

Валентина Салиховна Боташева ✉, **Мадина Аслановна Коготыжева**,
Альбина Борисовна Кубанова

Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

✉ Enver-V@list.ru

АНАЛИЗ ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКИХ, ГИСТОХИМИЧЕСКИХ, ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПЕЧЕНИ КРЫС В ДИНАМИКЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВОСПРОИЗВЕДЕННОЙ МОДЕЛИ ПЕРВИЧНОГО ГИПОТИРЕОЗА

УДК 616-091.8

Аннотация. Проведен эксперимент на 86 белых крысах-самцах линии «Вистар» с воспроизведением модели первичного гипотиреоза путем хирургического удаления щитовидных желез. Для проведения гистологического исследования отбирались кусочки печени с последующей фиксацией их в 10%-м забуференном нейтральном формалине.

Иммуногистохимический метод выявил повышение позитивной экспрессии каспазы-3 на 21–28-е сутки эксперимента и снижение экспрессии Bcl-2, начиная с 21-х суток, увеличение индекса пролиферативной активности, по данным экспрессии Ki67, на 28-е сутки, с началом ее снижения к концу 45-х суток опыта.

Ключевые слова: гипотиреоз, печень, серозный отек, дистрофия, некроз

ORIGINAL ARTICLE

Valentina Salikhovna Botasheva ✉, **Madina Aslanovna Kogotyzheva**,
Albina Borisovna Kubanova

Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

✉ Enver-V@list.ru

ANALYSIS OF PATHOHISTOLOGICAL, HISTOCHEMICAL, IMMUNOHISTOCHEMICAL CHANGES IN THE LIVER OF RATS IN DYNAMICS WITH AN EXPERIMENTALLY REPRODUCED MODEL OF PRIMARY HYPOTHYROIDISM

Abstract. An experiment was carried out on 86 white male rats of the "Wistar" line with the reproduction of a model of primary hypothyroidism by surgical removal of the thyroid glands. Pieces of the liver were selected for histological examination with their subsequent fixation in 10% buffered neutral formalin.

The immunohistochemical method showed an increase in the positive expression of caspase-3 on the twenty-first to twenty-eighth days of the experiment and a decrease in Bcl-2 expression starting from the twenty-first day, an increase in the proliferative activity index according to Ki67 expression on the twenty-eighth day, with the beginning of its decrease by the end of the forty-fifth days of experience.

Keywords: hypothyroidism, liver, serous edema, dystrophy, necrosis

Различные дисфункции эндокринных органов являлись и являются одними из ведущих в этапах формирования патологических процессов заболеваний различных органов и систем органов. Такая патофизиологическая связь характерна и для нарушения функциональной активности щитовидной железы. Гипотиреоз как синдромальное состояние, связанное со снижением тиреоидных гормонов в организме, бывает первичным, вторичным и периферическим.

Чаще встречается у лиц женского пола в возрастном диапазоне от 30 до 50 лет [1]. В популяции более распространен первичный гипотиреоз, причиной которого могут являться аутоиммунный тиреоидит, воздействие на щитовидную железу радиоактивного йода, выраженные йод-дефицитные состояния, аномалии развития самой железы, послеродовой «безболевого» тиреоидит с гипотиреозом [2]. В 76 % случаев отмечается гипотиреоз, развившийся в течение

первого года жизни после субтотальной резекции щитовидной железы [3]. Именуемый часто «великим притворщиком», гипотиреоз имеет многогранные и малоспецифичные клинические симптомы, что порой приводит в замешательство врачей-клиницистов и отсрочивает во времени постановку окончательного диагноза и назначение соответствующей терапии. Патологические состояния щитовидной железы через коррелирующие с ними изменения структуры и качества, эффективности влияния вырабатываемых ею гормонов влекут за собой метаболические структурные и функциональные расстройства повсеместно. На сегодняшний день известны следующие «маски» гипотиреоза: терапевтическая, хирургическая, гинекологическая, гематологическая, эндокринологическая, психиатрическая, неврологическая, нефрологическая, отоларингологическая, дерматологическая [4]. Не остаются без внимания и органы гепатобиллиарной системы, в частности печень. Достаточно изучены патогенетические связи тиреотоксических состояний со структурно-функциональными изменениями в печени [5, 6].

Однако литературные данные, обосновывающие и отображающие характерные специфические морфологические изменения в ткани печени при той или иной форме и разновидности гипотиреоза, малочисленны, что подтверждает факт недостаточности информации, отображающей суть этой весьма актуальной проблемы.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести комплексное гистологическое, гистохимическое и иммуногистохимическое исследование печени крыс при экспериментально воспроизведенной модели первичного послеоперационного гипотиреоза.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальная модель первичного гипотиреоза была воспроизведена на 86 животных – крысах. Отбирались лишь половозрелые здоровые крысы-самцы, с вариацией их весового диапазона от 250 до 300 г. Методом для создания первичного гипотиреоза был выбран наиболее, по нашему мнению, оптимальный – хирургический с проведением тотальной тиреоидэктомии. В процессе работы придерживались международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных. Этапы операции: 1-й этап – премедикация с последующим общим обезболиванием с применением препарата «Золител-100» в расчете 1,5 мг на 100 г массы тела животного, миолорелаксация кситазин гидрохлоридом в расчете

3 мг на 1 кг массы животного; 2-й этап – фиксация животного, обработка хирургического поля; 3-й этап – разрез кожи шеи по срединной линии, расширение раны, отодвигали мягкие ткани до четкой визуализации трахеи, отсекали единым блоком щитовидную железу; 4-й этап – гемостатические мероприятия, ушивание операционной раны, с последующей обработкой ее метиленовым синим. Выведение животных из эксперимента производили на 7, 14, 21, 28, 35, 45-е сутки. Основными этапами гистологической проводки тканевых образцов печени крыс после их фиксации в забуференном 10%-м формалине на протяжении 10 суток явились проведение кусочков опытного материала через спиртосодержащие вещества и изготовление из них в дальнейшем парафиновых блоков.

С каждого блока готовили стандартные гистологические срезы, которые окрашивали гистологическими и гистохимическими красителями (гематоксилин-эозин, пикрофуксин по Ван Гизону толуидиновый синий, судан-3, ШИК – реакция по А. Л. Шабадашу). В основе иммуногистохимического исследования лежал пероксидазно-антипероксидазный метод. Для исследования динамической степени выраженности процессов апоптоза в печени крыс и корреляции их с выраженностью клеточных пролиферативных изменений использовали основные 3 маркера – каспаза-3, Bcl-2 и Ki 67. Достоверность результатов достигали использованием +/- контролей антител. Обработку статистических данных производили с применением программ Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft, США), Statistica 6.0 (Statsoft Inc, США), использованием рангового однофакторного дисперсионного анализа Краснела – Уоллича, апостериорных критериев. Статистически значимыми изменениями считали те изменения, при которых $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе эксперимента у лабораторных крыс после тиреоидэктомии регистрировались различные микроскопические изменения в печени.

Через неделю от начала эксперимента микроскопические изменения были минимальными и проявлялись лишь в неравномерном полнокровии центральных вен, синусоидных капилляров, очаги перивазального слабо выраженного отека, фокусы стаза, сладжирования эритроцитов. Характерная дольковая структурность органа сохранена. Гепатоциты обычной формы, размеров, образуют балки, цитоплазма их эозинофильная с наличием мелкой зернистости вокруг отдельных

ядер, ядерно-цитоплазматическое соотношение в пределах нормальных значений.

К концу 2-й недели эксперимента сосудистые нарушения сохранялись, степень их выраженности возрастала: большая часть центральных вен с явлениями полнокровия, стаза, перивенулярный отек центролобулярных зон определялся повсеместно. Серозная отечная жидкость все больше скапливалась в перисинусоидальных пространствах, вокруг междольковых вен. Обнаруживались фокусы слабого разволокнения соединительной периваскулярной ткани с сохранением структурности коллагеновых волокон. В этот период появились признаки вакуольной и мелкокапельной гидропической дистрофии в цитоплазме гепатоцитов преимущественно 1-й зоны ацинусов, что повлияло на сдвиг ядерно-цитоплазматического соотношения в печеночных клетках в сторону цитоплазмы. В окрашенных толуидиновым синим соединительнотканых пучках картины метахромазии обнаружено не было.

К концу 3-й недели продолжающиеся местные гемодинамические нарушения способствовали диффузному распространению серозной отечной жидкости, захватывая перипортальную зону. Отдельные балки из гепатоцитов становятся сдавленными, происходит смещение центрально расположенного ядра. Цитоплазма печеночных клеток 3,2 ацинарных зон с картиной усиливающейся гидропической дистрофии и появлением первых гепатоцитов с баллонизацией. Перинуклеарно впервые в этот период выявляются мелкозернистые желтоватые включения липидов. При окраске суданом-3 липидные внутриклеточные включения приобретали желто-оранжевый цвет. Увеличивается число двуядерных гепатоцитов. При окраске толуидиновым синим в волокнах соединительной появляется реакция метахромазии.

На 4-й неделе эксперимента усиливаются гемодинамические нарушения: отек носит диффузный характер, увеличиваются участки разволокнения соединительнотканых волокон с набуханием основного их вещества, участками распада коллагеновых волокон. Истонченные печеночные балки местами начинают приобретать извитую конфигурацию. Усиливаются признаки белково-жировой дистрофии в виде увеличения количества гепатоцитов с гидропическими изменениями цитоплазмы, а также гепатоцитов с мелкозернистой жировой дистрофией, вовлекающие 1, 2, 3-ю зоны большинства долек. В перипортальной зоне в этот период обнаруживаются первые небольшие, неравномерно рассеянные лимфоплазматические инфильтраты.

Все чаще встречаются одиночные лимфоциты в перисинусоидальном пространстве.

К концу 5-й недели появляются гепатоциты с признаками баллонизации. Встречаются участки кариорексиса, плазморексиса – первые признаки колликвационного некроза. Отдельные гепатоциты (преимущественно 3-й зоны) с первыми мелкокапельными цитоплазматическими включениями нейтрального жира преимущественно в 3-й зоне. Усиливаются лимфоплазматические скопления.

На 45-е сутки интенсивность дистрофически-некротических изменений растет. Все большее количество гепатоцитов подвергается некробиотическим изменениям с формированием лакун, заполненных серозной жидкостью. Повсеместно встречаются регенерирующие пролиферирующие гепатоциты.

Лимфоплазматическая инфильтрация встречается повсеместно. Появляются очаги пролиферации фибробластов периферально, перипортально.

К концу 45-х суток обнаружены первые тонкие соединительнотканые септы, направляющиеся от центролобулярных зон отдельных долек к аналогичным в области тирад. При окраске на пикрофуксин по Ван Гизону эти соединительнотканые волокна приобретают красный цвет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленные опытным путем гистологические, отдельные гистохимические и иммуногистохимические изменения показали, что при экспериментально воспроизведенном первичном послеоперационном гипотиреозе в печени крыс развиваются сосудистые нарушения в виде венозного полнокровия, диффузного серозного отека, тяжелых обменно-дистрофических нарушений гепатоцитов с преобладанием белковой дистрофии над жировой, с последующим цитолизом и некротическими изменениями, влекущими за собой нарушения архитектоники органа, лимфоплазматической инфильтрацией, фокусами разрастания фиброзных волокон. Показано увеличение экспрессии каспазы-3 и снижения экспрессии маркера Bcl-2, что, в свою очередь, наиболее объективно охарактеризовало состояние системы «апоптоз-антиапоптоз» в печени при первичном гипотиреозе. На ряду с деструктивными процессами были обнаружены признаки регенерации и репарации, которые к концу 45-х суток начали исчерпываться, что отобразилось на примере снижения показателя индекса пролиферативной клеточной активности в этот период как показателя активации компенсаторных защитных клеточных механизмов.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Диагностика и лечение острого панкреатита / А. Г. Бебуришвили [и др.] // *Анналы хирург. гепатологии*. 2000. № 1. С. 65–69.
2. Национальное руководство «Эндокринология». М.: Готар Медиа, 2016.
3. Боташева В. С., Долаев А. Э. Протекторное действие антиоксидантов при тиреоидной панкреатопатии // *Вестн. СГУ*. 2011. № 3, вып. 74. С. 31–33.
4. Новиков В. И., Новиков К. Ю. Междисциплинарные аспекты синдрома гипотиреоза: диагностика и лечение // *Эффективная фармакотерапия*. 2014. № 46. С. 50–55.
5. Мельниченко Г. А. Алгоритм диагностики и лечения заболеваний щитовидной железы // *Рус. мед. журнал*. 2003. № 17. С. 751.
6. Трошина Е. А., Юкина М. Ю. Угрожающие жизни осложнения гипотиреоза // *Справ. поликлинич. врача*. 2008. № 2. С. 4–6.

REFERENCES

1. Beburishvili A. G. et al. Diagnosis and treatment of acute pancreatitis. *Annaly hirurgicheskoy gepatologii = Annals of surgical hepatology*. 2000;1:65–69. (In Russ.).
2. National manual of Endocrinology. Moscow: Gotar Media; 2016. (In Russ.)
3. Batasheva V. S., Dolayev A. Je. The Protective effect of antioxidants when the thyroid pancreatopathy. *Vestnik SGU = Bulletin of SSU*. 2011;74(3):31–33. (In Russ.).
4. Novikov V. I., Novikov K. Ju. Interdisciplinary aspects of hypothyroidism syndrome: diagnosis and treatment. *Jeftektivnaja farmakoterapija = Effective pharmacotherapy*. 2014;46:50–55. (In Russ.).
5. Melnichenko G. A. Algorithm of diagnosis and treatment of thyroid diseases. *Rus. med. Journal = Rus. med. Journal*. 2003;17:751. (In Russ.).
6. Troshina E. A., Yukina M. Yu. Life-threatening complications of hypothyroidism. *Sprav. poliklinich. vracha = Directory of a clinic doctor*. 2008;2:4–6. (In Russ.).

Информация об авторах

В. С. Боташева – доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии

М. А. Коготыжева – аспирант кафедры патологической анатомии

А. Б. Кубанова – ассистент кафедры патологической анатомии

Статья поступила в редакцию 14.10.2021;

одобрена после рецензирования 11.11.2021;

принята к публикации 12.11.2021.

Information about the authors

V. S. Botasheva – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Pathological Anatomy

M. A. Kogotyzheva – postgraduate student of the Department of Pathological Anatomy

A. B. Kubanova – Assistant of the Department of Pathological Anatomy

The article was submitted 14.10.2021;

approved after reviewing 11.11.2021;

accepted for publication 12.11.2021