



Л. Ю. Безпалько, О. М. Гаврилюк, О. С. Заячківська
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Вплив пренатального стресу та висококалорійного харчування на функціональну активність білої і бурої жирової тканини та печінки у постнатальний період (експериментальне дослідження)

Мета — вивчити особливості впливу пренатального стресу та висококалорійного харчування на функціональну активність і формування стрес-резистентності білої та бурої жирової тканини і печінки у постнатальний період.

Матеріали та методи. В експеримент залучено нелінійних гестаційних щурів-самок ($n=20$) та їх потомків-самців ($n=72$). Гестаційним самцям індукували «соціально-емоційний стрес» за N.C. Pratt і висококалорійне харчування: високовуглеводну дієту за В. В. Козаром, високожирову дієту за A. Lintermans та їх комбінований вплив. Для вивчення впливу пренатального стресу на стрес-резистентність жирової тканини (ЖТ) і печінки проводили морфофункціональні дослідження тканин білого та бурого жиру і печінки, а також визначали сироватковий рівень інтерлейкіну (ІЛ)-1 β , GRO/CINC-1, лептину та адипонектину. Для дослідження стрес-резистентності 3-місячним самцям-потомкам індукували водно-імобілізаційний стрес за K. Takagi з та без внутрішньоочеревинного введення індометацину.

Результати. Материнський стрес з комбінованою високовуглеводною та високожировою дієтою спричинив у потомків виражені патологічні зміни: запалення ЖТ і гепатоцелюлярну реорганізацію. У цій групі також виявлено значне збільшення вмісту ІЛ-1 β (на 217%), GRO/CINC-1 (на 99%) і лептину (на 79%), зниження рівня адипонектину (на 41%) порівняно з контролем. Постнатальний стрес спричинив у потомків поглиблення запальної реакції, про що свідчило подальше зростання рівня ІЛ-1 β (178%), GRO/CINC-1 (57%), лептину (34%) та зниження вмісту адипонектину (53%) порівняно з контролем. Комбінований вплив гострого стресу та індометацину зумовив у потомків поглиблення цитокінового дисбалансу: зростання рівня ІЛ-1 β (213%), GRO/CINC-1 (27%), лептину (30%) і зниження вмісту адипонектину (64%) порівняно з постнатально інтактними тваринами.

Висновки. Запропонована експериментальна модель дала змогу виявити нові аспекти функціонування та стрес-резистентності ЖТ та печінки, а також механізмів розвитку неалкогольної жирової хвороби печінки. Зазначені цитокіни можуть бути маркерами ранніх порушень морфофункціональної активності печінки і ЖТ. Здорове харчування та контроль за стресом у пренатальний період можуть бути ефективною стратегією профілактики порушень функцій ЖТ і запальних процесів у печінці та ЖТ, а також сприяти їх резистентності до стресорних чинників у дорослому житті.

Ключові слова: жирова тканина, печінка, лептин, адипонектин, харчування, запалення, ІЛ-1 β , ІЛ-8, стрес.

Дослідження функціональної активності жирової тканини (ЖТ) — одне з актуальних завдань сучасної експериментальної і клінічної гаст-

роентерології, оскільки ВООЗ визнала ожиріння та асоційовані з ним хронічні захворювання, зокрема гастроентерологічні [1, 7], неінфекційною епідемією. Численні наукові дослідження доводять, що ожиріння підвищує ризик виникнення

онкопатології, що пов'язано з розвитком лептинової та інсулінової резистентності, яка стимулює канцерогенез в осіб з надмірною масою тіла [19].

Структурно-функціональною одиницею ЖТ є адипоцити, серед яких згідно з новітніми поглядами розрізняють білі (акумуляція ліпідів та синтез адипокінів), бурі (термогенез та імунологічні властивості) та бежеві (або *brite* від *brown in white*, які мають властивості як білого, так і бурого жиру), функціональне значення яких у здорових дорослих пов'язане з утворенням енергії внаслідок метаболічних трансформацій тригліцеридів та глюкози, що привертає увагу до цих клітин, як до патогенетичних тригерів порушень обміну речовин в організмі [9, 20]. Дослідження A. Bartelt і співавт. підтверджують, що за певних умов біла ЖТ може фенотипово набувати властивостей бурого жиру, або утворюється бежева ЖТ, що викликає інтерес щодо їх потенційного лікувально-терапевтичного значення для ожиріння та асоційованих з ним захворювань [5]. Крім того, бура ЖТ є потужним активатором різноманітних автопротекторних механізмів, зокрема проліферації, клітинної диференціації, апоптозу, ліполізу, секреції факторів росту (NGF, VEGF), ангіотензину, NO, інтерлейкіну (ІЛ) 1 та ІЛ-6, адипокінів, трийодтироніну типу II тощо [16].

Згідно з новими даними, найбільш прогностично несприятливою є поява ектопічного жиру, формування депо ЖТ для тригліцеридів за межами нормальних анатомічних локалізацій. Ектопічне розташування жиру виявляють у внутрішніх органах (печінка, підшлункова залоза, серце, судини), м'язах та плаценті вагітних [13]. До захворювань, пов'язаних з нагромадженням ектопічного жиру, належить неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), для якої характерна трансформація у цироз або гепатоцелюлярну гепатокарциному. За останніх 30 років відзначено триразове збільшення її поширеності [3, 18]. Особливістю ектопічно розташованого жиру є реалізація ефекту ліпотоксичності за рахунок синтезу великої кількості гормонально активних речовин — адипокінів, які володіють різноманітними патогенетичними ефектами. Встановлено, що деякі адипокіни можна розглядати як цитоагресивні прозапальні медіатори (лептин, ІЛ-6, ФНП- α , перлілін, адипофілін), інші — як цитопротекторні речовини (адипонектин) [4].

Однак, незважаючи на значну кількість досліджень, присвячених вивченню різних аспектів функціонування ЖТ, залишається остаточно не з'ясованим питання, як впливає пренатальне програмування на адипогенез та адипокінову секрецію, а також їх функціонально-прогностичне

значення для формування стрес-резистентності у постнатальний період. Дослідження фенотипових чинників ризику у пренатальний період, під час якого закладаються всі органи, тканини і функціональні системи організму та програмується характер адаптаційно-компенсаторних реакцій різних типів ЖТ, є актуальною проблемою клінічної медицини, проте такі дослідження можливі лише в умовах експериментального моделювання на тваринах. Відомо, що незбалансоване висококалорійне харчування внаслідок надмірного надходження вуглеводів або зменшення утилізації глюкози спричиняє порушення функціонування ЖТ [10], проте досі не з'ясовано чи впливають особливості харчування і стрес-навантаження у пренатальний період на формування та функціонування ЖТ.

Мета експериментального дослідження — вивчити особливості впливу пренатального стресу та висококалорійного харчування на функціональну активність і формування стрес-резистентності білої та бурогої жирової тканини і печінки у постнатальний період.

Матеріали та методи

Серійні модельні експериментальні дослідження проведено з дотриманням положень гуманного ставлення до експериментальних тварин та з дозволу університетського комітету з біоетики (№ 4 від 11.04.2011 р.). В експеримент було залучено 92 білих нелінійних щури, з них 20 вагітних самиць, яким під час вагітності індукували «соціально-емоційний» стрес за N. C. Pratt та співавт. [11] і використовували стандартний раціон (1-ша група, або група контролю, $n = 5$). У 2-й групі ($n = 5$) у раціоні харчування переважали вуглеводи за В. В. Козаром та співавт. [2], у 3-й ($n = 5$) — ліпіди за A. Lintermans [17], у 4-й ($n = 5$) — вуглеводи та ліпіди. Решта щурів була їх потомками-самцями.

Для оцінки стрес-резистентності 3-місячним щурам-потомкам моделювали водно-імобілізаційний стрес (ВІС) за K. Takagi [14] та модифікували природну цитопротекцію шляхом введення неселективного блокатора циклооксигенази I та II — індометацину («Здоров'я народу», Харків, Україна). Кожну групу тварин розподілили на підгрупи: А — інтактні, В — ВІС із внутрішньоочередним введенням плацебо — 1,0 мл 0,9% розчину NaCl, С — ВІС з попереднім одноразовим внутрішньоочередним введенням індометацину у дозі 10 мг/кг маси тіла.

З метою виведення тварин з експерименту застосовували етаназію під загальним знеболюванням (ефірний наркоз).

Для оцінки впливу особливостей характеру харчування у пренатальний період досліджували масу тіла. Після виведення тварин з експерименту відсепаровували вісцеральний жир, відділяли мезентеріальний жир та міжлопатковий бурий жир. Для вивчення характеру розподілу ЖТ досліджували такі показники: маса печінки, загальна маса вісцерального жиру, маса бурого жиру, частка мезентеріального жиру у вісцеральній ЖТ. Для гістоморфологічного дослідження ЖТ фіксували у 10% забуференому розчині формаліну, після чого здійснювали рутинну обробку та виготовляли зрізи товщиною 4–5 мкм. Основні гістологічні зміни досліджували при забарвленні гематоксиліном та еозином. Відеоаналіз мікропрепаратів печінки та ЖТ виконано з використанням ліцензованої системи відеозапису LeicaApplicationSuitVersion 3.8.

Для достовірної оцінки морфофункціональних змін у ЖТ розроблено візуально-аналогові напівкількісні шкали:

- для білої вісцеральної ЖТ: 0 балів — білий жир без ознак альтерації, 1 бал — білий жир з незначним поліморфізмом адипоцитів, 2 бали — білий жир з вираженим поліморфізмом адипоцитів та помірною мононуклеарною інфільтрацією з домішками лейкоцитів, 3 бали — білий жир з вираженим поліморфізмом адипоцитів та значною мононуклеарною інфільтрацією з домішками лейкоцитів;

- для бурої ЖТ: 0 балів — звичайна гістологічна будова, 1 бал — бурий жир з окремими макровезикулярними адипоцитами, 2 бали — бурий жир з мікро-/макровокульною цитоплазмою та гіперемією судин, 3 бали — бурий жир з вираженою периваскулярною інфільтрацією;

- для оцінки паренхіматозних змін печінки: 0 балів — без змін, 1 бал — паренхіматозні клітини збережені, виявляються окремі гепатоцити із просвітленням цитоплазми, 2 бали — гепатоцити з нерівномірно забарвленою цитоплазмою внаслідок відмінностей у вмісті глікогену, дисконкомплексация балок, 3 бали — виражена дисконкомплексация балок унаслідок мікро/макровокульних змін гепатоцитів. Найвні поодинокі клітини з ознаками некрозу, гіперемія центральної вени;

- для оцінки судинно-стромальних змін у печінці: 0 балів — у поодиноких гепатоцитах нерівномірний розподіл глікогену у цитоплазмі клітин, 1 бал — гіперемія центральної вени та незначне розширення централобулярних синусоїдів, 2 бали — виражена дилатація та гіперемія перипортальних синусоїдів, 3 бали — гепатоцити з просвітленням цитоплазми внаслідок нерівно-

мірного нагромадження глікогену; нерівномірна дилатація синусоїдів; портальний тракт з помірно вираженою лейкоцитарною інфільтрацією.

За результатами оцінки за наведеними шкалами розраховано гістологічні індекси (ГІ) ураження для кожної групи тварин. Гістологічні індекси паренхіматозних і судинно-стромальних змін печінки сумувались.

Для оцінки вираженості запальної реакції імуноферментним аналізом (ІФА) визначали сироватковий рівень GRO/CINC-1 (аналог людського ІЛ-8 та ІЛ-1 β) за допомогою діагностичних наборів GRO/CINC-1 (rat) EIAkit (EnzoLifeSciences, Велика Британія) та ІЛ-1 β (rat), EIAkit (EnzoLifeSciences, Велика Британія), для оцінки адипокінової секреції — сироватковий рівень лептину (ЛЕ) та адипонектину (АД) з використанням діагностичних наборів Leptin (rat) (EnzoLifeSciences, Велика Британія) та Adiponectin (rat) (Adipogen, Корея).

Статистичну обробку даних проведено за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel 2010 за результатами апостеріорного тесту з порівнянням середніх показників. Різницю показників вважали вірогідною при $p < 0,05$.

Результати та обговорення

Результати масометричного аналізу виявили таку тенденцію: маса тварин у підгрупі 2А на 4% переважала таку контрольних щурів, а у підгрупах 3А і 4А — відповідно на 7 і 16%. Дані щодо розподілу жирової тканини в експериментальних тварин (табл. 1) свідчать про збільшення маси вісцерального жиру майже в 2,0 та 2,5 рази відповідно у потомків самок, які в гестаційний період мали вільний доступ до пиття розчину 30% сахарози або отримували їжу з високим вмістом жирів.

Уміст цитокінів і адипокінів у тварин підгрупи 1А прийнято за умовну норму.

У підгрупах інтактних щурів-потомків з пренатальним стресом в анамнезі рівень ІЛ-8, ІЛ-1 β та ЛЕ був вищим порівняно з групою 1А: у групі 2А — відповідно на 56, 100 та 64%, у групі 3А — на 46, 57 і 60%, у групі 4А — на 99, 217 та 79%, а вміст АД — нижчим: у групі 2А — на 36%, у групі 3А — на 32%, у групі 4А — на 41%. Схожу тенденцію спостерігали у підгрупах з постнатальним стресом в анамнезі (табл. 2).

У тканині білого жиру у підгрупах 1А (рис. 1А) та 1Б патологічних змін не виявлено, ГІ1А і ГІ1Б визначено як 0 балів. У підгрупі 1В у 25% експериментальних тварин виявлено незначні порушення мікроциркуляції, характерні для ефектів гострого стресу (рис. 1Д), ГІ1В — 0,5 бала.

Таблиця 1. Біометричні параметри тварин експериментальних груп (M ± m)

Група	Постнатальний вплив	Маса тіла, г	Маса бурого жиру, г	Маса вісцерального жиру, г	Частка мезентеріального жиру у вісцеральному, %
1А	Інтактні	194,14 ± 1,35	1,14 ± 0,38	6,57 ± 0,98	2,71 ± 0,95
1Б	ВІС + плацебо	195,13 ± 3,40	1,25 ± 0,46	5,88 ± 0,83	3,00 ± 0,76
1В	ВІС + індометацин	192,75 ± 1,39	1,25 ± 0,46	6,13 ± 0,83	2,50 ± 0,53
2А	Інтактні	201,00 ± 1,63*	1,57 ± 0,53*	14,00 ± 0,82*	3,71 ± 0,49*
2Б	ВІС + плацебо	208,50 ± 2,20	1,63 ± 0,74	13,88 ± 0,83	3,50 ± 0,53
2В	ВІС + індометацин	207,88 ± 2,17	1,88 ± 0,64	13,63 ± 0,74	3,63 ± 0,52
3А	Інтактні	211,75 ± 2,76*	2,00 ± 0,53*	14,00 ± 0,76*	2,25 ± 0,46*
3Б	ВІС + плацебо	217,29 ± 3,25	2,00 ± 0,58	14,71 ± 0,95	2,71 ± 0,76
3В	ВІС + індометацин	218,00 ± 7,35	2,13 ± 0,64	14,63 ± 0,74	2,63 ± 0,52
4А	Інтактні	225,14 ± 3,53*	2,71 ± 0,49*	15,57 ± 0,98*	3,57 ± 0,53*
4Б	ВІС + плацебо	235,00 ± 2,73	2,63 ± 0,52	15,25 ± 1,16	3,63 ± 0,52
4В	ВІС + індометацин	234,63 ± 3,70	2,63 ± 0,52	15,38 ± 1,06	3,63 ± 0,52

Примітка. * Різниця щодо контрольної групи статистично значуща (p < 0,05).

Таблиця 2. Вміст ІЛ-1β, ІЛ-8, ЛЕ та АД у сироватці крові щурів-нащадків за умов пренатального стресу різного генезу (M ± m)

Група	Постнатальний вплив	ІЛ-1β, пкг/мл	ІЛ-8, пкг/мл	ЛЕ, нг/мл	АД, мг/мл
1А	Інтактні	28,29 ± 2,06	321 ± 2,85	2,08 ± 0,05	1,71 ± 0,13
1Б	ВІС + плацебо	34,75 ± 1,67	534,13 ± 5,44	3,31 ± 0,15	1,56 ± 0,11
1В	ВІС + індометацин	43,00 ± 1,20	1432,38 ± 4,37	3,55 ± 0,02	1,48 ± 0,07
2А	Інтактні	50,86 ± 2,12*	502,29 ± 4,15*	3,41 ± 0,01*	1,09 ± 0,07*
2Б	ВІС + плацебо	82,00 ± 2,73*	792,25 ± 4,17*	3,94 ± 0,08*	0,90 ± 0,08*
2В	ВІС + індометацин	97,50 ± 2,00*	1675,88 ± 3,72*	4,12 ± 0,06*	0,69 ± 0,06*
3А	Інтактні	44,38 ± 4,27*	469,75 ± 97,54*	3,33 ± 0,20*	1,16 ± 0,15*
3Б	ВІС + плацебо	54,57 ± 2,44*	712,14 ± 9,62*	3,82 ± 0,04*	1,00 ± 0,12*
3В	ВІС + індометацин	68,25 ± 3,45*	1586,38 ± 4,41*	4,08 ± 0,03*	0,93 ± 0,10*
4А	Інтактні	61,29 ± 2,06*	641,57 ± 5,06*	3,73 ± 0,04*	1,01 ± 0,11*
4Б	ВІС + плацебо	96,63 ± 1,41*	837,38 ± 5,21*	4,42 ± 0,02*	0,74 ± 0,09*
4В	ВІС + індометацин	134,75 ± 4,18*	1821,25 ± 5,70*	4,62 ± 0,06*	0,54 ± 0,09*

Примітка. * Різниця щодо контрольної групи статистично значуща (p < 0,05).

У препаратах білої ЖТ потомків матерів, які при стандартній дієті мали вільний доступ до пиття 30 % розчину сахарози, виявлено ознаки помірного запалення: поодинокі вогнища лейкоцитарної інфільтрації та відмінності у формі і розмірі жирових клітин різного ступеня вираженості. Піпошкоджень ЖТ: група 2А — 2,0 бали (рис. 1Б),

2Б — 2,5 бала, 2В — 2,5 бала (рис. 1Е). Такі зміни підтверджують наявність хронічного запалення в ектопічних жирових депо вісцерального жиру та є субстратом для реалізації ефекту ліпотоксичності [13]. Ця група потомків належить до групи ризику розвитку метаболічних порушень та асоційованих з ними захворювань.

У щурів – потомків матерів, які отримували їжу з високим вмістом жирів, встановлено незначний ступінь альтерації ЖТ. Білий жир у підгрупі 3А був звичайної будови з поодинокими поліморфними адипоцитами (рис. 1В). ПІ підгрупи 3А – 1 бал. У тварин з підгруп 3Б та 3В виявлено множинні ознаки гетерогенності адипоцитів. Лише у частини тварин підгрупи 3В у білому жирі спостерігали окремі вогнища лейкоцитарної інфільтрації (рис. 1Ж). ПІ підгрупи 3Б – 1,5 бала, 3В – 1,5 бала.

У групі потомків тварин, які отримували харчування з високим вмістом жирів та у якості пиття 30 % сахарозу, зміни були найвираженішими з ознаками гіперпластичної проліферації і гіпертрофії адипоцитів, що супроводжувалось інтенсивною лейкоцитарною інфільтрацією. У підгрупах 4А та 4Б виявлено поодинокі лейкоцитарні інфільтрати у ЖТ. ПІ – 2,5 бала (рис. 1Г). У підгрупі 4В зміни були найбільш вираженими:

ПІ – 3 бала (рис. 1З). Морфофункціональні зміни білої ЖТ на тлі гіперсекреції ЛЕ та прозапальних інтерлейкінів свідчать про вираженіше запалення та зміну стрес-резистентності ЖТ у потомків тварин з висококалорійним нераціональним харчуванням і вільним доступом до 30 % розчину сахарози, що підтверджується клінічними спостереженнями про появу метаболічних порушень, зміну апетиту та надлишкову масу тіла чи ожиріння в осіб з тривалою постпрандіальною гіперглікемією [6].

При морфофункціональному аналізі стану бурої ЖТ у тварин контрольної групи не виявлено патологічних змін, ПІ для всіх підгруп становило майже 0 балів (рис. 2А, Д).

У щурів-потомків матерів, які отримували високовуглеводну дієту, виявлено ознаки альтерації, про що свідчила наявність множинних великих унілокулярних адипоцитів з ліпідними включеннями у цитоплазмі серед мультилоку-

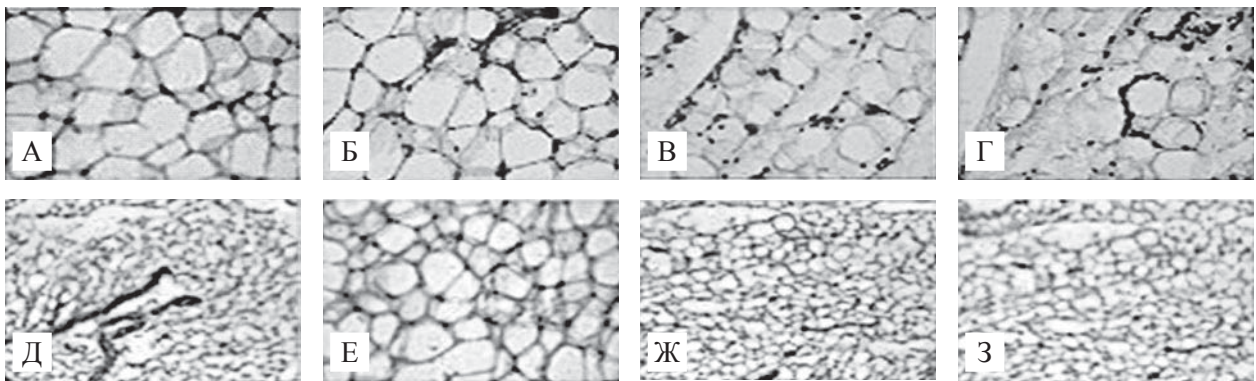


Рис. 1. Мікрофото білої мезентеріальної жирової тканини експериментальних тварин: підгрупи 1А (А), 2А (Б), 3А (В), 4А (Г), 1В (Д), 2В (Е), 3В (Ж), 4В (З). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200, 400$

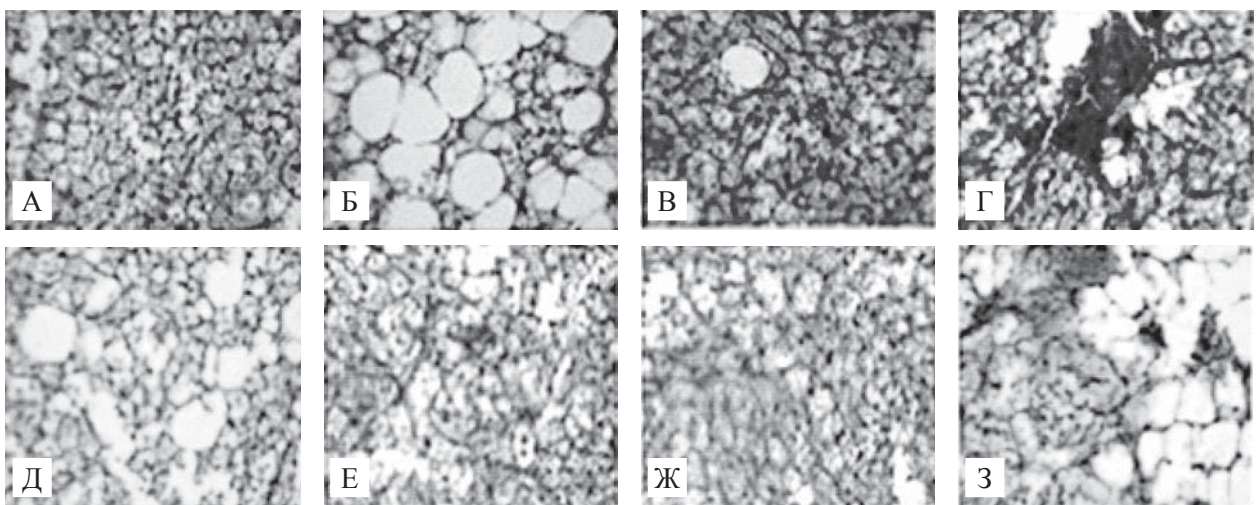


Рис. 2. Мікрофото бурої жирової тканини експериментальних тварин: підгрупи 1А (А), 2А (Б), 3А (В), 4А (Г), 1В (Д), 2В (Е), 3В (Ж), 4В (З). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200, 400$

лярних клітин бурого жиру в усіх підгрупах (рис. 2Б), а в підгрупах 2Б та 2В також виявлено помірну лейкоцитарну інфільтрацію (рис. 2Е). ПІ підгрупи 2А – 2 бали, 2Б – 2,5 бала, 2В – 2,5 бала.

У групі тварин з пренатальним впливом високожирової дієти виявлено незначні зміни у вигляді появи поодиноких великих унілокулярних адипоцитів у всіх підгрупах. ПІ підгрупи 3А – 1 бал (рис. 2В), 3Б – 1,5 бала, 3В – 1,5 бала (рис. 2Ж).

Найвираженіші морфофункціональні зміни бурого жиру було виявлено у групі тварин з високовуглеводним та жировим навантаженням у пренатальний період. У всіх підгрупах спостерігали скупчення унілокулярних макроvezикулярних клітин з великими ліпідними краплями в цитоплазмі, а у підгрупах з постнатальним стресом – також виражену периваскулярну змішано-клітинну інфільтрацію. ПІ підгрупи 4А – 2,5 бала (рис. 2Г), 4Б – 3 бали, 4В – 3 бали (рис. 2З).

Гетерогенність різного ступеня популяції адипоцитів у бурій ЖТ в експериментальних тва-

рин можна трактувати як дистрофію, втрату клітинами своїх функцій та перехід у режим накопичення надлишків ліпідів організму, тобто в бурій ЖТ з'являється ектопічна біла ЖТ [13]. Поява периваскулярних змішано-клітинних інфільтратів у бурій ЖТ свідчить про загальний прозапальний статус ЖТ в експериментальних тварин.

У тварин підгрупи 1А тканина печінки була звичайної гістологічної будови. ПІ підгрупи 1А – 0 балів (рис. 3А; 4А). У решті тварин контрольної групи виявлено незначні зміни, які відображували фонові ефекти гострого стресу та цитолітичного впливу індометацину: в підгрупі 1Б – незначне розширення поодиноких синусоїдів, ПІ – 0,5 бала; в підгрупі 1В у гепатоцитах наявні поодинокі мікровакуольні зміни, у 75% тварин – гіперемія перипортальних синусоїдів. ПІ – 1 бал (рис. 3Д; 4Д).

У печінці потомків матерів з вільним доступом до пиття 30% сахарози переважали морфо-

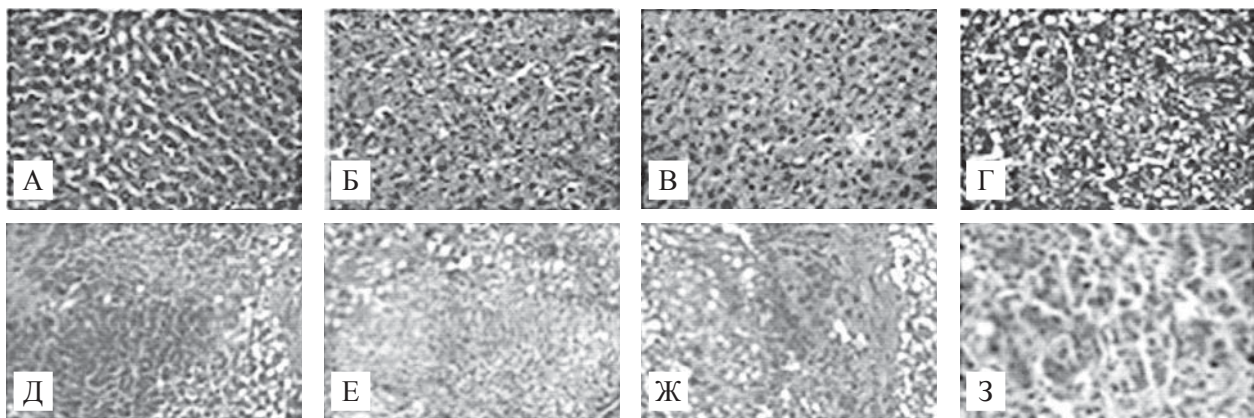


Рис. 3. Мікрофото паренхіматозних змін тканини печінки експериментальних тварин: підгрупи 1А (А), 2А (Б), 3А (В), 4А (Г), 1В (Д), 2В (Е), 3В (Ж), 4В (З). Забарвлення гематоксиліном та еозинном. $\times 200$

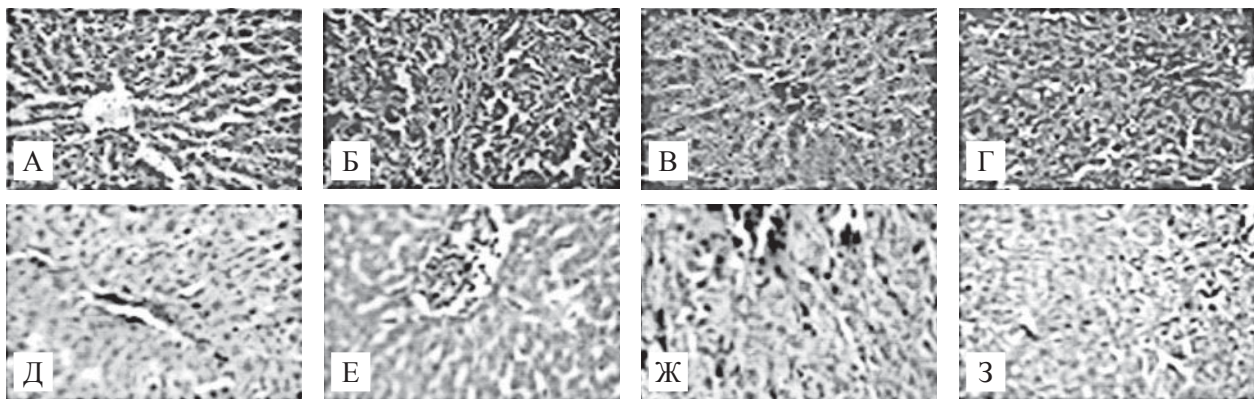


Рис. 4. Мікрофото судинно-стромальних змін тканини печінки експериментальних тварин: підгрупи 1А (А), 2А (Б), 3А (В), 4А (Г), 1В (Д), 2В (Е), 3В (Ж), 4В (З). Забарвлення гематоксиліном та еозинном. $\times 200$

функціональні зміни помірного ступеня вираженості. У підгрупах 2А та 2Б балково-часточкова структура печінки була незначно зміненою за рахунок порушення обміну тканинної рідини та нерівномірно виражених дистрофічних змін гепатоцитів: мікровакуольні зміни цитоплазми, помірно виражені нагромадження глікогену, нерівномірно розподілені у різних відділах часточки, нерівномірне розширення синусоїдів, дисконкомплексация печінкових балок за рахунок нагромадження тканинної рідини у просторах Діссе та вогнищевих скупчень еритроцитів. ПІ підгрупи 2А — 2,5 бала (рис. 3Б; 4Б). У підгрупі 2Б додатково виявлено виражену дилатацію і гіперемію перипортальних синусоїдів, ПІ — 3,5 бала. У підгрупі 2В зміни були вираженішими. Так, у паренхімі виявлено множинні ділянки з мікро- та мікровезикулярними змінами, нагромадження глікогену в ядрі та цитоплазмі гепатоцитів, окремі клітини з ознаками некрозу, дисконкомплексация балок за рахунок нагромадження тканинної рідини у просторах Діссе та скупчень еритроцитів, нерівномірне розширення синусоїдів, у портальних трактах — набряк та вогнищеві лейкоцитарні інфільтрати. ПІ — 4,5 бала (рис. 3Е; 4Е).

У третій групі переважали морфологічні зміни незначного ступеня вираженості. У підгрупі 3А не виявлено виражених альтеративних змін, спостерігався незначний поліморфізм гепатоцитів. ПІ — 1 бал (рис. 3В; 4В). У підгрупі 3Б відзначено паренхіматозні зміни, подібні до таких у підгрупі 3А, а також нерівномірну гіперемію центральних вен і прилеглих централобулярних відділів синусоїдів. ПІ — 1,5 бала. У підгрупі 3В балково-часточкова структура печінки була збережена, проте місцями в гепатоцитах спостерігали нерівномірне нагромадження глікогену та поодинокі клітини з великими цитоплазматичними вакуолями. Судинно-стромальні зміни виявлялися гіперемією центральної вени та незначно дилатованими синусоїдами. Лише у 25 % тварин спостерігали незначні інфільтрати в окремих портальних трактах. ПІ — 2 бали (рис. 3Ж; 4Ж).

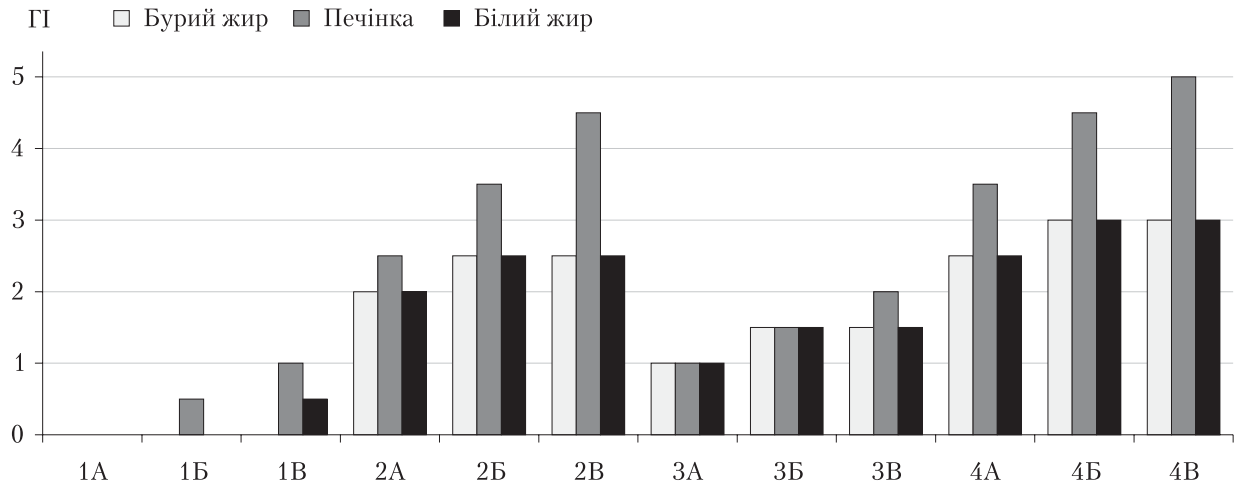
Для четвертої групи була характерною найбільш виражена гепатоцелюлярна реорганізація. В усіх трьох підгрупах зафіксовано ознаки пошкодження гепатоцитів та гемодинамічних порушень. У підгрупі 4А виявлено зміни незначного та помірного ступеня: балково-часточкова структура була переважно збереженою, гепатоцити з ознаками незначно вираженого пошкодження (в окремих гепатоцитах спостерігали мікро- та макровакуольні зміни). Характерною ознакою було нерівномірне нагромадження глі-

когену та дисконкомплексация балок, ознаки набряку інтерстицію спостерігали переважно у централобулярних відділах часточок, що супроводжувалося нерівномірною гіперемією та дилатацією синусоїдів. Скупчення лейкоцитів виявлено лише в 25 % портальних трактів. ПІ підгрупи 4А — 3,5 бала (рис. 3Г; 4Г). У тварин підгруп 4Б і 4В альтерація печінки була більш вираженою. ПІ підгрупи 4Б — 4,5 бала, 4В — 5 балів (рис. 3З; 4З).

Наші результати узгоджуються з клінічними та експериментальними даними інших дослідників, які свідчать про те, що якість пренатального періоду впливає на функціонування внутрішніх органів у постнатальний період [15]. Нами показано, що висококалорійне харчування та експозиція до стресу у пренатальний період може програмувати розподіл та функціональну активність жирової тканини у дорослому віці, що зумовлюватиме нагромадження ектопічного жиру у бурій ЖТ та гепатоцелюлярну реорганізацію. Нейроендокринні та імунні впливи пренатального періоду вносять істотний «вклад» у формування прозапальної секреторної активності ЖТ і патогенез стеатогепатозу та стеатогепатиту [18].

М. Stanton і співавт. дослідили вплив висококалорійного харчування у генетично модифікованих щурів з ожирінням на експресію генів, які відповідають за розвиток запалення і тканинної інсулінорезистентності. Згідно з отриманими результатами за умов високожирової дієти у мезентеріальній ЖТ на 6–16-й тиждень виявляють генетичні маркери прозапальних цитокінів: ІЛ-1β та ФНП-α, які з'являються також у печінці на 16–26-й тиждень на тлі ознак стеатогепатиту [12]. Наші дані про зниження протизапального медіатора ЖТ — АД у щурів-потомків матерів з висококалорійним харчуванням на тлі хронічної постпрандіальної гіперглікемії внаслідок вільного доступу до 30 % розчину сахарози збігаються з результатами N. Luo та співавт. (2010), які доводять, що адипонектин, експресований на макрофагах жирової тканини, модулює метаболічну активність *in vivo*, поліпшуючи метаболізм у периферійних тканинах, та володіє антидіабетичною, протизапальною та антиатерогенною дією, а зниження його рівня свідчить про прогресування запальної реакції та інсулінорезистентності [8].

Динаміка гістологічних індексів ураження білого жиру, бурого жиру та печінки свідчить, що пренатальний вплив стресу та різних модифікацій висококалорійного харчування викликає у нащадків зміни досліджуваних тканин та органів різного ступеня вираженості, а саме: за умов впливу дієти з домінуванням вуглеводів — по-



Різниця щодо контрольної групи статистично значуща у всіх групах за усіма трьома показниками.

Рис. 5. П білої і бурої жирової тканини та печінки тварин експериментальних груп

мірні зміни, дієти з домінуванням жирів — незначні зміни, а за умов їх поєднання — виражені зміни морфофункціональної активності (рис. 5).

Висновки

Отримані результати свідчать про те, що пренатальний період — це важливий етап формування функціональної активності ЖТ, гепатоцелюлярної організації та цитокінової секреції в постнатальний період. Висококалорійне харчування матері та стрес під час вагітності ініціюють дисбаланс адипокінів (лептину, адипонектину) та прозапальних інтерлейкінів (ІЛ-1 β , ІЛ-8) у потомків, що супроводжується адипоцитарною і гепатоцелюлярною реорганізацією та ознаками запалення у білому і бурому жирі та тканині печінки, а також дистрофією бурого жиру з ектопічним нагромадженням білої ЖТ.

Дія повторних стресорів у дорослому житті на організм антенатально стресованих потомків відіграє роль пускового механізму у формуванні тканинних реакцій з боку жирової тканини, печінки і посиленні прозапальної активності адипокінів та інтерлейкінів, що обґрунтовує важливість проведення профілактичних та діагностичних заходів у групах осіб з підвищеним ризиком розвитку метаболічних порушень — предикторів ожиріння, НАЖХП та предіабетичних процесів.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення механізмів пренатального програмування функціональної активності різних видів ЖТ та його впливу на печінку допоможе розробити ефективні заходи щодо запобігання розвитку метаболічних порушень в осіб з обтяженим пренатальним анамнезом.

Список літератури

1. Бабак О.Я., Колеснікова О.В., Шуть І.В. Взаємозв'язок між вмістом адипонектину, вісцерального жиру та поліморфним геном ADIPOR1 у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки // Сучасна гастроентерол. — 2012. — № 5 (67). — С. 7—12.
2. Козар В.В., Кудря М.Я., Устенко Н.В. та ін. Стан гуморальної ланки імунітету за умов метаболічного синдрому на тлі гіпоестрогенії та його фармакологічна корекція // Буковин. мед. вісн. — 2009. — № 4. — С. 141—144.
3. Attar V. M., Van Thiel D. H. Current concepts and management approaches in nonalcoholic fatty liver disease // Sci. World J. — 2013. — doi.org/10.1155/2013/481893.
4. Balistreri C. R., Caruso C., Candore G. The role of adipose tissue and adipokines in obesity-related inflammatory diseases (review article) // Hindawi Publishing Corporation: Mediators of Inflammation. — 2010. — 19 p.
5. Bartelt A., Bruns O. T., Reimer R. et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance // Nat. Med. — 2011. — Vol. 17, N 2. — P. 200—205.
6. Hou Y. C., Chang Y. L., Kuo S. C. et al. Serum hyperglycemia might be not related to fat composition of diet and vegetable composition of diet might improve sugar control in Taiwanese diabetic subjects // Int. J. Med. Sci. — 2014. — Vol. 11, N 5. — P. 515—521.
7. Ierardi E., Rosania R., Zotti M. et al. Metabolic syndrome and gastro-esophageal reflux: A link towards a growing interest in

- developed countries // *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* — 2010. — Vol. 1, N 3. — P. 91—96.
8. Luo N., Liu J., Hong Chung B. et al. Macrophage adiponectin expression improves insulin sensitivity and protects against inflammation and atherosclerosis // *Diabetes.* — 2010. — N 59. — P. 791—799.
 9. Park A., Kim W.K., Bae K.-H. Distinction of white, beige and brown adipocytes derived from mesenchymal stem cells // *World J. Stem. Cells.* — 2014. — Vol. 6, N 1. — P. 33.
 10. Polyzos S.A. Adipocytokines in insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease: the two sides of the same coin // *Med. Hypotheses.* — 2010. — Vol. 74 (6). — P. 1089—1090.
 11. Pratt N.C., Lisk R.D. Effect of social stress during early pregnancy on litter, size, and sex ratio in golden hamster // *J. Reprod. Fert.* — 1989. — Vol. 87. — P. 763—769.
 12. Stanton M.C., Chen S.C., Jackson J. et al. Inflammatory Signals shift from adipose to liver during high fat feeding and influence the development of steatohepatitis in mice // *J. Inflamm.* — 2011. — Vol. 8, N 1.
 13. Suganami T., Tanaka M., Ogawa Y. Adipose tissue inflammation and ectopic lipid accumulation // *Endocr. J.* — 2012. — Vol. 59, suppl. — P. 849—857.
 14. Takagi K., Kasuya Y., Watanabe K. Studies on the drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats // *Chem. Pharm. Bul. (Tokyo).* — 1964. — N 12. — P. 465—472.
 15. Tarry-Adkins J.L., Ozanne S.E. Mechanisms of early life programming: current knowledge and future directions // *Am. J. Clin. Nutr.* — 2011. — Vol. 94 (suppl.). — P. 1765S—1771S.
 16. Tim J.S., Yu-Hua T. Brown adipose tissue: development, metabolism and beyond // *Biochem. J.* — 2013. — Vol. 453, N 2. — P. 167—178.
 17. Verhulst P.J., Lintermans A., Janssen S. et al. GPR39, a receptor of the ghrelin receptor family, plays a role in the regulation of glucose homeostasis in a mouse model of early onset diet-induced obesity // *J. Neuroendocrinol.* — 2011. — Vol. 23, N 6. — P. 490—500.
 18. Vernon G., Baranova A., Younossi Z.M. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics.* — 2011. — Vol. 34, N 3. — P. 274—285.
 19. World Cancer Research Fund International. Summary of the latest findings for all cancers linked with greater body fatness // http://www.wcrf.org/cancer_statistics/lifestyle_factors/summary_of_the_latest_findings_for_all_cancers_linked_with_greater_body_fatness.php. — 2014.
 20. Yao X., Shan S., Zhang Y., Ying H. Recent progress in the study of brown adipose tissue // *Cell. Biosci.* — 2011. — Vol. 35, N 1.

Л. Ю. Безпалько, Е. М. Гаврилюк, О. С. Заячковская

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

Влияние пренатального стресса и высококалорийного питания на функциональную активность белой и бурой жировой ткани и печени в постнатальный период (экспериментальное исследование)

Цель — изучение особенности влияния пренатального стресса и высококалорийного питания на функциональную активность и формирование стресс-резистентности белой и бурой жировой ткани и печени в постнатальный период.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования проводили на нелинейных гестационных крысах-самках (n=20) и их потомках-самцах (n=72). Беременным крысам индуцировали социально-эмоциональный стресс по N. C. Pratt и высококалорийное питание: высокоуглеводную диету по В. В. Козару, высокожировую диету по А. Lintermans, а также их комбинацию. Для изучения эффектов пренатального стресса и стресс-резистентности жировой ткани (ЖТ) и печени проводили морфофункциональные исследования тканей белого и бурого жира и печени, а также определяли уровень в сыворотке крови интерлейкина (ИЛ)-1 β , GRO/CINC-1, лептина и адипонектина. Для изучения стресс-резистентности 3-месячным самцам-потомкам индуцировали водно-иммобилизационный стресс по K. Takagi без и с внутрибрюшинным введением индометацина.

Результаты. Материнский стресс с комбинированной высокоуглеводной и высокожировой диетой вызвал у потомства выраженные патологические изменения: воспаление ЖТ и гепатоцеллюлярную реорганизацию. В этой группе также выявили значительное увеличение содержания ИЛ-1 β (на 217%), GRO/CINC-1 (на 99%) и лептина (на 79%), снижение уровня адипонектина (на 41%) по сравнению с контрольной группой. Постнатальный стресс вызвал у потомков усугубление воспалительной реакции, о чем свидетельствовало дальнейшее повышение уровня ИЛ-1 β (178%), GRO/CINC-1 (57%), лептина (34%) и снижение содержания адипонектина (53%) по сравнению с контрольной группой. Комбинированное воздействие острого стресса и индометацина обусловило у потомков усугубление цитокинового дисбаланса: увеличение уровня ИЛ-1 β (213%), GRO/CINC-1 (27%), лептина (30%) и снижение содержания адипонектина (64%) по сравнению с постнатально интактными животными.

Выводы. Предложенная экспериментальная модель позволила выявить новые аспекты функционирования и стресс-резистентности ЖТ и печени, а также механизмов развития неалкогольной жировой болезни печени. Упомянутые цитокины могут быть маркерами ранних изменений морфофункциональной активности печени и ЖТ. Здоровое питание и контроль за стрессом в пренатальный период

могут стать ефективною стратегією профілактики порушень функцій ЖТ і запалювальних процесів в печині і ЖТ, а також сприяти їх резистентності до стресорних факторів у дорослому житті.

Ключевые слова: жировая ткань, печень, лептин, адипонектин, питание, воспаление, ИЛ-1 β , ИЛ-8, стресс.

L. Yu. Bezpalko, O. M. Gavrilyuk, O. S. Zayachkivska

Danylo Halytskiy Lviv National Medical University

Effect of prenatal stress and high caloric nutrition on the functional activity of white and brown fat tissue and liver during prenatal period (experimental investigation)

Objective — to study the peculiarities of the influence of prenatal stress and high caloric nutrition on the functional activity of white and brown fat tissue and liver during prenatal period.

Materials and methods. The experimental investigations were conducted in nonlinear gestational female rats (n=20) and their male offspring (n=72). Pregnant rats were exposed to stress using Pratt's model (1989), and nutritional insults: high-sugar diet (Kozar, 2009), high-fat diet (Lintermans, 2009) or their combination, the high-sugar and high-fat diet (HSFD). The effects of maternal stress and nutrition on severity of visceral fat and liver morpho-functional changes during stress (Takagi, 1964 and intra-abdominal introduction of indomethacin) were examined in offspring, along with serum levels of IL-1 β , GRO/CINC-1, leptin and adiponectin. To investigate stress-resistance, 3-months offspring males were induced water-immobilizing stress (K. Takagi) with and without intra-abdominal introduction of indomethacin.

Results. Maternal exposure to stress in combination with HSFD resulted in the most prominent histological changes in offspring: visceral fat inflammation and hepatocellular reorganization. Also in this group were revealed the most significant changes in cytokine's stress resistance: increased IL-1 β (217%), GRO/CINC-1 (99%), leptin (79%) and decrease of adiponectin (41%) vs control; induction of stress in offspring caused increased IL-1 β (178%), GRO/CINC-1 (57%), leptin (34%) and decrease of adiponectin (53%) vs control; combined stress and indomethacin injury increased IL-1 β (213%), GRO/CINC-1 (27%), leptin (30%) and decrease of adiponectin (64%) vs intact animals.

Conclusions. The proposed rat model enabled the reveal the new aspects of the functioning and stress-resistance of the AT and liver, as well as mechanisms of the NAFLD development. The mentioned cytokines can serve as the markers of the early changes of the morpho-functional activity of liver and AT. Healthy nutrition and stress management during pregnancy may serve as a valid strategy for preventing liver and AT inflammation and improve their stress resistance in adulthood.

Key words: adipose tissue, liver, inflammation, diet, stress, IL-1 β , IL-8, leptin, adiponectin.

Контактна інформація

Безпалько Людмила Юріївна, здобувач кафедри нормальної фізіології

E-mail: bezpalkolu@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 27 листопада 2014 р.