



Міністерство освіти і науки України
Міністерство охорони здоров'я України
Національна академія медичних наук України
Всеукраїнська громадська організація «Наукове товариство
анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України»
Асоціація патологоанатомів України
Дніпровський державний медичний університет

МАТЕРІАЛИ ВОСЬМОЇ ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ
НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ
З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ

«ТЕОРІЯ ТА ПРАКТИКА СУЧАСНОЇ МОРФОЛОГІЇ»

ЗБІРНИК НАУКОВИХ РОБІТ

6-8 Листопада 2024 року

м. Дніпро, Україна

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ
ГЛУТАМАТ-ІНДУКОВАНОГО ОЖИРІННЯ НА ФОНІ ПЕРІОДИЧНОГО
ВВЕДЕННЯ МУЛЬТИПРОБІОТИКА**

М.М. Кондро ¹, Т.В. Берегова ², У.М. Галюк ¹

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

² Київський національний університету імені Тараса Шевченка
Львів, Київ, Україна

Актуальність. Одним з факторів розвитку метаболічно-асоційованої жирової хвороби печінки (МАЖХП) є ожиріння, основною причиною якого є енергетичний дисбаланс між спожитими та витраченими калоріями. В цей комплексний процес включені також генетична схильність, стиль життя, склад кишкової мікробіоти та фактори навколишнього середовища. З'ясування механізмів розвитку стеатозу печінки, що лежать в основі патогенезу МАЖХП та ожиріння, дозволить впровадити в медичну практику нові ефективні лікувально-профілактичні методи цього захворювання та супутніх патологій. Аналіз літератури щодо ролі кишкової мікробіоти в розвитку ожиріння та її вплив на метаболізм вісцерального жиру активно дискутується (Jia W., 2018; Gerard C., 2019), тому наукові дослідження, де був би використаний пробіотичний препарат для нормалізації якісного і кількісного складу мікрофлори кишечника, а саме мультипробіотика, залишаються актуальними.

Мета дослідження. Оцінити морфофункціональні зміни у печінці щурів за умов неонатального введення глютамату натрію на фоні періодичного введення мультипробіотика.

Матеріали та методи дослідження. Експерименти проведені на 15 білих нелінійних щурах-самцях, яких утримували у віваріях ЛНМУ імені Данила Галицького та КНУ імені Тараса Шевченка з дотриманням правил Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та затверджених Першим національним конгресом з біоетики України (Київ, 2001). Комісії з питань біоетики ЛНМУ імені Данила Галицького (протокол №5 від 22.06.2020) та ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ імені Тараса Шевченка (протокол №1 від 04.02.2019) не виявили морально-етичних порушень при проведенні експериментальних досліджень. Тварин утримували на стандартному кормі "Purina rodent chow" (жир - 20,6%, білок - 32,4%, вуглеводи - 47%) та воді ad libitum. Модель абдомінального ожиріння полягала у введенні щурам в неонатальному періоді глютамату натрію (ГН), доза якого становила 4 мг/г, розчиненого у воді для ін'єкцій об'ємом 8 мкл/г (Savcheniuk O., 2014). ГН вводили підшкірно на 2-й, 4-й, 6-й, 8-й і 10-й день після народження. Загальна кількість ін'єкцій дорівнювала 5-ти. У віці 1 місяця щурів рандомізовано ділили на 2 групи, контролем для яких слугували щури відповідного віку, яким після неонатального введення ГН вводили воду об'ємом 0,25 мл/100 г (це 2-х тижневе курсове введення упродовж 3-х місяців після 1 місяця життя) (контрольна група). Другій групі щурів після неонатального введення ГН вводили водний розчин мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований (140

6-8 листопада 2024 року
Дніпро, Україна

мг/кг) в об'ємі 0,25 мл/100 г (2-х тижневе курсове введення упродовж 3-х місяців після 1 місяця життя). По закінченню експерименту у віці 4-х місяців щурів зважували та евтаназували. Далі відпрепарували та зважували вісцеральну жирову тканину. У кожної тварини наявність ожиріння визначали за Індексом Лі, що є відношенням кореня кубічного з маси тіла (г) до назо-анальної довжини щура (см). Щурів, у яких значення індексу Лі було більшим за 0,300 г^{1/3}/см, класифікували як щури з ожирінням, а щурів із значенням індексу Лі близьким, або меншим 0,300 г^{1/3}/см відносили до нормальних щурів (Bernardis L.L., 1968). При цьому гіперфагія не розвивалась, так як щоденне споживання корму не змінювалось. Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Для визначення виду розподілу даних використовували W критерій Шапіро-Уїлка. Оскільки, поділ даних був нормальним, вірогідність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. При невідповідності вибірки критеріям нормального розподілу, достовірність відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерію Манна-Уїтні (U). Вірогідною вважали різницю між порівнювальними показниками при $p < 0,05$. Розрахунки виконували з використанням прикладних програм: OriginLab Origin® Pro 9.1 та Statsoft Statistica® 10.

Результати та їх обговорення. Патогенез стеатогепатозу за умов розвитку ожиріння через неонатальне введення ГН є одним з випадків нейро-ендокринного порушення обмінних процесів (Rolo A.P., 2012). В результаті проведених досліджень встановлено, що через 4 місяці після неонатального введення ГН маса щурів була на 35,0% ($p < 0,05$) більшою за масу щурів в контрольній групі (табл. 1). При цьому щури після неонатального введення ГН відставали в рості і назо-анальна довжина була на 18,1% ($p < 0,05$) меншою від контролю.

Таблиця 1

Антропометричні показники у щурів віком 16 тижнів після введення ГН в ранньому неонатальному періоді та корекції мультипробіотиком, M+m, n=15

Показники	Контрольна група щури віком 16 тижнів	Щури віком 16 тижнів після неонатального введення глутамату натрію	Щури віком 16 тижнів після неонатального введення глутамату натрію та на фоні періодичного введення мультипробіотика
Маса щурів, г	250,20±26,00	338,3±26,2*	288,80±20,40#
Назо-анальна довжина, см	23,20±1,40	19,0±1,2*	22,00±1,11#
Індекс Лі, г ^{1/3} /см	0,27±0,03	0,37±0,03***	0,30±0,01##
Маса вісцерального жиру, г	2,50±0,40	17,8±1,6***	7,01±0,81***/###

*** - $p < 0,001$ у порівнянні з контролем;

- $p < 0,001$ – у порівнянні з групою щурів після неонатального введення глутамату натрію (дослідним контролем).

Індекс Лі підтверджував розвиток ожиріння у щурів, яким в неонатальному періоді, вводили ГН (табл. 1). У щурів контрольної групи дорівнював $0,27 \pm 0,03$, а через 16 тижнів після неонатального введення ГН він зростав до $0,37 \pm 0,03$ ($p < 0,001$ у порівнянні з контролем). У 4-х місячних щурів після неонатального введення ГН маса вісцерального жиру зростала на 612,0% ($p < 0,001$) у порівнянні з контролем. Періодичне введення мультипробіотика щурам, яким в неонатальному періоді вводили ГН, запобігало розвитку ожиріння (табл. 1). Маса тіла щурів і їх назо-анальна довжина знижувалися до рівня контролю. Суттєво зменшувався індекс Лі. І хоча останній не повертався до рівня контролю, він вкладався в межі до 0,30, що свідчать про відсутність ожиріння. Також періодичне введення мультипробіотика щурам, яким в неонатальному періоді вводили ГН, приводило до меншого накопичення вісцерального жиру при досягненні щурами 4-х місячного віку. Його маса зменшувалась на 60,6% ($p < 0,001$), проте рівня контролю не досягала. Харчова поведінка у щурів після неонатального введення ГН та у щурів після неонатального введення ГН на фоні періодичного введення мультипробіотика була такою ж, як і в контрольній групі. Про це свідчать дані про споживання корму.

Як видно з таблиці 2, у щурів контрольної групи стеатоз практично був відсутній. Його вираженість за 3-х бальною системою складала $0,10 \pm 0,13$ (Savcheniuk O., 2014).

Таблиця 2

Морфологічні зміни в печінці у щурів з глутамат-індукованим ожирінням на фоні періодичного введення мультипробіотика за гістологічною шкалою NAS, $M \pm SD$, $n=20$

Параметри	Контрольна група щурів	Щури після неонатального введення ГН	Щури після неонатального введення ГН на фоні періодичного введення мультипробіотика
Стеатоз, вираженість у балах (0-3)	$0,10 \pm 0,13$	$2,15 \pm 0,16^{***}$	$0,85 \pm 0,13^{***}/###$
Лобулярне запалення, вираженість у балах (0-2)	$0,0 \pm 0,0$	$0,95 \pm 0,15^{***}$	$0,10 \pm 0,06^{***}/###$
Балонна дистрофія (0-2)	$0,0 \pm 0,0$	$0,15 \pm 0,08^{***}$	$0,0 \pm 0,0###$
Загальна оцінка за гістологічною шкалою NAS у балах (0-8)	$0,10 \pm 0,13$	$3,30 \pm 0,28^{***}$	$0,95 \pm 0,15^{***}/###$
Відсоток тварин з неалкогольною жировою хворобою печінки, %	-	5,0	-

*** - $p < 0,001$ у порівнянні з контролем, ### - $p < 0,001$ у порівнянні з дослідним контролем.

У 4-х місячних щурів після неонатального введення ГН вираженість стеатозу складала $2,15 \pm 0,16$, що в 21,5 рази ($p < 0,001$) перевищувала дане значення в контролі. В групі щурів після неонатального введення ГН, яким періодично вводили мультипробіотик, вираженість стеатозу зменшувалась на 60,5% ($p < 0,001$) у порівнянні з дослідним контролем (щури після неонатального введення ГН) (табл. 2). Якщо у щурів контрольної групи лобулярне запалення в печінці було відсутнє, то у 4-х місячних щурів після неонатального введення ГН лобулярне запалення за 2-х бальною шкалою становило $0,95 \pm 0,15$. В групі щурів після неонатального введення ГН, яким періодично вводили мультипробіотик, лобулярне запалення зменшувалось на 89,5% ($p < 0,001$) у порівнянні з дослідним контролем і складало $0,10 \pm 0,06$ бала за 2-х бальною шкалою. Одержані результати узгоджуються з даними інших авторів, що у щурів після неонатального введення глутамату натрію в печінці виявили помірний централобулярний мікроезичулярний стеатоз, балонну дистрофію з тільцями Мелорі і дифузну інфільтрацію нейтрофілами та лейкоцитами (Sasaki Y., 2011). Загальна оцінка морфологічних змін у печінці за шкалою NAS (NAFLD Activity Score) у щурів контрольної групи склала $0,10 \pm 0,13$, а у щурів дослідного контролю вона дорівнювала $3,30 \pm 0,28$, що в 33 рази ($p < 0,001$) перевищувала даний показник у контрольній групі щурів. У групі щурів після неонатального введення ГН, яким періодично вводили мультипробіотик, ці зміни були суттєво меншими, а їх загальна оцінка за шкалою NAS зменшувалась до $0,95 \pm 0,15$, або на 71,2 % ($p < 0,001$) у порівнянні з контролем.

Отже, мультипробіотик «Симбітер ацидофільний» концентрований справляв виражений лікувально-профілактичний вплив на розвиток стеатозу печінки у щурів після неонатального введення ГН. Даний висновок був підтверджений ультразвуковим методом оцінки жорсткості печінки – еластографією хвилі зсуву. Якщо жорсткість печінки у щурів з глутамат-індукованим ожирінням зростала на 63,6% ($p < 0,001$), то у щурів після неонатального введення ГН, яким періодично вводили мультипробіотик, жорсткість печінки була лише на 25% ($p < 0,05$) більшою за даний показник у щурів групи контролю. Одержані результати узгоджуються з даними інших авторів, що суміш пробіотичних ліофізованих штамів *Lactobacillus casei* IMVB-7240, *Bifidobacterium animalis* VKI, *Bifidobacterium animalis* VKB, по-крайній мірі, частково попереджують розвиток глутамат-індуковане ожиріння (Savcheniuk O. A., Virchenko O. V., 2014).

Висновки. 1. Наші дослідження підтверджують раніше опубліковані дані про те, що неонатальне підшкірне введення ГН викликає ожиріння без гіперфагії, яке діагностується за високим індексом Лі і характеризується низькою масою тіла та назо-анальною довжиною.

2. Встановлено, що неонатальне введення ГН викликає метаболічні зміни у щурів віком 16 тижнів, які проявляються у непропорційному накопиченню, розвитку вісцерального ожиріння і стеатогепатозу.

3. Періодичне введення мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований щурам після неонатального введення ГН зменшує масу вісцерального жиру на 60,6% ($p < 0,001$) у порівнянні з щурами після неонатального введення ГН та справляє суттєвий профілактичний вплив на розвиток ожиріння та стеатогепатозу.

4. У групі щурів після неонатального введення ГН встановлено лобулярне запалення у печінці і балонну дистрофію гепатоцитів у порівнянні з щурами контрольної групи, де не

відзначено цих змін. Періодичне введення мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований шурам після неонатального введення ГН призводить до зменшення лобулярного запалення в печінці на 89,5% ($p < 0,001$), а балонна дистрофія при цьому не виявляється.

МАКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ ПОВІТРЯНОЇ УДАРНОЇ ХВИЛІ

М.А. Корзаченко

Європейський медичний університет

Дніпро, Україна

Актуальність: Повітряна ударна хвиля (ПУХ) - це головний фактор пошкодження під час вибуху, що може призводити до травми печінки у випадках направлення цієї хвилі в напрямку живота. Така травма є небезпечною для життя, адже високий тиск повітряної ударної хвилі, навіть без впливу додаткових факторів вибуху, може призводити до її розривів. Тому для успішної діагностики і лікування необхідні знання макроскопічних характеристик даної травми.

Мета роботи: встановити макроскопічні маркери пошкодження печінки в результаті впливу повітряної ударної хвилі.

Матеріали і методи: Статевозрілих щурів-самців ($n=12$), вагою $177,5 \pm 15,8$ г, які утримувались у стандартних умовах віварію ДДМУ, випадково розділили на 2 групи: експериментальна ($n=6$) та контрольна ($n=6$). Експериментальних тварин м'яко фіксували та розташовували животом до дульного кінця пристрою і піддавали впливу ПУХ з надлишковим тиском 25-35кПа, що відповідає легкій травмі. На 1-шу добу після відтворення травми печінку після аутопсії вилучали з черевної порожнини та проводили макроскопічний аналіз.

Результати та їх обговорення: Макроскопічний аналіз показав наявність субкапсульних гематом, поодиноких розривів паренхіми довжиною до 3 см, глибиною до 0,5 см як на діафрагмовій, так і на нутрощевій поверхнях переважно правої частки печінки, ділянки нерівномірного кровонаповнення на різних поверхнях всіх часток печінки.

Висновки: Наше дослідження показало, що печінка вкрай чутлива до впливу ПУХ, адже навіть надлишковий тиск 25-35кПа, що відповідає легкій травмі, призводить до значних розривів паренхіми печінки.

6-8 листопада 2024 року

Дніпро, Україна