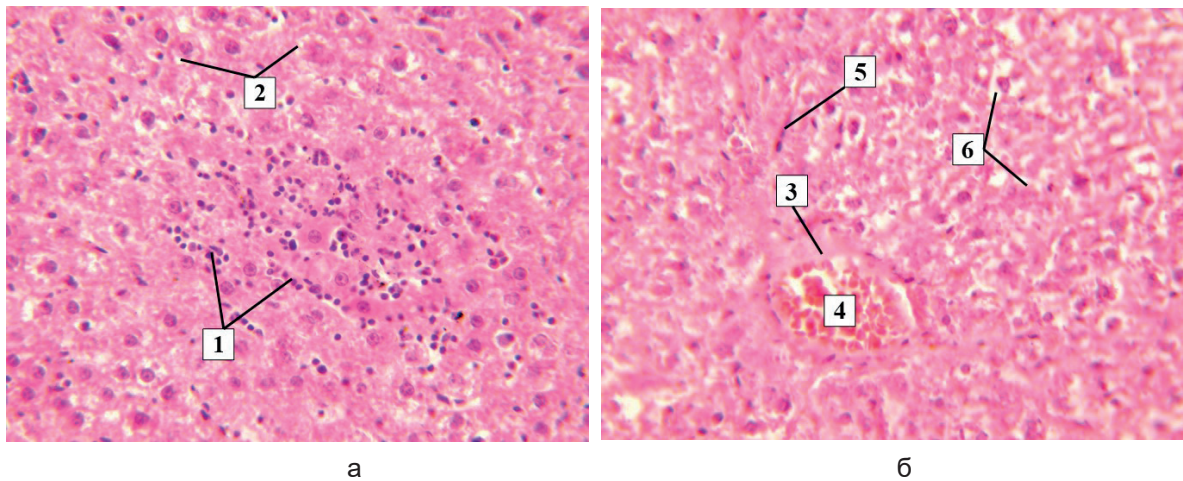


Рис. 5. Печінка інсулінорезистентної самиці щура: 1 – лейкоцити у просвіті синусоїдних гемокапілярів, 2 – дистрофічно змінені гепатоцити з просвітленою цитоплазмою, 3 – плазматичне просякання стінки центральної вени, 4 – еритроцити у просвіті центральної вени, 5 – стиснуті синусоїдні гемокапіляри, 6 – просвітлена цитоплазма гепатоцитів. Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.  $\times 400$

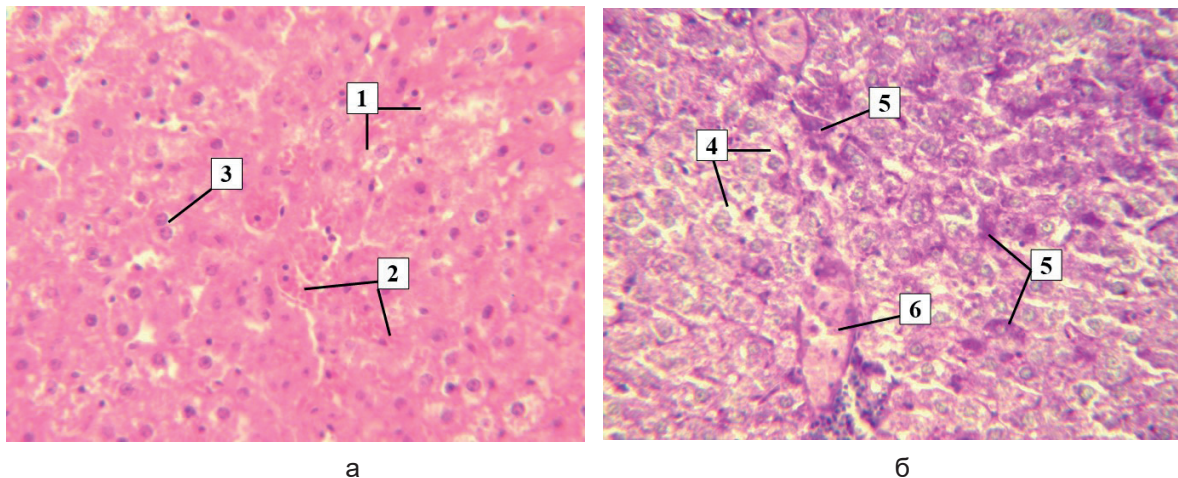


Рис. 6. Печінка щура-самця з пренатальним (а) і постнатальним (б) йододефіцитом: 1 – збільшені в розмірі гепатоцити зі світлою зернистою цитоплазмою, 2 – синусоїдні гемокапіляри з компактно розташованими еритроцитами у просвіті, 3 – поодинокі двоядерні гепатоцити, 4 – збільшені в розмірі гепатоцити зі світлою зернистою цитоплазмою, 5 – гранули глікогену в гепатоцитах, 6 – портальна вена. Зabarвлення: гематоксилін та еозин (а), за Шабашем (б). 36.  $\times 400$

зниження ядерно-цитоплазматичного індексу щодо значень у інсулінорезистентних тварин (див. табл. 1; 2). Морфометричні параметри клітин можуть відображати дистрофічний характер патологічного процесу. Середня площа гепатоцитів є близькою за значеннями в інсулінорезистентних тварин. Проте ядерно-цитоплазматичний індекс за умов пренатального йододефіциту у самців значно нижчий, що відображає, з одного боку, домінування дистрофічних процесів у цитоплазмі, а з іншого – знижену регенераторну здатність клітин, що може бути наслідком дистрофічних процесів у ядрі. При цьому за умов пренатального йододефіциту середня площа гепатоцитів більша, ніж у разі короточасного перебування на збідненій йодом дієті. Така динаміка відображає вираженість дистрофії у цитоплазмі клітин, що підтверджують значення ядерно-цитоплазматичного індексу.

При аналізі структурної організації печінки тварин із ІР за умов пренатального йододефіциту слід відмітити лише поодинокі гранули глікогену. Збільшені середні периметр (на 74 і 79%,  $P < 0,05$ ) та площа (втричі і більше,  $P < 0,001$ ) гепатоцитів, середня площа ядра (у 3,1 і 2,2 рази,  $P < 0,01$ ), а також середні периметр (на 50 і 21%,  $P < 0,05$ ) та площа

(на 66 і 20%,  $P < 0,05$ ) ядерця, що зумовило зменшення співвідношення площі ядерця до площі ядра гепатоцита (на 50 і 54%,  $P < 0,05$ ) у самців і самиць відповідно щодо значень контролю (див. табл. 1; 2). Синусоїдні гемокапіляри стиснуті, подекуди з еритроцитами у просвіті. Стінка частини центральних вен і портальних судин потовщена, насичено еозинофільна, із внутрішнього боку відзначаються поодинокі ядра ендотеліальних клітин, у просвіті – еритроцити (рис. 7, а). Найнижчий ядерно-цитоплазматичний індекс у самиць 5-ї дослідної групи може відображати домінування дистрофічних процесів у цитоплазмі та ослаблення репаративних процесів у гепатоцитах [25].

Гепатоцити інсулінорезистентних тварин із постнатальним йододефіцитом містять округлої форми різних метричних параметрів ядра з неоднаковою кількістю дифузно розташованих ядерців (до 4-5), зустрічаються у невеликій кількості двоядерні гепатоцити. У каріоплазмі окремих ядер відзначаються округлі прозорі вакуолі, які зміщують елементи ядра навколо. Синусоїдні гемокапіляри стиснуті, в окремих випадках з помірними просвітами та ознаками стазу. При цьому еритроцити розташовані компактно, межі

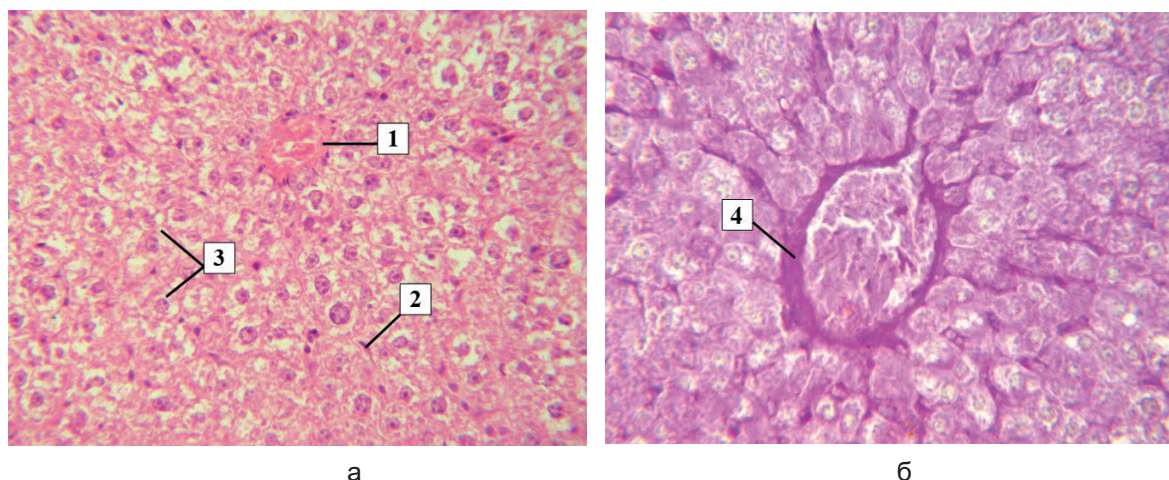


Рис. 7. Печінка інсулінорезистентного щура з пренатальним (а, самець) і постнатальним (б, самиця) йододефіцитом: 1 – гіаліноз стінки центральної вени, 2 – ендотеліоцити стиснутих синусоїдних гемокапілярів, 3 – просвітлення цитоплазми збільшених у розмірі печінкових клітин, 4 – нерівномірне накопичення глікопротеїнів у стінці центральної вени. Забарвлення: гематоксилін та еозин (а), PAS (б). 3б.  $\times 400$

між ними зливаються. Центральні вени та портальні судини здебільшого повнокровні, заповнені щільно розташованими еритроцитами, місцями з ознаками сладжу. Стінка окремих центральних вен і судин портальних трактів інтенсивно-еозинофільна, гомогенна, у деяких судинах – нерівномірної товщини. Такі зміни можуть бути зумовлені накопиченням глікопротеїнів (див. рис. 7, б).

Установлено статеву схильність тварин до уражень печінки. Особливості структурної організації гепатоцитів односпрямовані із біохімічними змінами вуглеводного обміну. Тому можна стверджувати, що самці піддаються більшому ризику до уражень гепатоцитів за умов навантаження фруктозою.

## ВИСНОВКИ

1. Високофруктозна дієта зумовлює розвиток ІР з більшою ймовірністю у самців (збільшується індекс НОМА-ІР). У інсулінорезистентних самиць толерантність до глюкози зростає у разі йододефіциту, особливо пренатального.

2. У щурів із ІР на тлі належного забезпечення йодом зменшується синтез  $\text{vT}_3$  та ТТГ, при поєднанні ІР і йододефіциту секреція

ТТГ зростає. Патернами порушень тиреоїдного статусу за умов ІР можна вважати зниження індексів  $\text{vT}_3/\text{vT}_4$  та  $\text{ТТГ}/\text{vT}_4$ , тоді як йододефіциту – їх зростання. Ступінь виявлених змін залежить від тривалості йодної депривації і є найвищим у тварин із пренатальним йододефіцитом.

3. Зміни активності амінотрансфераз сироватки крові (АсАТ, АлАТ) служать ранніми предикторами порушення вуглеводного обміну та тригерами розвитку цитолізу гепатоцитів при ІР, пре- і постнатальному йододефіциту та їх коморбідності.

4. У тварин із ІР розвиваються зміни структурної організації гепатоцитів (у самців – дифузно, у самиць – осередково), що характеризуються домінуванням дистрофічних процесів у цитоплазмі на тлі ослаблення репаративних процесів. Морфологічні порушення асоціюються зі збільшенням активності амінотрансфераз сироватки крові та наростанням цитолізу у гепатоцитах.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to*

*the study, and interrelations of co-authors of the article.*

**V.B. Stetseviat<sup>1</sup>, N.M. Voronych-Semchenko<sup>1</sup>,  
M.M. Bahrii<sup>2</sup>, T.V. Huranych<sup>1</sup>**

## **PREDICTORS OF HEPATOCYTES CYTOLYSIS OF INSULIN RESISTANT RATS UNDER CONDITIONS OF PRE- AND POSTNATAL IODINE DEFICIENCY**

<sup>1</sup>*Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine;*

<sup>2</sup>*Institute of the Pathology and Cytology, University  
Clinic Ruppin-Brandenburg, Federal State Brandenburg,  
Germany; e-mail: vstetsevyat@ifnmu.edu.ua*

Carbohydrate metabolism markers, thyroid profile indexes, transaminase activity and structural features of liver were studied, taking into account sexual dimorphism, in rats which were keeping on a high-fructose diet under conditions of adequate iodine supply and pre- and postnatal iodine deficiency. It was found that under fructose loading of animals with iodine deficiency the risk of insulin resistance (IR) development increases (HOMA-IR index in insulin-resistant male rats under conditions of pre- and postnatal iodine deficiency increases respectively by 22 and 13% compared to the data in animals that received a high-carbohydrate diet and adequate iodine supply). It is important, that in males and females with IR, the secretion of free triiodothyronine decreased by 36 and 40%, thyroid-stimulating hormone – by 28 and 34%, respectively, compared to the data of intact animals. The development of IR was accompanied by the activation of aminotransferases in blood serum (more in males). In particular, in male rats with IR under conditions of pre- and postnatal iodine deficiency, the activity of aspartate aminotransferase increased by 2.7 and 2.4 times, alanine aminotransferase – by 3.9 and 2.7 times, respectively, which led to a decrease of the de-Ritis index (more significantly against the background of prenatal iodine deficiency – by 25%) in relation to the data in animals that were on a standard diet. The activity of aminotransferases in rats with IR under conditions of iodine deprivation was higher than in animals with isolated iodine deficiency – by 11-56% and IR – by 13-47%. In animals with IR, the presence of binucleated hepatocytes with a diffuse decrease in the number of glycogen granules in them and accumulation of glycoproteins in the wall of liver vessels were found. The foci of fatty dystrophy and pronounced zonal character of dystrophic processes in hepatocytes were identified in females, diffuse dystrophy prevailed in males. In the cytoplasm of hepatocytes of animals with IR under conditions of prenatal iodine deficiency, the lightening and the granularity, single granules of glycogen were observed. Under these conditions, the average perimeter (by 74%) and area (by three times) of hepatocytes, the average area of nucleus (by 3.1 times), the average perimeter (by 50%) and area (by 66%) of the nucleolus were increased compared to the control values. The structural changes were consistent with an increase of the transaminase activity. Thus, fructose

loading and the development of IR acts as a trigger for cytolysis of hepatocytes, which increases under conditions of iodine deficiency, especially prenatal.

Keywords: hepatobiliary system; aminotransferases; insulin resistance; pre- and postnatal iodine deficiency.

## **REFERENCES**

1. Halushko OA, Loskutov OA, Trishchynska MA, Kuchynska IA, Boliuk MV. Main causes of complicated COVID-19 in patients with diabetes mellitus. *Emerg Med.* 2021;4(17):23-31. [Ukrainian].
2. Horodynska OYu, Bobyriova LYe. Prognostic characteristics of hypothyroidism prevalence in the Poltava region and in Ukraine under conditions of iodine deficiency. *Int J Endocrinol* 2016;2:44-9. [Ukrainian].
3. Kravchun NO, Dunaieva IP, Kozakov OO. A personalized strategy for the therapy of hypofunction of the thyroid gland. *Probl Endocrin Pathol.* 2021;3:120-4. [Ukrainian].
4. Pankiv V, Yuzvenko T, Pankiv I. Features of blood pressure and endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus and primary hypothyroidism. *Clin Endocrinol Endocrin Surg.* 2018;3(62):28-33. [Ukrainian].
5. Rubtsova EI, Kuposovich MV. Structure prevalence and comorbidity in patients with hypothyroidism under endemic regions. *Ukr Nation's Health.* 2017;2(48):98-102. [Ukrainian].
6. Feisa SV. Therapeutic possibilities of correction of subclinical hypothyroidism in patients with nonalcoholic fatty liver disease and carbohydrate metabolism disorder. *Ukr Nation's health.* 2018;3(50):91-7. [Ukrainian].
7. Tkachuk OV, Tkachuk SS, Cook MA, Boshtan SV, Sorokhan VD. Pathogenesis of the morphofunctional state disorders of the liver in diabetes mellitus type 1. *Clin Exp Pathol.* 2020;19(2,72):98-105. [Ukrainian].
8. Khan SH, Fazal N, Ijaz A, Manzoor SM, Asif N, Rafi T, et al. Insulin resistance and glucose levels in subjects with subclinical hypothyroidism. *J Coll Phys Surg Pak.* 2017 Jun;27(6):329-33.
9. Nazemi VS, Dayer MR, Mohammadi T. Investigating the Effect of experimental hypothyroidism on insulin/thyroid hormones and hepatic steatosis. *Zahed J Res Med Sci.* 2019 Feb 6;21(1):1-6.
10. Cholankeril G, Podboy A, Aivaliotis VI, et al. High prevalence of concurrent gastrointestinal manifestations in patients with severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2: Early Experience From California. *Gastroenterology.* 2020; 159(2): 775-7.
11. Cichoż-Lach H, Michalak A. Liver injury in the era of COVID-19. *World J Gastroenterol.* 2021;27(5): 377-90.
12. Chubirko KI. Insulin resistance and obesity. *Ukr Nation's Health.* 2017;2(43):125-8. [Ukrainian].
13. Shuprovych AA. Violation of uric acid metabolism in rats with experimental insulin resistant syndrome induced by fructose. *Fiziol Zh.* 2011;57(1):72-81. [Ukrainian].
14. Anil C, Kut A, Atesagaoglu B, Nar A, Tutuncu NB, Gursoy A. Metformin decreases thyroid volume and nodule size

- in subjects with insulin resistance: A Preliminary study. *Med Principl Pract.* 2016;25:233-6.
15. Cichoż-Lach H, Michalak A. Liver injury in the era of COVID-19. *World J Gastroenterol.* 2021; 27(5): 377-90.
  16. Kindrativ EO, Vasylyk VM, Matskevych VM, Kostyuk VM, Semchenko VA, Voronych, VO. Retrospective analysis of coronavirus disease lethal cases. *Fiziol Zh.* 2021;67(4):76-85. [Ukrainian].
  17. Xu L, Liu J, Lu M, et al. Liver injury during highly pathogenic human coronavirus infections. *Liver Int.* 2020; 40(5): 998-1004.
  18. Todoriv TV, Bagrii MM, Voronych-Semchenko NM. State of endothelial function, features of coronary vessels structure of rats with obesity and insulin resistance under iodine deficiency conditions. *Fiziol Zh.* 2021;67(6):21-31.
  19. Bagriy MM, Dibrova VA. Methods of morphological research: monograph; 2016:328. [Ukrainian].
  20. Kondro MM, Berehova TV, Ostapchenko LI. Influence of high-energy diet on enzyme activity of main complexes of mitochondrial respiratory chain and activity of  $H^+$ -atpase of mitochondrial inner membrane of rat hepatocytes. *Proceeding of the Shevchenko Scientific Society. Med Sci.* 2017;49(1):28-9.
  21. Zhang C, Shi L, Wang FS. Liver injury in COVID-19: management and challenges. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2020;5(5):428-30.
  22. Lozano-Sepulveda SA, Galan-Huerta K, Martínez-Acuña N, et al. SARS-CoV-2 another kind of liver aggressor, how does it do that? *Ann Hepatol.* 2020; 19(6):592-6.
  23. Kovalchuk PE, Hasko MV, Tuliuliuk SV. Reparative osteogenesis in normal conditions and under conditions of iodine and selenium trace elements deficiency. *Int J Endocrinol.* 2015;3(67):61-4. [Ukrainian].
  24. Perry RJ, Camporez JG, Kursawe R, Titchenell PM, Zhang D, Perry CJ, et al. Hepatic acetyl CoA links adipose tissue inflammation to hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Cell.* 2015 Feb 15;160(4):745-58.
  25. Nykolyshyn LV, Voronych-Semchenko NM, Huranych TV, Storozhuk NS, Semchenko VA. Analysis of NO-synthase system indexes of myocardium and liver of rats with hypothyroid dysfunction. *Art Med.* 2017;3:61-5. [Ukrainian].

*Матеріал надійшов  
до редакції 01.05.2023*