

<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2023-38-1-126-132>
УДК 612.359.2:613.25.038:613.263:613.288]-092.9

Влияние высокоуглеводной высокожировой диеты на морфологию печени у молодых и старых крыс

Л.Р. Мустафина¹, С.В. Логвинов^{1,2}, Л.И. Богданова¹, Б.К. Курбатов²

¹ Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Российская Федерация, Томск, Московский тракт, 2

² Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634012, Российская Федерация, Томск, ул. Киевская, 111а

Аннотация

Печень является сложным метаболическим органом, который посредством регуляции энергетического обмена обеспечивает поддержание гомеостаза всего организма.

Цель исследования: установить морфологические изменения гепатоцитов и экспрессию фактора роста эндотелия сосудов при высокоуглеводной высокожировой диете (ВУВЖД) в зависимости от возраста.

Материал и методы. Проведено гистологическое исследование печени в четырех группах крыс-самцов линии Вистар: группа 1 – 5-месячные животные, содержащиеся на стандартном рационе; группа 2 – 5-месячные, содержащиеся на ВУВЖД в течение 90 сут (с 2-месячного возраста); группа 3 – 18-месячные, содержащиеся на стандартном рационе; группа 4 – 18-месячные, содержащиеся на ВУВЖД в течение 90 сут (с 15-месячного возраста). С помощью морфометрических методов определяли удельные объемы (%) неизмененных и двуядерных гепатоцитов, синусоидных капилляров, воспалительных инфильтратов и очагов фиброза в печени. Иммуногистохимическим методом оценивали экспрессию VEGF в эндотелиальных клетках и в гепатоцитах. Ферментативным колориметрическим методом в сыворотке крови и в печени определяли концентрацию холестерина и триглицеридов.

Результаты. Морфологическое исследование выявило значительное расширение синусоидных капилляров в группах 2 и 4. Статистически значимое увеличение удельных объемов гепатоцитов с вакуолярными включениями, двуядерных гепатоцитов, фиброзных очагов и мелких воспалительных инфильтратов было установлено в группе 4. Экспрессия VEGF возрастала в гепатоцитах групп 2 и 4. Биохимическое исследование выявило увеличение концентрации триглицеридов в печени крыс группы 4. Таким образом, ВУВЖД, несмотря на выраженные признаки регенерации, усугубляла возрастные изменения в печени старых крыс.

Ключевые слова:	возрастные изменения печени, высокоуглеводная высокожировая диета, эндотелиальный сосудистый фактор, неалкогольная жировая болезнь печени.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Прозрачность финансовой деятельности:	исследование не имело финансовой поддержки.
Соответствие принципам этики:	исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 201 от 30.07.2020 г.).
Для цитирования:	Мустафина Л.Р., Логвинов С.В., Богданова Л.И., Курбатов Б.К. Влияние высокоуглеводной высокожировой диеты на морфологию печени у молодых и старых крыс. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2023;38(1):126–132. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2023-38-1-126-132 .

Effects of a high-carbohydrate high-fat diet on liver morphology in young and old rats

Liliya R. Mustafina¹, Sergey V. Logvinov^{1,2}, Liliya I. Bogdanova¹,
Boris K. Kurbatov²

¹ Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation,
2, Moskovsky tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russian Federation

Abstract

The liver is a complex metabolic organ that, through the regulation of energy metabolism, maintains the homeostasis of the whole organism.

Aim: To establish the morphological changes in hepatocytes and the expression of endothelial vascular factor in a high-carbohydrate high-fat diet (HCHFD) depending on age.

Material and Methods. A histological study of the liver was carried out in four groups of male Wistar rats: 1st group – 5-month-old animals on a standard diet; 2nd group – 5-month-old animals on HCHFD for 90 days (from 2 months of age); 3rd group – 18-month-old animals on a standard diet; 4th group – 18-month-old animals on HCHFD for 90 days (from 15 months of age). Using morphometric methods, the specific volumes (%) of unchanged and binuclear hepatocytes, sinusoidal capillaries, inflammatory infiltrates, and foci of fibrosis in the liver were determined. The expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in endothelial cells and hepatocytes was evaluated by immunohistochemical method. The concentration of cholesterol and triglycerides was determined by the enzymatic colorimetric method in the blood serum and in the liver.

Results. A morphological study revealed a significant expansion of sinusoidal capillaries in groups 2 and 4. A statistically significant increase in the specific volume of hepatocytes with vacuolar inclusions, binuclear hepatocytes, fibrous foci and small inflammatory infiltrates was detected in the 4th group. VEGF expression increased in hepatocytes of groups 2 and 4. Biochemical study found an increase in the concentration of triglycerides in the rats' liver of the 4th group. Thus, HCHFD, despite the pronounced signs of regeneration, increased age-related changes in the liver of old rats.

Keywords:	age-related changes in the liver, high-carbohydrate high-fat diet, endothelial vascular growth factor, non-alcoholic fatty liver disease.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest
Financial disclosure:	the study did not have financial support
Adherence for ethical standards:	compliance with ethical principles. The study was approved by the local ethical committee of the Research Institute of Cardiology, Tomsk NIMTs (Protocol No. 201 dated July 30, 2020).
For citation:	Mustafina L.R., Logvinov S.V., Bogdanova L.I., Kurbatov B.K. Effects of a high-carbohydrate high-fat diet on liver morphology in young and old rats. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2023;38(1):126–132. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2023-38-1-126-132 .

Введение

Так называемая «фаст-фуд диета» («диета кафетерия», «западная диета»), ставшая популярной в последние десятилетия, включает большое количество натрия [1, 2], насыщенных жиров, трансжиров и быстроусваиваемых углеводов [1]. Такие продукты быстро насыщают, они относительно дешевы, но при регулярном их употреблении приводят к ожирению, развитию метаболических нарушений, вызывая серьезные проблемы со здоровьем [3]. Печень играет центральную роль в регулировании системного ответа на питание, поэтому возрастные изменения в печени могут иметь существенные системные эффекты [4, 5]. При этом страдают практически все жизненно важные органы: сердце, сетчатка, почки и т. д. Поражение печени при высоким употреблении жиров и сахара приводит к накоплению липидов в гепатоцитах, развитию стеатоза, инсулинорезистентности, а в последующем к циррозу и раку печени [6].

Цель исследования: установить морфологические изменения гепатоцитов и экспрессию фактора роста эндотелия сосудов при высокоуглеводной высокожировой диете (ВУВЖД) в зависимости от возраста.

Материал и методы

Исследование проводили на крысах-самцах линии Вистар в возрасте 60 и 450 дней. Все процедуры соответствовали Директиве Европейского парламента 2010/63/EU и заявлению FASEB о принципах использования животных в исследованиях и образовании (исследование одобрено этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ, протокол № 201 от 30.07.2020 г.).

Экспериментальные группы формировали следующим образом: группа 1 ($n = 14$) – интактные 5-месячные крысы, содержавшиеся на стандартном рационе; группа 2 ($n = 14$) – 5-месячные крысы, с 2-месячного возраста в течение 90 сут содержавшиеся на ВУВЖД (16% белков,

21% жиров, 46% углеводов, в том числе 17% фруктозы, 0,125% холестерина); группа 3 ($n = 14$) – интактные 18-месячные крысы, содержавшиеся на стандартном рационе; группа 4 ($n = 14$) – 18-месячные крысы, с 15-месячного возраста в течение 90 сут содержавшиеся на ВУВЖД. Воду заменяли 20%-м раствором фруктозы. Крысам групп 1 и 3 (интактным животным) давали стандартный корм для грызунов (белки 24%, жиры 6%, углеводы 44%) и чистую воду *ad libitum*.

Из эксперимента животных выводили путем декапитации с предварительной анестезией хлоралозой (100 мг/кг внутривенно). Перед декапитацией забирали образцы крови, которые центрифугировали (15 мин 3000 об/мин), образцы сыворотки хранили в морозильной камере при -70°C . Концентрацию холестерина и триглицеридов в биоптате печени определяли ферментативным колориметрическим методом (наборы «Вектор-бест», Россия). Для гистологического исследования образцы печени фиксировали в 10%-м растворе забуференного формалина (ООО «БиоВитрум», Россия) и заливали в парафин по стандартной методике. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, гематоксилином и пикрофуксином по Ван Гизону, проводили ШИК-реакцию (все красители от ООО «БиоВитрум», Россия). Иммуногистохимическую реакцию проводили с использованием моноклональных антител к фактору роста эндотелия сосудов (Vascular endothelial growth factor, VEGF), согласно протоколу фирмы производителя (Abcam, США). Просмотр и фотографирование микропрепаратов осуществляли на световом микроскопе «Axiostar plus» (Carl Zeiss, Германия) при увеличении в 400 и 1000 раз. Морфометрический анализ осуществляли с помощью сетки Автандилова. При увеличении в 400 раз подсчитывали удельные объемы (%) неизмененных и двуядерных гепатоцитов, синусоидных капилляров, фиброзных изменений. Количество VEGF-позитивных клеток оценивали в 1 мм² среза.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы STATISTICA 13.0 (StatSoft Inc., США). Полученные количественные данные проверяли на согласие распределения с нормальным законом с помощью критерия Шапиро – Уилка. Данные, соответствовавшие нормальному распределению, представляли в виде среднего и стандартной ошибки ($M \pm SEM$); при распределении, отличающемся от нормального, – в виде медианы и межквартильного интервала ($Me (Q_1; Q_3)$). Проверку на гомогенность дисперсий в группах проводили с использованием критерия Левене. При сравнении нескольких независимых, нормально распределенных выборок количественных данных использовали однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) с последующим применением критерия Стьюдента с поправками Бонферрони для апостериорных сравнений или непараметрический критерий Краскела – Уоллиса – для сравнения показателей в группах 1–4 и критерий Манна – Уитни – для попарных апостериорных межгрупповых сравнений показателей, распределение которых отличалось от нормального. За пороговое значение уровня значимости p принимали 0,05.

Результаты

Гистологическое исследование печени интактной группы 1 установило типичное балочное строение долек (рис. 1а), с умеренно полнокровными синусоидными капиллярами и сосудами портальных трактов, а также

центральных вен. Гепатоциты группы 1 содержали, как правило, одно ядро с хорошо заметным ядрышком. Цитоплазма клеток содержала равномерно распределенные гранулы гликогена, что выявлялось при постановке ШИК-реакции (рис. 1б).

В группе 2 наблюдались единичные мелкие очаги лимфо-моноцитарных инфильтратов, расположенных, как правило, в перисинусоидальном пространстве (рис. 1с). Центральные вены долек отличались полнокровием, периферические синусоиды – заметным расширением просвета. Гепатоциты в гранулярной цитоплазме содержали по одному ядру, встречались единичные двуядерные клетки.

В группе 3 отмечалось умеренное полнокровие сосудов портальных трактов, неравномерно выраженное полнокровие центральных вен и синусоидальных капилляров периферических зон. При этом ширина просвета синусоидов оставалась обычной. Вокруг центральных вен наблюдались прослойки соединительной ткани.

Гепатоциты сохраняли зернистую цитоплазму за счет накопления в ней гранул гликогена (рис. 1д), содержали чаще одно ядро с одним или двумя ядрышками, встречались также единичные двуядерные клетки. Небольшая доля гепатоцитов подвергалась деструктивным изменениям, содержала пикнотичные ядра в светлой гомогенной цитоплазме, изредка обнаруживались мелкие прозрачные вакуоли, которые могли появиться из-за развития дистрофических изменений гепатоцитов. Подобная морфологическая картина характерна либо для гидропической (вакуолярной), либо для жировой дистрофии [7, 8]. При окраске криостатных срезов печени суданом черным В лишь в единичных клетках выявлялись мелкие капли жира (рис. 1е).

В срезах печени группы 4 наблюдались существенные морфологические изменения со стороны сосудистого русла: синусоидные капилляры характеризовались значительным расширением и полнокровием, особенно выраженным в периферических и частично в промежуточных зонах печеночных ацинусов (рис. 1ф). В венозных сосудах портальных трактов и в центральных венах часто отмечались признаки лейкостаза. Разрастание довольно широких прослоек соединительной ткани выявлялось как периферически, так и вокруг триад (рис. 1г). В печеночной паренхиме, а также в периферической зоне и перипортально встречались очаги лимфо-моноцитарной инфильтрации. В цитоплазме гепатоцитов у крыс группы 4 обнаруживались многочисленные вакуоли разной степени выраженности: в единичных клетках ядра подвергались пикнозу, а цитоплазма полностью была выполнена крупными вакуолями (рис. 1h). Некоторая часть гепатоцитов вокруг портальных трактов уменьшалась в размерах, имела гомогенную темную цитоплазму и сморщенное ядро. При этом довольно часто встречались и двуядерные гепатоциты с гранулами гликогена в цитоплазме.

При количественном исследовании наиболее значимые изменения печеночной ткани отмечались в группах 2 и 4 (табл. 1).

Удельные объемы гепатоцитов, содержащих в цитоплазме вакуолярные включения, были наиболее выражены в группе 4 и значимо превышали показатели других исследованных групп. Гидропическая дистрофия чаще наблюдается при нарушении белкового метаболизма в печени в результате вирусного воздействия или кратковременной гипертермии [7].

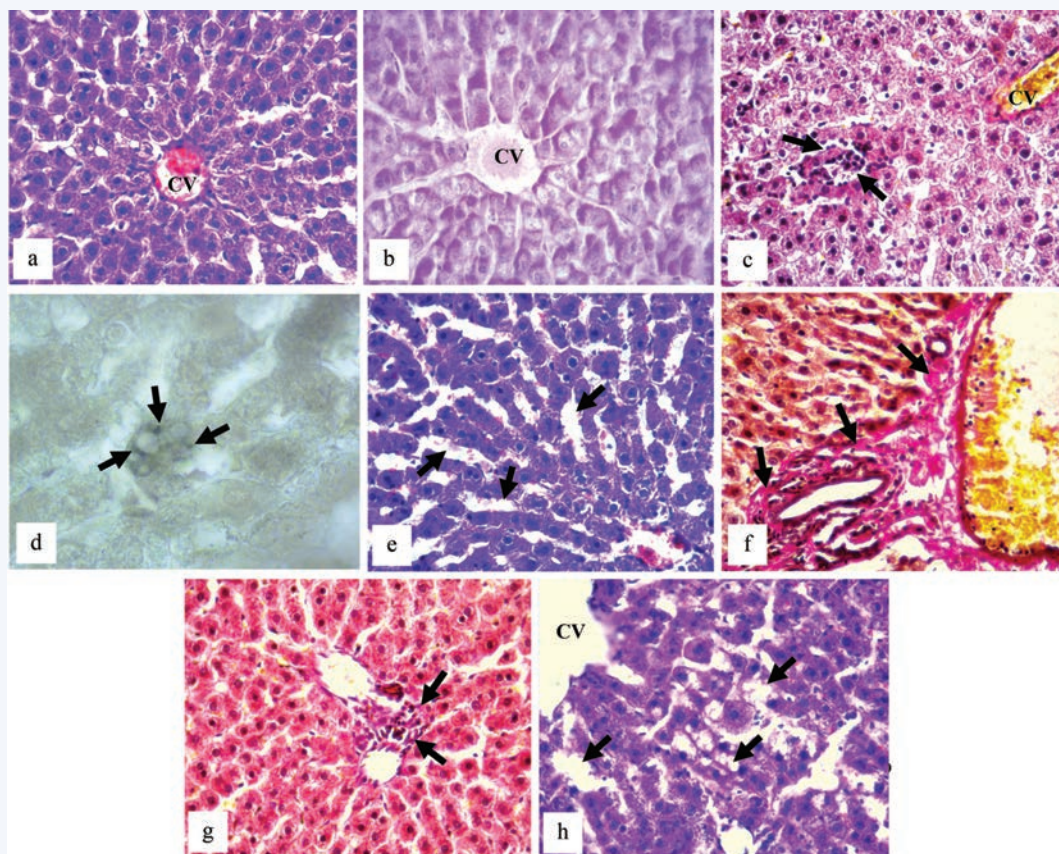


Рис. 1. Гистологические изменения печени крыс, связанные с высокоуглеводной высокожировой диетой (ЦВ – центральная вена): а – обычное строение печени, группа 1, б – равномерное распределение гранул гликогена в цитоплазме гепатоцитов, группа 1, с – мелкоочаговая лимфо-моноцитарная инфильтрация паренхимы печени, группа 2, д – мелкие липидные капли рядом с крупными судан-негативными вакуолями в цитоплазме гепатоцита (стрелки), группа 3, е – расширение синусоидальных капилляров (стрелки), группа 4, ф – мелкоочаговая лимфо-моноцитарная инфильтрация вокруг портального тракта, группа 3, г – выраженные фиброзные изменения вокруг портального тракта (стрелки), группа 4, h – мелкие и крупные вакуоли в цитоплазме гепатоцитов (стрелки), группа 4. Окраска: а, е, h – гематоксилином и эозином; б – ШИК-реакция и гематоксин; д – суданом черным В; с, ф, г – по Ван Гизону. Увеличение: а, б, с, е, ф, г, h – $\times 400$; д – $\times 1000$

Fig. 1. Histological changes in the liver of rats associated with a high-carbohydrate high-fat diet (CV – central vein): a – normal structure of the liver, group 1, b – equal distribution of glycogen granules in the cytoplasm of hepatocytes, group 1, c – small focal lympho-monocytic infiltration of the liver parenchyma, group 2, d – small lipid droplets next to large Sudan-negative vacuoles in the cytoplasm of hepatocytes (arrows), group 3, e – expansion of sinusoidal capillaries (arrows), group 4, f – small focal lympho-monocytic infiltration around the portal tract, group 3, g – fibrous changes around the portal tract (arrows), group 4, h – small and large vacuoles in the cytoplasm of hepatocytes (arrows), group 4. Staining: a, e, h – with hematoxylin and eosin; b – PAS-reaction and hematoxylin; d – Sudan black B; c, f, g – stain by Van Gieson. Magnification: a, b, c, e, f, g, h – $\times 400$; d – $\times 1000$

Таблица 1. Удельные объемы различных структур печеночной ткани в норме и после высокоуглеводной высокожировой диеты ($Me (Q_1-Q_3)$), %

Table 1. Specific volumes of various structures of the liver tissue in the norm and after the high-carbohydrate high-fat diet ($Me (Q_1-Q_3)$), %

Группы Groups Показатели, % Indicators, %	Крысы 5 мес. без ВУВЖД 5-month-old rats without HCHFD	Крысы 5 мес. на ВУВЖД 5-month-old rats at HCHFD	Крысы 18 мес. без ВУВЖД 18-month-old rats with- out HCHFD	Крысы 18 мес. на ВУВЖД 18-month-old rats at HCHFD
	Группа 1 Group 1	Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4
Гепатоциты с вакуолями в цитоплазме Hepatocytes with vacuoles in the cytoplasm	0,00 ⁴	0,15 ⁴ (0,00–0,15)	0,46 ⁴ (0,15–0,46)	3,57 ^{1,2,3} (2,38–4,76)
Двуядерные гепатоциты Binuclear hepatocytes	9,52 (4,76–14,29)	7,14 ⁴ (4,76–10,71)	5,95 (5,95–11,90)	11,90 ² (5,52–14,29)
Синусоидные капилляры Sinusoidal capillaries	16,67 ² (11,90–21,43)	26,19 ¹ (23,81–30,95)	14,29 ⁴ (14,29–26,19)	30,95 ³ (23,81–38,10)
Очаги фиброза (периваскулярные) Foci of fibrosis (perivascular)	2,38 ³ (2,38–2,38)	2,38 ⁴ (2,38–2,38)	3,57 ¹ (3,57–9,52)	9,52 ² (5,95–25,00)
Очаги клеточной инфильтрации Foci of cellular infiltration	0,00 ⁴	0,01 ⁴ (0,00–0,01)	0,03 ⁴ (0,00–0,03)	2,38 ^{1,2,3} (2,38–2,38)

Примечание: ВУВЖД – высокоуглеводная высокожировая диета, ¹ – статистическая значимость различий по сравнению с группой 1, ² – по сравнению с группой 2, ³ – по сравнению с группой 3; ⁴ – по сравнению с группой 4 при $p \leq 0,05$.

Note: HCHFD - high-carbohydrate high-fat diet, 1 – statistical significance of differences in comparison with the 1st group; 2 – compared with the 2nd group; 3 – compared with the 3rd group; 4 – compared with the 4th group at $p \leq 0.05$.

Жировая дистрофия может быть реакцией печени на различные токсические воздействия, метаболический синдром или может отражать возрастные изменения печени. Так, в экспериментах на стареющих мышах накопление липидных капель в цитоплазме гепатоцитов связывалось авторами с возрастным уменьшением синтеза сосудорасширяющих факторов и провоспалительным состоянием [8].

Удельные объемы двуядерных гепатоцитов значительно повышались в группе 4, где также выявлялись клетки, подверженные вакуольной дистрофии (см. табл. 1). Это свидетельствует о высокой регенераторной способности печени, несмотря на выраженные дистрофические явления в гепатоцитах на фоне ВУВЖД. Известно, что площадь гепатоцитов резко увеличивается во время регенерации [9]. Показано также, что при старении печени естественным образом уменьшается количество одноядерных гепатоцитов с обычными ядрами из-за снижения скорости синтеза и репарации ДНК, что сопровождается увеличением количества полиплоидных гепатоцитов [4].

Оценка фиброзных изменений установила статистически значимое разрастание соединительной ткани вокруг сосудов у интактных крыс с увеличением их возраста (см. табл. 1), тогда как у животных, находящихся на ВУВЖД, склерозу подвергались большие объемы печеночной стромы, их показатели в группе 4 увеличивались в четыре раза по сравнению с таковыми в группе 3. Среди показателей, отражающих удельные объемы кле-

точной инфильтрации, преобладали значения в группе 4. Ключевым фактором, способствующим возникновению и прогрессированию фиброза печени, является гипоксия, в свою очередь фиброз печени может еще больше усугубить степень гипоксии [10].

Значимое увеличение удельных объемов клеточной инфильтрации в группе 4 могло быть связано как с процессом старения крыс, так и с метаболическими нарушениями, вызванными назначением ВУВЖД (см. табл. 1), что не противоречит данным других исследователей. Так, при исследовании естественного старения у крыс было отмечено увеличение набора провоспалительных клеток с сопутствующим увеличением маркеров воспаления, что способствовало умеренно выраженному воспалительному процессу в печени [8].

Удельные объемы синусоидных капилляров после назначения ВУВЖД увеличивались в 1,5 раза у молодых (группа 2) и вдвое у старых крыс (группа 4) по сравнению с животными, содержащимися на обычном пищевом рационе (см. табл. 1). Полученные результаты свидетельствуют о нарушении венозного оттока из печеночной доли, что описано другими исследователями при изучении печени у стареющих крыс [8]. Очевидно, что назначение ВУВЖД усугубляет выявленные изменения.

Проведение иммуногистохимического исследования для выявления экспрессии VEGF позволило заметить некоторую тенденцию к ее увеличению в эндотелиальных клетках сосудов у старых крыс в группах 3 и 4 (рис. 2а, б).

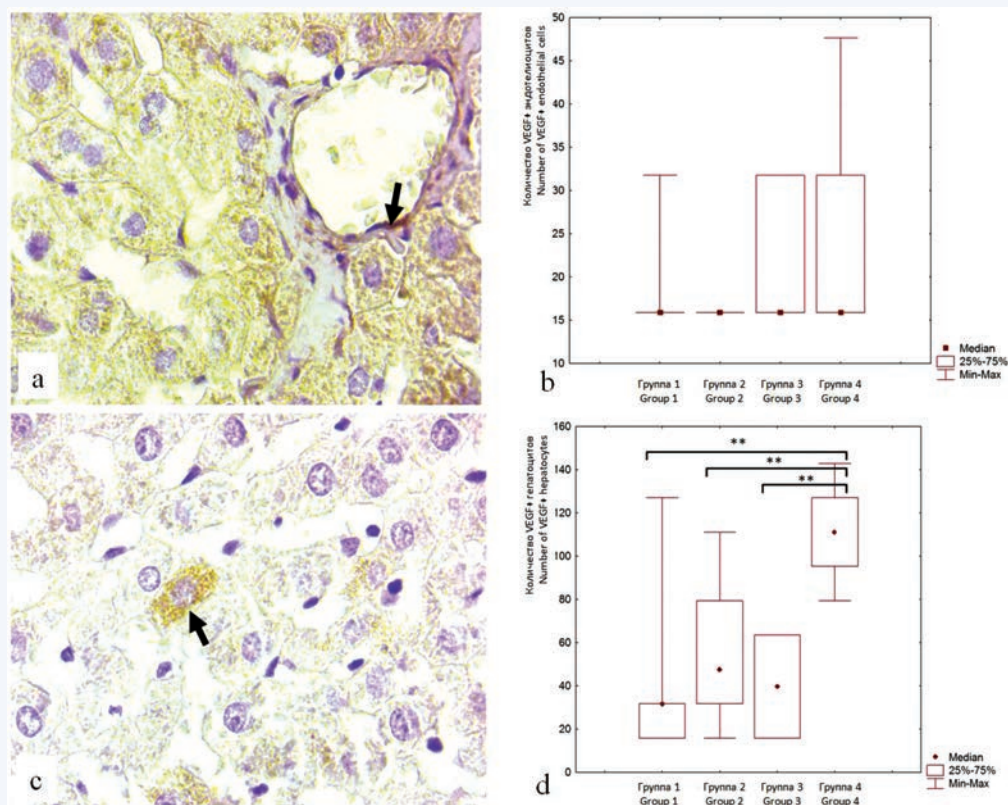


Рис. 2. Экспрессия VEGF в печени крыс: а – VEGF-позитивный эндотелиоцит, группа 4 (стрелка), б – количественное содержание VEGF-позитивных эндотелиоцитов в 1 мм², с – выраженная экспрессия VEGF в цитоплазме гепатоцита, группа 4 (стрелка), д – количественное содержание VEGF-позитивных гепатоцитов в 1 мм². ** – обозначены отличия между группами. а, с – иммуногистохимическое окрашивание моноклональными антителами к VEGF, гематоксилин. Увеличение × 1000

Fig. 2. VEGF expression in the liver of rats: а – VEGF-positive endothelial cells (arrow), group 4, б – quantitative content of VEGF-positive endothelial cells in 1 mm², с – VEGF-positive expression in the hepatocyte cytoplasm (arrow), group 4, д – quantitative content of VEGF-positive hepatocytes per 1 mm², ** – differences between groups are indicated. а, с – immunohistochemical staining with monoclonal antibodies to VEGF, hematoxylin. Magnification × 1000

Note: VEGF – vascular endothelial growth factor.

Эндотелиальные клетки, выстилающие печеночные синусоиды, выполняют ряд важных физиологических функций, включая содействие двунаправленному переносу субстратов между кровью и гепатоцитами, эндоцитоз циркулирующих белков, регуляцию иммунотолерантности и поддержание синусоидального микроокружения [4]. С возрастом происходят существенные изменения в структуре и функции эндотелиальных клеток, которые влияют как на нормальное функционирование печени, так и на системный риск кардиометаболических заболеваний [11].

При исследовании экспрессии VEGF в эндотелиальных клетках у грызунов зрелого и старческого возраста после экспериментальной резекции 70% печени с целью оценки степени ее регенерации была выявлена более низкая экспрессия VEGF у старых животных с меньшим количеством фенестр в эндотелии сосудов [12]. Существуют также литературные данные, согласно которым никаких изменений в экспрессии VEGF в эндотелиоцитах с возрастом не наблюдается [13].

Хотя эффекты VEGF изучаются в основном в контексте физиологии сосудов, они не ограничиваются только эндотелиальными клетками. К настоящему времени выявлено несколько типов клеток (макрофаги, нейтрофилы, перитциты, холангиоциты, гепатоциты), активно экспресси-

рующих VEGF при возникновении гипоксии и участвующих в репаративных процессах в печени [14]. В проведенном нами исследовании экспрессия VEGF в гепатоцитах значительно возрастала в группе 4 и проявляла явную тенденцию к увеличению в группе 2, что указывает на повреждающее влияние назначения ВУВЖД на гепатоциты (рис. 2с, d). Согласно литературным данным, гепатоциты контролируют рост и восстановление печени после повреждения посредством высвобождения различных факторов роста, в частности VEGF [4, 15–17]. Так, в исследовании экспериментального фиброза и цирроза была установлена повышенная экспрессия VEGF в гепатоцитах, которые находились в состоянии регенерации [17]. Таким образом, полученные нами результаты еще раз подтверждают активную регенерацию печени у крыс, находившихся на ВУВЖД. Кроме того, VEGF также связан с генерацией патологического ответа, что вызывает прогрессирующее накопление компонентов внеклеточного матрикса и образование новой фиброваскулярной стромы [14], которая выявлялась в гистологической картине печени у старых крыс после назначения ВУВЖД (группа 4).

Биохимическое исследование биоптатов печени не выявило отличий в концентрации триглицеридов и холестерина между сравниваемыми группами (табл. 2).

Таблица 2. Концентрация триглицеридов и холестерина в биоптате печени белых крыс, $M \pm SEM$

Table 2. The concentration of triglycerides and cholesterol in the liver biopsy of albino rats, $M \pm SEM$

Группы Groups Показатели Indicators	Крысы 5 мес. без ВУВЖД 5-month-old rats without HCHFD Группа 1 Group 1	Крысы 5 мес. на ВУВЖД 5-month-old rats at HCHFD Группа 2 Group 2	Крысы 18 мес. без ВУВЖД 18-month-old rats without HCHFD Группа 3 Group 3	Крысы 18 мес. на ВУВЖД 18-month-old rats at HCHCD Группа 4 Group 4
Триглицериды, мг/г Triglycerides, mg/g	8,4 ± 0,4	19,2 ± 2,2 ¹	12,9 ± 0,9	21,3 ± 3,8 ^{1, 3}
Холестерин, мг/г Cholesterol, mg/g	15,59 ± 0,3	18,0 ± 1,4	15,1 ± 0,4	17,3 ± 1,1

Примечание: ВУВЖД – высокоуглеводная высокожировая диета, ¹ – значимость различий по сравнению с группой 1, ² – по сравнению с группой 2, ³ – по сравнению с группой 3, ⁴ – по сравнению с группой 4, при $p \leq 0,05$.

Note: HCHFD - high-carbohydrate high-fat diet, 1 – statistical significance of differences in comparison with the 1st group; 2 – compared with the 2nd group; 3 – compared with the 3rd group; 4 – compared with the 4th group, at $p \leq 0.05$

Исследование аналогичных показателей в печени крыс позволило установить увеличение концентрации триглицеридов более чем вдвое в группе 2 и в полтора раза в группе 4 по сравнению с показателями крыс в группах 1 и 3 (см. табл. 2). Концентрация холестерина в печени у животных всех исследованных групп не изменялась.

Полученные биохимические данные не противоречат таковым, представленным в литературных источниках. Так, экспериментальное назначение свиньям диеты с высоким содержанием жиров приводило к нарушениям липидного обмена, накоплению липидов в печени (более высокие концентрации холестерина и триглицеридов), нарушению функции печени (более высокие уровни АЛТ и АСТ в сыворотке крови), окислительному стрессу и, как следствие, повышению уровня перекисного окисления

липидов, что связывалось с апоптозом гепатоцитов и, по мнению исследователей, соответствовало клиническими симптомам неалкогольной жировой болезни печени человека [18].

Заключение

Полученные в настоящем исследовании результаты свидетельствуют не только о возрастных изменениях функции печени, но также и о ее нарушениях при назначении ВУВЖД, что вызывает значительное повреждение как стромы, так и паренхимы печени, способствуя развитию дистрофических, фиброзных и воспалительных изменений. Менее выраженные морфологические изменения печени после назначения ВУВЖД молодым крысам, вероятно, связаны с ее высокой регенераторной способностью.

Литература / References

1. Tapsell L.C., Neale E.P., Satija A., Hu F.B. Foods, Nutrients, and dietary patterns: interconnections and implications for dietary guidelines. *Adv. Nutr.* 2016;7(3):445–454. DOI: 10.3945/an.115.011718.
2. GBD 2017 Diet Collaborators. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet.* 2019;393(10184):1958–1972. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)30041-8.
3. Elizabeth L., Machado P., Zinöcker M., Baker P., Lawrence M. Ul-

- tra-processed foods and health outcomes: A narrative review. *Nutrients*. 2020;12(7):1955. DOI: 10.3390/nu12071955.
4. Hunt N.J., Kang S.W.S., Lockwood G.P., Le Couteur D.G., Cogger V.C. Hallmarks of aging in the liver. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2019;17:1151–1161. DOI: 10.1016/j.csbj.2019.07.021.
 5. Drożdż K., Nabrdalik K., Hajzler W., Kwiendacz H., Gumprecht J., Lip G.Y.H. Metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD), diabetes, and cardiovascular disease: associations with fructose metabolism and gut microbiota. *Nutrients*. 2021;14(1):103. DOI: 10.3390/nu14010103.
 6. Ipsen D.H., Lykkesfeldt J., Tveden-Nyborg P. Molecular mechanisms of hepatic lipid accumulation in non-alcoholic fatty liver disease. *Cell. Mol. Life Sci.* 2018;75(18):3313–3327. DOI: 10.1007/s00018-018-2860-6.
 7. Vlad M., Ionescu N., Ispas A.T., Giuvărășteanu I., Ungureanu E., Stoica C. Morphological changes during acute experimental short-term hyperthermia. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 2010;51(4):739–744.
 8. Maeso-Díaz R., Ortega-Ribera M., Fernández-Iglesias A., Hide D., Muñoz L., Hessheimer A.J. et al. Effects of aging on liver microcirculatory function and sinusoidal phenotype. *Aging Cell.* 2018;17(6):e12829. DOI: 10.1111/acer.12829.
 9. Miyaoka Y., Ebato K., Kato H., Arakawa S., Shimizu S., Miyajima A. Hypertrophy and unconventional cell division of hepatocytes underlie liver regeneration. *Curr. Biol.* 2012;22(13):1166–1175. DOI: 10.1016/j.cub.2012.05.016.
 10. Cai J., Hu M., Chen Z., Ling Z. The roles and mechanisms of hypoxia in liver fibrosis. *J. Transl. Med.* 2021;19(1):186. DOI: 10.1186/s12967-021-02854-x.
 11. Le Couteur D.G., Lakatta E.G. A vascular theory of aging. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2010;65(10):1025–1027. DOI: 10.1093/geronol/g1q135.
 12. Wang W.L., Zheng X.L., Li Q.S., Liu W.Y., Hu L.S., Sha H.C. et al. The effect of aging on VEGF/VEGFR2 signal pathway genes expression in rat liver sinusoidal endothelial cell. *Mol. Cell. Biochem.* 2021;476(1):269–277. DOI: 10.1007/s11010-020-03903-7.
 13. Cheluvappa R., Hilmer S.N., Kwun S.Y., Jamieson H.A., O'Reilly J.N., Muller M. et al. The effect of old age on liver oxygenation and the hepatic expression of VEGF and VEGFR2. *Exp. Gerontol.* 2007;42(10):1012–1019. DOI: 10.1016/j.exger.2007.06.001.
 14. Mariotti V., Fiorotto R., Cadamuro M., Fabris L., Strazzabosco M. New insights on the role of vascular endothelial growth factor in biliary pathophysiology. *JHEP Rep.* 2021;3(3):100251. DOI: 10.1016/j.jhepr.2021.100251.
 15. Adas G., Koc B., Adas M., Duruksu G., Subasi C., Kemik O. et al. Effects of mesenchymal stem cells and VEGF on liver regeneration following major resection. *Langenbecks Arch. Surg.* 2016;401(5):725–740. DOI: 10.1007/s00423-016-1380-9.
 16. Kambakamba P., Linecker M., Schneider M., Kron P., Limani P., Tschur C. et al. Novel benefits of remote ischemic preconditioning through VEGF-dependent protection from resection-induced liver failure in the mouse. *Ann. Surg.* 2018;268(5):885–893. DOI: 10.1097/SLA.0000000000002891.
 17. Lee A.R., Baek S.M., Lee S.W., Kim T.U., Han J.E., Bae S. et al. Nuclear VEGFR-2 expression of hepatocytes is involved in hepatocyte proliferation and liver regeneration during chronic liver injury. *In Vivo*. 2021;35(3):1473–1483. DOI: 10.21873/in vivo.12400.
 18. Wang P., Lu Z., He M., Shi B., Lei X., Shan A. The effects of endoplasmic-reticulum-resident selenoproteins in a nonalcoholic fatty liver disease pig model induced by a high-fat diet. *Nutrients*. 2020;12(3):692. DOI: 10.3390/nu12030692.

Информация о вкладе авторов

Мустафина Л.Р. – иммуногистохимическое исследование, подготовка иллюстративного материала, морфологической части текста статьи и оформление окончательного варианта рукописи.

Логвинов С.В. – разработка концепции, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи для публикации.

Богданова Л.И. – окраска срезов, морфометрический подсчет, статистическая обработка данных.

Курбатов Б.К. – моделирование метаболического синдрома у крыс, забор и обработка биологического материала для биохимических исследований, проведение биохимических исследований, разработка концепции статистической обработки данных.

Сведения об авторах

Мустафина Лилия Рамильевна, д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0003-3526-7875.

E-mail: lmustafina@yandex.ru.

Логвинов Сергей Валентинович, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации; старший научный сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0002-9876-6957.

E-mail: s_logvinov@mail.ru.

Богданова Лилия Игоревна, студент 4-го курса, лечебный факультет, Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID 0000-0002-3540-027X.

E-mail: liybogdanovaa@gmail.com.

Курбатов Борис Константинович, младший научный сотрудник, лаборатория экспериментальной кардиологии, Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук. ORCID 0000-0001-9603-822X.

E-mail: bobersanker@gmail.com.

 **Мустафина Лилия Рамильевна**, e-mail: lmustafina@yandex.ru.

Information on author contributions

Mustafina L.R. – immunohistochemical study, preparation of illustrative material and design of the final version of the manuscript.

Logvinov S.V. – development of the concept, preparation of the morphological part of the text, substantiation of the manuscript, verification of critically intellectual content and final approval of the manuscript for publication.

Bogdanova L.I. – section staining, morphometric counting, statistical data processing.

Kurbatov B.K. – modeling of the metabolic syndrome in rats, sampling and processing of biological material for biochemical studies, conducting biochemical studies, developing the concept of statistical data processing.

Information about the authors

Liliya R. Mustafina, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor, Department of Histology, Embryology, and Cytology, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation. ORCID 0000-0003-3526-7875.

E-mail: lmustafina@yandex.ru.

Sergey V. Logvinov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Histology, Embryology, and Cytology, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; Senior Research Scientist, Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0002-9876-6957.

E-mail: s_logvinov@mail.ru.

Liliya I. Bogdanova, 4th year student, Medical Faculty, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation. ORCID 0000-0002-3540-027X.

E-mail: liybogdanovaa@gmail.com.

Boris K. Kurbatov, Junior Research Scientist, Laboratory of Experimental Cardiology, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences. ORCID 0000-0001-9603-822X.

E-mail: bobersanker@gmail.com.

 **Liliya R. Mustafina**, e-mail: lmustafina@yandex.ru.

Received January 13, 2023

Поступила 13.01.2023