

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА
CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616.36:613.2.038:796.012.6
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-183-193>

Поступила в редакцию 10.03.2023
Received 10.03.2023

**А. А. Басалай, Т. А. Митюкова, Т. Е. Кузнецова, Е. Н. Чудиловская,
О. Е. Полулях, Н. С. Костюченко, Я. В. Щербаков, С. В. Губкин**

Институт физиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

**ВЛИЯНИЕ ДИЕТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ОЖИРЕНИЯ
И НЕМЕДИКАМЕНТОЗНЫХ ВАРИАНТОВ ЕГО КОРРЕКЦИИ
НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕЧЕНИ
У САМОК КРЫС ЛИНИИ ВИСТАР**

Аннотация. Неалкогольная жировая болезнь печени является одним из неблагоприятных последствий ожирения. Однако экспериментальные исследования механизмов развития данной патологии проводятся преимущественно на самцах грызунов, а сведения о развитии жирового гепатоза у самок являются недостаточными.

Цель исследования – изучить влияние диет-индуцированного ожирения и немедикаментозных вариантов его коррекции на морфологические характеристики печени и показатели печеночного метаболизма у самок крыс линии Вистар.

Опыты проводились на половозрелых самках крыс линии Вистар и включали изучение морфологических и биохимических показателей функционального состояния печени у животных при стандартной диете (СтД, 16 недель), при высококалорийном питании (ВКД, 16 недель), при переходе к стандартной диете (ВКД/СтД, 8/8 недель), при подключении физических нагрузок в виде бега на тредмиле (СтД + бег, ВКД + бег и ВКД/СтД + бег, 8/8 недель).

Длительное применение ВКД у самок крыс вызывало висцеральное ожирение, жировую дистрофию печени с нарушением гистоархитектоники органа, сдвиги печеночного метаболизма и нарастание процессов перекисного окисления липидов. Коррекция диет-индуцированного ожирения путем перехода на СтД приводила к полной либо частичной нормализации изученных показателей. У крыс группы «ВКД + бег» метаболические нарушения часто носили более выраженный характер, чем в группе «ВКД». При переходе на ВКД/СтД + бег отмечалось наиболее полное восстановление метаболизма и гистоструктуры печени с признаками регенерации органа.

Таким образом, оптимальная коррекция висцерального ожирения, жировой дистрофии печени и ее метаболизма невозможна без нормализации рациона питания у самок крыс линии Вистар. Дополнительный регенерирующий эффект в отношении гистоструктуры печени достигается при сочетании варианта коррекции – при переходе к сбалансированному питанию и умеренным физическим нагрузкам.

Ключевые слова: самки крыс, высококалорийная диета, жировое перерождение печени, печеночный метаболизм, коррекция жирового гепатоза

Для цитирования: Влияние диет-индуцированного ожирения и немедикаментозных вариантов его коррекции на функциональные и морфологические характеристики печени у самок крыс линии Вистар / А. А. Басалай [и др.]. // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2024. – Т. 21, № 3. – С. 183–193. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-183-193>

**Anastasia A. Basalai, Tatyana A. Mityukova, Tatyana E. Kuznetsova, Katerina N. Chudilovskaya,
Olga Y. Poluliakh, Mikita S. Kastsyuchenka, Yakov V. Shcherbakov, Siarhei V. Hubkin**

Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

**EFFECT OF DIET-INDUCED OBESITY AND NON-DRUG OPTIONS OF ITS CORRECTION
ON THE FUNCTIONAL AND MORPHOLOGICAL LIVER CHARACTERISTICS
IN FEMALE WISTAR RATS**

Abstract. A nonalcoholic fatty liver disease is one of the unfavorable consequences of obesity. However, experimental studies on the mechanisms of this pathology development are being carried out mainly on male rodents, and the data on the development of fatty hepatosis in females are insufficient.

The aim of the study was to investigate the effect of diet-induced obesity and non-drug options for its correction on the morphological liver characteristics and liver metabolic parameters in female Wistar rats.

Experiments were conducted on sexually mature female Wistar rats and included the study of morphological and biochemical parameters of the liver functional state in animals kept on standard diet (StD, 16 weeks), on a high-calorie diet (HCD, 16 weeks) when switching to a standard diet (HCD/StD, 8/8 weeks), when the physical activity in the form of treadmill running was included (StD + running, HCD + running and HCD/StD + running, 8/8 weeks).

Long-term use of HCD in female rats caused visceral obesity, liver fatty dystrophy with disruption of organ histoarchitectonics, shifts in hepatic metabolism and increased lipid peroxidation. Correction of diet-induced obesity by switching to StD led to a complete or partial normalization of the studied indices. In the “HCD + running” group, metabolic disorders are often more pronounced than in the “HCD” group. The transition to HCD/StD + running promoted the most complete restoration of metabolism and histostructure of the liver with regeneration signs of the organ.

Thus, an optimal correction of visceral obesity, fatty liver dystrophy and its metabolism is impossible without diet normalization in female Wistar rats. An additional regenerating effect with respect to the liver histostructure is achieved with a combined variant of correction – transition to a balanced diet and moderate physical activity.

Keywords: female rats, high-calorie diet, fatty liver, hepatic metabolism, correction of fatty hepatosis

For citation: Basalai A. A., Mityukova T. A., Kuznetsova T. E., Chudilovskaya K. N., Poluliakh O. Y., Kastsiuchenka M. S., Shcherbakov Ya. V., Hubkin S. V. Effect of diet-induced obesity and non-drug options of its correction on the functional and morphological liver characteristics in female Wistar rats. *Vesti Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryyya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2024, vol. 21, no. 3, pp. 183–193 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2024-21-3-183-193>

Введение. Известно, что основной причиной ожирения является дисбаланс между потреблением энергии и ее расходом, поэтому в подавляющем большинстве случаев ожирение развивается в результате неправильного образа жизни – высококалорийного питания и недостаточной двигательной активности. Избыточная масса тела образуется преимущественно за счет накопления жировых отложений в подкожной клетчатке и зоне висцерального жира, что приводит к целому ряду неблагоприятных метаболических последствий, определяемых как метаболический синдром. Основным патогенетическим фактором этого синдрома является инсулинорезистентность, которая способствует развитию коморбидных патологических состояний, включая неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) [1]. НАЖБП включает широкий спектр заболеваний печени, которые варьируются от простого накопления жира в печени и неалкогольного стеатогепатита до прогрессирующего фиброза, который может привести к циррозу и печеночной недостаточности и даже к летальному исходу [1]. У грызунов, которых содержат на диете с высоким содержанием жиров и углеводов, также наблюдаются патологические изменения в печени, напоминающие заболевание НАЖБП у людей [2]. В большинстве клинических и экспериментальных исследований показано, что НАЖБП, вызванная высококалорийной диетой, в наибольшей степени связана с мужским полом [3–5], однако имеются данные, которые это опровергают [6].

Поскольку эксперименты по изучению ожирения проводятся, как правило, на самцах грызунов, существует дефицит сведений о половом диморфизме, проявляющемся в последствиях диетиндуцированной патологии. В работе [7] показано, что самки крыс по сравнению с самцами более медленно и менее значительно набирают массу тела при избыточном питании, и у них регистрируется меньшее количество метаболических осложнений. Согласно данным О. D. Taraschenko с соавт. [8], при высококалорийной диете самцы более подвержены ожирению, чем самки, и у самцов, но не у самок, отмечается положительный эффект при коррекции данной патологии с использованием селективного антагониста $\alpha 3\beta 4$ никотиновых рецепторов. Последнее подтверждает, что механизмы развития ожирения у самцов и самок крыс отличаются. В работе [9] оценивалось влияние высококалорийной диеты (ВКД) на развитие функциональных нарушений печени у крыс линии Спрег-Дули обоего пола. Результаты показывают, что самцы крыс более восприимчивы к ВКД-индуцированному воспалению печени и что механизм, лежащий в основе этого полового диморфизма, опосредован печеночной экспрессией фактора роста фибробластов печени FGF21. Авторы делают вывод о том, что развитие жировой дистрофии печени, вызванной ВКД, зависит от пола, и указывают на защитную роль эстрогенов против жирового поражения печени. Гепатопротекторная роль женских половых гормонов рассматривается и в других работах [10].

Вопрос о коррекции ожирения и его последствий у самцов и самок грызунов представляет особый интерес. Учитывая, что подавляющее большинство исследований по влиянию ожирения и его последствий, а также возможностей по его коррекции проведено на самцах, а исследования

на самках немногочисленны, возникла необходимость восполнить эти недостаточные сведения. Исходя из этого, представляло интерес охарактеризовать последствия диет-индуцированного ожирения и возможности немедикаментозной оздоровительной коррекции, включая состояние печени, у самок крыс линии Вистар, а также провести сопоставление с ранее проведенными аналогичными исследованиями на самцах крыс [11]. Поскольку основными причинами висцерального ожирения являются ВКД и сидячий образ жизни, то коррекция данной патологии предполагает в первую очередь переход на сбалансированное питание и подключение умеренных физических нагрузок, что соответствует рекомендациям ВОЗ, ЕС-ООН и проекта БЕЛМЕД [12].

Цель работы – изучить влияние диет-индуцированного ожирения и немедикаментозных вариантов его коррекции на морфологические характеристики печени и показатели печеночного метаболизма у самок крыс линии Вистар.

Материалы и методы исследования. Опыты проводили на половозрелых самках крыс линии Вистар. Животные были введены в эксперимент в возрасте 2 мес. Дизайн эксперимента показан на рис. 1. На I этапе крысы были случайным образом разделены на две основные группы, которые содержались либо на стандартной диете вивария («СтД» – контроль), либо получали высококалорийную диету («ВКД») в течение 8 недель. На II этапе животные были дополнительно разделены на подгруппы, включающие дополнительно физические нагрузки и переход от ВКД на СтД в течение следующих 8 недель. Контрольная группа была разделена на две подгруппы: «СтД» (контроль) и «СтД + бег». Группа «ВКД» была разделена на четыре подгруппы: «ВКД», «ВКД + бег», «ВКД/СтД», «ВКД/СтД + бег».

Животные находились в режиме 12/12-часового цикла день/ночь, при температуре 22 ± 2 °С и влажности воздуха 60–65 %. Все манипуляции были согласованы с комитетом по биоэтике Института физиологии НАН Беларуси (протокол № 1 от 02 февраля 2022 г.) и соответствовали требованиям биоэтики, утвержденным Европейской конвенцией о защите позвоночных животных. Животных выводили из эксперимента путем декапитации, используя тиопентал натрия. Критерием исключения животного из эксперимента служило его заболевание либо гибель.

ВКД состояла из дополнительного включения жиров животного происхождения (свиное сало) в стандартный рацион из расчета 45 % от суточной калорийности корма и замещения воды на 10%-й раствор фруктозы в свободном доступе (*ad libitum*) [13]. Умеренные физические нагрузки осуществляли натошак в виде бега на тредмиле 5 дней в неделю в течение 20 мин со скоростью 15 м/мин в утреннее время (с 9.00 до 12.00) [14]. Общая продолжительность тренировок составляла 8 недель.

Массу тела крыс еженедельно измеряли на весах SATURN (Китай). После выведения животных из эксперимента проводили забор крови и тканей, взвешивание висцеральной жировой ткани и печени на лабораторных весах (Scout Pro, Китай). Массовые коэффициенты (МК) висцерального жира и печени рассчитывали по формуле $МК = (\text{масса органа}/\text{масса тела}) \cdot 100$ %. Для приготовления гомогенатов навески печени измельчали на льду ручным гомогенизатором IKA T 10 basic (IKA-WERKE, Германия) с использованием 0,2-молярного Na-фосфатного буфера (pH = 7,4).

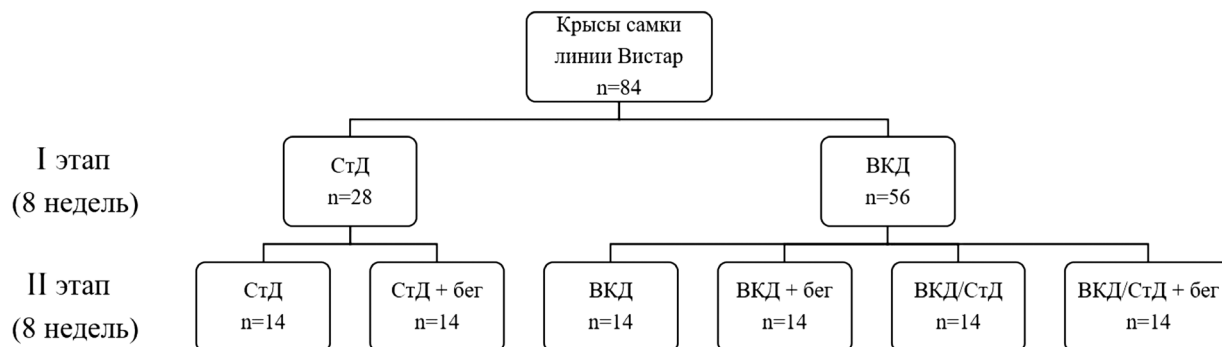


Рис. 1. Дизайн эксперимента

Fig. 1. Experiment design

Общепринятые клинико-лабораторные биохимические методы исследования осуществляли на биохимическом автоматическом анализаторе BS-200 (Mindray, Китай) с программным обеспечением BS-330, используя коммерческие наборы фирмы «Диасенс» (Республика Беларусь), согласно инструкциям производителя, с обязательным контролем качества (контрольные сыворотки производства Randox, Великобритания). Содержание малонового диальдегида (МДА) в гомогенатах печени оценивали по методу [15].

Для морфологического анализа фрагменты правой доли печени подвергали быстрой заморозке в криостате. Серийные срезы толщиной 7 мкм изготавливали на микротоме-криостате НМ 525 (Microm, Германия) и окрашивали гематоксилин-эозином по общепринятой методике [16]. Для визуализации липидов (триглицеридов) использовали окраску суданом III [16]. Исследование микропрепаратов, морфометрию и изготовление микрофотографий проводили с помощью светового микроскопа Альтами LUM-1, оснащенного цифровой фотокамерой.

Для статистического анализа использовали программу Statistica 10.0. Характер распределения показателей определяли по критерию Шапиро–Уилка. Учитывая преимущественно ненормальное распределение значений, применяли непараметрические методы статистики. Результаты представлены в виде медианы, 25-го и 75-го процентилей (Me [25; 75]). Статистическую значимость отличий рассчитывали по *U*-критерию Манна–Уитни, достоверным считали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В ходе эксперимента наблюдалась возрастная динамика нарастания массы тела у самок крыс всех групп, при этом на завершающей стадии исследования достоверно значимые отличия по массе тела у животных различных групп отсутствовали.

Масса висцеральной жировой ткани у животных в группах «СтД» и «СтД + бег» составила 7,57 [5,82; 10,00] и 7,62 [4,36; 9,17] г, а в группах «ВКД» и «ВКД + бег» – 19,30 [9,38; 23,47] и 19,80 [13,49; 23,64] г, что свидетельствует о ее достоверном нарастании в 2,5 и 2,6 раза соответственно по сравнению с таковой в группах сбалансированного питания. Массовый коэффициент висцеральной жировой ткани был существенно повышен также в группах «ВКД» и «ВКД + бег» (в 2,3 и 2,6 раза по сравнению с контролем), что указывает на развитие висцерального диет-индуцированного ожирения у самок крыс. У животных из групп коррекции ожирения «ВКД/СтД» и «ВКД/СтД + бег» вышеуказанные показатели были равнозначны контрольным значениям. Показатели массы печени и ее массовый коэффициент не претерпевали существенных изменений у крыс экспериментальных групп.

В таблице представлены данные биохимического анализа сыворотки крови, отражающие состояние печеночного метаболизма у самок крыс линии Вистар. Все исследуемые биохимические показатели у крыс в группах «СтД» и «СтД + бег» были практически идентичными.

Состояние липидного обмена оценивали по содержанию ОХ и ТГ в сыворотке крови. Содержание ОХ оставалось в пределах нормы во всех экспериментальных группах, а уровень ТГ достоверно повышался в группе «ВКД + бег» (в 1,5 раза по сравнению с группой «СтД + бег»), что характеризует нарастание липолиза под влиянием физической нагрузки, но только у животных с висцеральным ожирением. Избыточное питание существенно влияло на состояние печеночного метаболизма у самок крыс. Установлено значимое снижение уровня мочевины в сыворотке крови при ВКД и при сочетании ВКД с бегом – в 1,6–1,7 раза по сравнению с контролем, что характерно для печеночной недостаточности, гепатита либо цирроза печени [17]. На фоне ВКД, независимо от физических нагрузок, зарегистрировано достоверное повышение уровня ОБ, снижение активности АЛТ и резкое повышение активности ЩФ, что в совокупности демонстрирует поражение печени [17, 18]. Активность фермента АСТ в сыворотке крови оставалась стабильной при всех условиях эксперимента. Отмечено достоверное повышение содержания глюкозы в крови самок крыс в группах «ВКД», «ВКД/СтД» и «ВКД + бег» по сравнению с контролем. Повышенный уровень глюкозы при диет-индуцированном ожирении независимо от физических нагрузок («ВКД» и «ВКД + бег») и даже при переходе на сбалансированную диету («ВКД/СтД») указывает на развивающуюся тенденцию к инсулинорезистентности [17]. Нормализация функции инсулярного аппарата регистрировалась только при сочетанной коррекции ожирения («ВКД/СтД + бег»). Следует отметить, что большинство вышеперечисленных биохимических сдвигов (кроме повышения

Биохимические показатели сыворотки крови у самок крыс всех экспериментальных групп
Biochemical parameters of blood serum of female rats of all experimental groups

Показатель	Группы					
	без физических нагрузок			с физическими нагрузками		
	«СтД»	«ВКД»	«ВКД/СтД»	«СтД + бег»	«ВКД + бег»	«ВКД/СтД + бег»
ОХ, ммоль/л	1,62 [1,47; 1,77]	1,67 [1,36; 1,90]	1,54 [1,35; 1,88]	1,56 [1,38; 1,66]	1,50 [1,45; 1,62]	1,51 [1,37; 1,65]
ТГ, ммоль/л	1,37 [0,84; 1,80]	0,96 [0,66; 2,47]	1,15 [0,75; 1,35]	0,94 [0,81; 1,05]	1,42 [1,12; 1,65] [#]	0,89 [0,66; 1,14]
Глюкоза, ммоль/л	6,88 [6,07; 7,21]	7,80 [7,24; 8,03] [*]	7,85 [7,17; 8,09] ^{*#}	6,88 [6,21; 7,33]	8,02 [7,32; 8,50] ^{*#}	7,51 [7,14; 7,83]
Мочевина, ммоль/л	6,35 [5,83; 6,73]	3,66 [3,37; 4,21] ^{*#}	6,62 [6,34; 7,60] ^{*&}	6,13 [5,96; 6,59]	3,95 [3,12; 4,37] ^{*#}	6,94 [6,14; 7,22] ^{*&}
ОБ, мкмоль/л	2,30 [2,10; 2,90]	3,60 [2,40; 4,20] ^{*#}	2,40 [1,90; 2,60] ^{*&}	2,40 [2,10; 2,70]	3,50 [2,60; 4,50] ^{*#}	2,40 [2,10; 2,45] ^{*&}
АСТ, Ед/л	162,00 [144,00; 185,00]	159,00 [129,00; 164,00]	147,00 [123,00; 167,00]	158,00 [151,00; 188,00]	154,50 [138,00; 170,00]	161,50 [140,00; 167,00]
АЛТ, Ед/л	54,00 [43,00; 67,00]	36,00 [33,00; 41,00] ^{*#}	48,00 [46,00; 64,00] ^{*&}	60,00 [48,00; 67,00]	39,50 [34,00; 47,00] ^{*#}	52,00 [46,00; 56,00] ^{*&}
ЩФ, Ед/л	276,50 [219,00; 392,00]	496,00 [365,00; 661,00] ^{*#}	310,00 [232,00; 337,00] ^{*&}	300,00 [243,00; 346,00]	570,50 [426,00; 667,00] ^{*#}	342,00 [214,50; 411,00] ^{*&}

Примечание. Здесь и на рис. 2: значимость отличий ($p < 0,05$) от групп «СтД» (*), «ВКД» (●), «СтД + бег» (#), «ВКД + бег» (&) и между группами «ВКД/СтД» и «ВКД/СтД + бег» (^). ОХ – общий холестерин, ТГ – триглицериды, ОБ – общий билирубин, АСТ – аспаратаминотрансфераза, АЛТ – аланинаминотрансфераза, ЩФ – щелочная фосфатаза.

уровня глюкозы), развивающихся на фоне диеты с высоким содержанием жиров и углеводов, возвращалось к норме при переходе от ВКД к сбалансированной диете независимо от физических нагрузок (см. таблицу).

Далее были изучены биохимические показатели в гомогенатах печени крыс (в расчете на 1 г ткани). Содержание ОБ, глюкозы и значения активности лактатдегидрогеназы были относительно стабильными как при диет-индуцированном висцеральном ожирении, так и при немедикаментозных вариантах его коррекции по сравнению с данными контроля. Концентрация ОБ имела тенденцию к снижению на фоне ВКД и достигала значимого снижения в группе крыс «ВКД + бег», что, по-видимому, связано с жировым гепатозом и гибелью печеночных клеток, продуцирующих билирубин. Следует отметить, что у самок крыс в группах «ВКД» и «ВКД + бег» регистрировалось повышенное поступление билирубина в кровь (см. таблицу). Полученные данные подтверждают гепатотоксическое влияние диет-индуцированного ожирения на состояние печеночного метаболизма.

Определение МДА в печеночной ткани выявило тенденцию к повышению этого показателя у крыс группы «ВКД» по сравнению с таковым в группе контроля и в группе «СтД + бег», где содержание МДА было минимальным. Уровень МДА в группе «ВКД + бег» достоверно повышался относительно его значений в группе «СтД» (в 2,7 раза) и в группе «СтД + бег» (почти в 3,5 раза), что свидетельствует о резком нарастании перекисного окисления липидов при высококалорийной диете, особенно при подключении бега на тредмиле. При переходе к стандартной диете, независимо от физических нагрузок, уровень показателя возвращался к норме (рис. 2).

С целью уточнения морфофункционального состояния печени изучена гистоструктура органа (рис. 3–5). У самок крыс, находившихся на стандартном рационе питания, общая архитектура органа являлась сохранной (рис. 3, а). Гепатоциты полигональной формы с хорошо выраженной мембраной, ядра средние и крупные, со светлой кариоплазмой. При окраске гематоксилин-эозином цитоплазма гепатоцитов имела однородную окраску. На отдельных участках иногда встречались мелкие липидные включения (рис. 3, б). У крыс группы «СтД + бег» общая архитектура органа в целом не нарушена, а гистоструктура практически не отличалась от таковой в группе «СтД» (рис. 3, в). Однако при окраске гематоксилин-эозином цитоплазма гепатоцитов

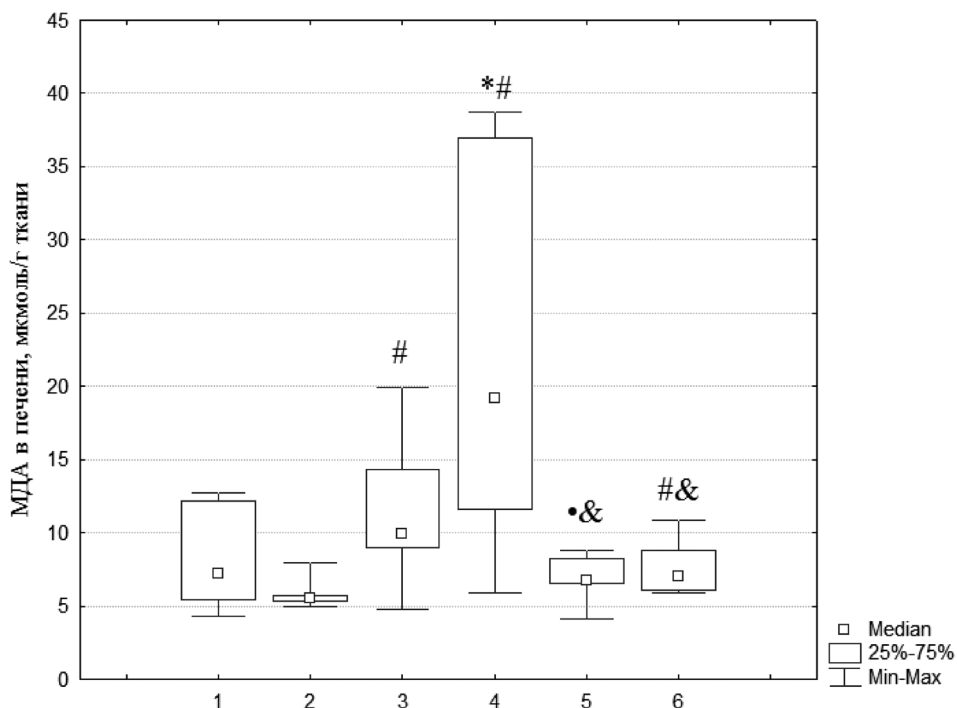


Рис. 2. Уровень МДА в печеночной ткани самок крыс всех экспериментальных групп: 1 – «СтД», 2 – «СтД + бег», 3 – «ВКД», 4 – «ВКД + бег», 5 – «ВКД/СтД», 6 – «ВКД/СтД + бег»

Fig. 2. MDA level in the liver tissue of female rats of all experimental groups: 1 – “StD”, 2 – “StD + running”, 3 – “HCD”, 4 – “HCD + running”, 5 – “HCD/StD”, 6 – “HCD/StD + running”

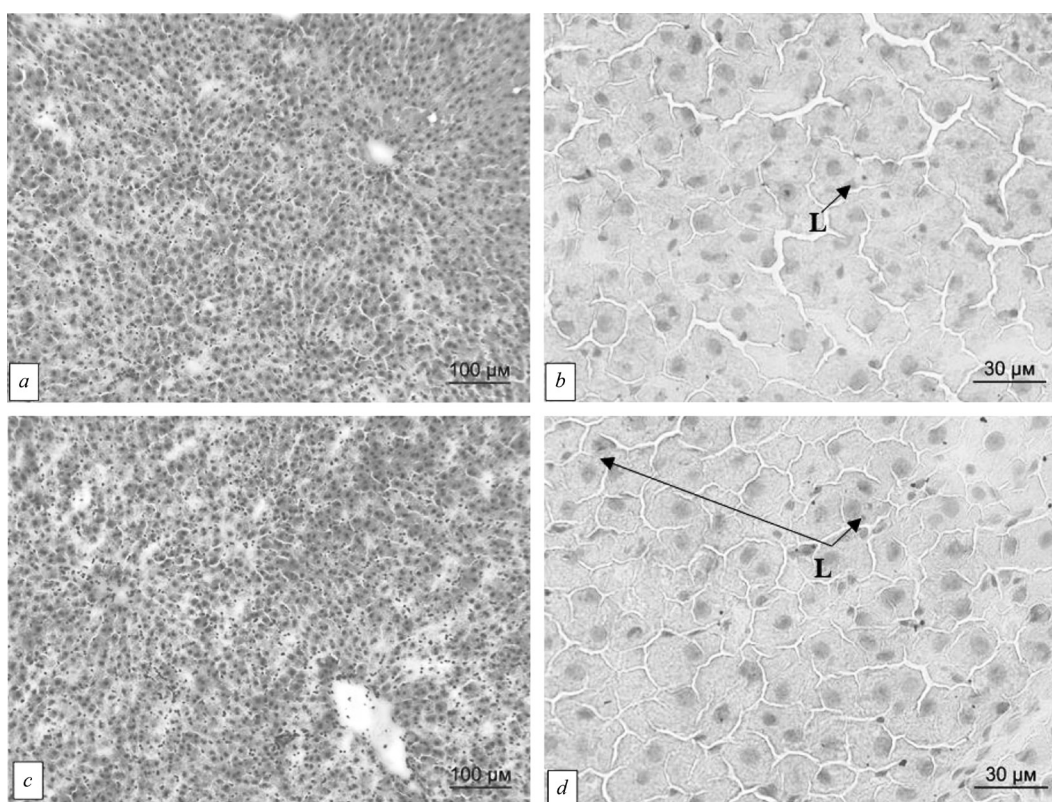


Рис. 3. Гистоструктура печени крыс групп «СтД» (a, b) и «СтД + бег» (c, d). L – липидные включения. Окраска: a, c – гематоксилин-эозином (×100); b, d – суданом III (×400)

Fig. 3. Histostructure of the rat liver from “StD” (a, b) and “StD + running” (c, d) groups. L – lipid inclusions Color: a, c – hematoxylin-eosin (×100); b, d – sudan III (×400)

имела зернистую окраску, выявлялись единичные вакуоли. Некротические и некробиотические изменения гепатоцитов обнаруживались редко, по периферии долек. На отдельных участках в гепатоцитах встречались также мелкие липидные включения (рис. 3, *d*).

У самок крыс группы «ВКД» обнаружено значительное нарушение гистоархитектоники печени (рис. 4, *a*). Дольчатое строение паренхимы органа не визуализировалось. Отмечалось нарушение радиального расположения синусоидов, которые местами были расширены. Гепатоциты с ядрами преимущественно мелкого размера, часто без четких границ. Выявлялась выраженная жировая дистрофия органа (рис. 4, *b*). Липидные капли мелкого и среднего размера обнаруживались во всех гепатоцитах. Часто липиды занимали практически всю клетку, оттесняя ядро и органеллы к периферии – образовывались так называемые перстневидные клетки. После гибели гепатоцитов

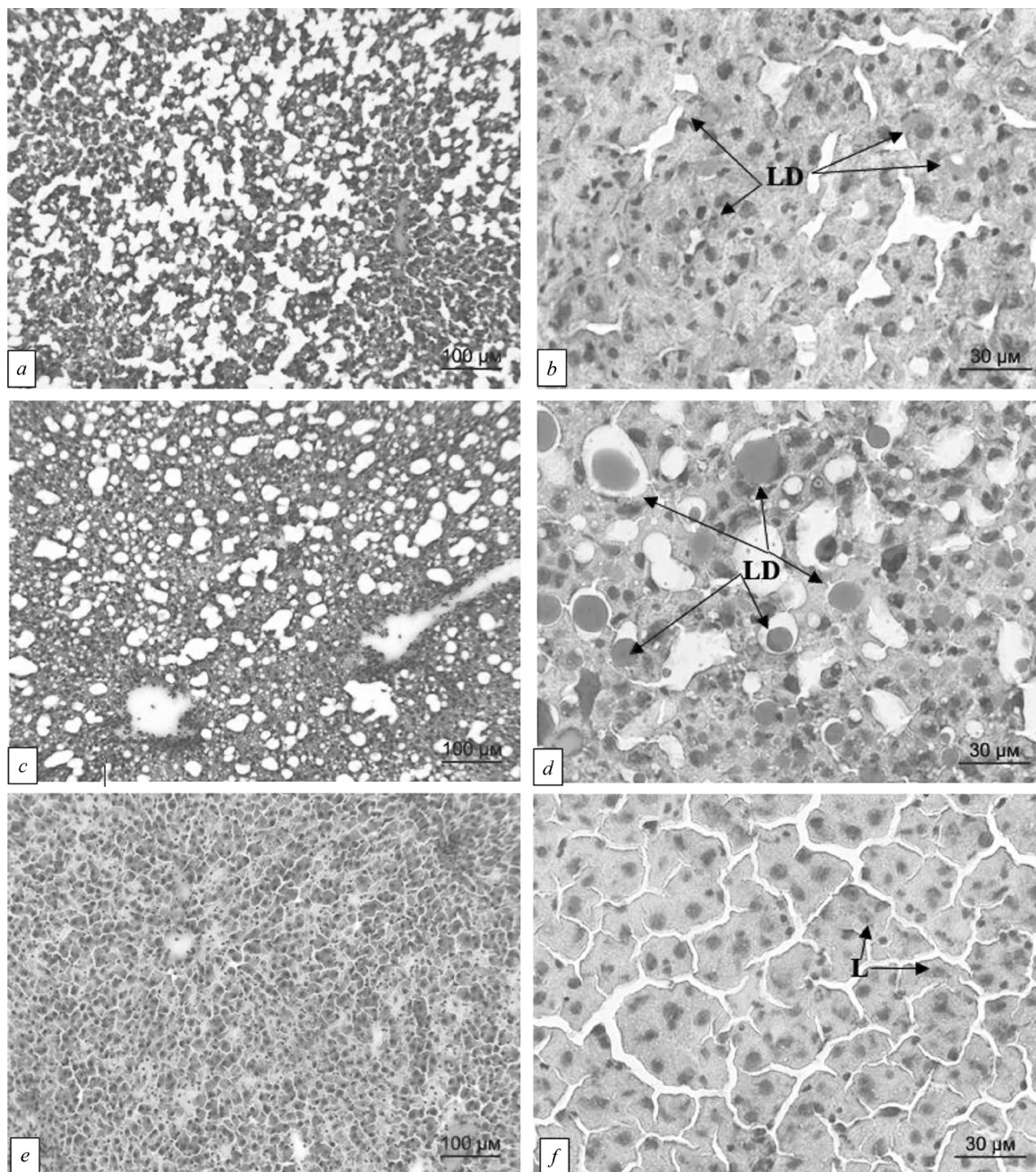


Рис. 4. Гистоструктура печени крыс групп «ВКД» (*a, b*) и «ВКД + бег» (*c, d, e, f*). L – липидные включения, LD – липидные капли. Окраска: *a, c, e* – гематоксилин-эозином ($\times 100$); *b, d, f* – суданом III ($\times 400$)

Fig. 4. Histostructure of the rat liver from “HCD” (*a, b*) and “HCD + running” (*c, d, e, f*) groups. L – lipid inclusions, LD – lipid droplets. Color: *a, c, e* – hematoxylin-eosin ($\times 100$); *b, d, f* – sudan III ($\times 400$)

жировые капли сливались, что приводило к образованию жировых кист, вокруг которых, как правило, развивалась воспалительная реакция.

В группе «ВКД + бег» выявлены животные как со значительным нарушением структуры печени и выраженной жировой дистрофией (рис. 4, *c, d*), так и с сохраненной гистоархитектоникой данного органа (рис. 4, *e, f*).

Через 8 недель после перехода с 8-недельной ВКД на СтД («ВКД/СтД») общая архитектура печени самок крыс была частично изменена (рис. 5, *a*). Синусоиды расширены, на большинстве участков встречались гепатоциты полигональной формы с хорошо выраженной, не нарушенной мембраной и ядрами разных размеров. При окраске гематоксилин-эозином цитоплазма большинства гепатоцитов имела однородную окраску, вакуолей не наблюдалось. Преимущественно по периферии долек обнаруживались немногочисленные некротические и некробиотические изменения гепатоцитов. На отдельных участках имелись мелкие липидные включения (рис. 5, *b*).

У животных группы «ВКД/СтД + бег» в целом наблюдали восстановленную гистологическую картину печени (рис. 5, *c*). В клетках паренхимы печени часто встречались мелкие липидные включения (рис. 5, *d*). Отличительной особенностью являлось наличие двуядерных гепатоцитов, что указывает на активную регенерацию органа.

Оценивая тяжесть диет-индуцированных влияний на состояние печени у самок крыс, представляло интерес сравнить эти данные с ранее изученными показателями у самцов в аналогичных условиях эксперимента [11]. Следует отметить, что у самцов при ВКД наблюдалась гепатомегалия, а у самок она отсутствовала. У самцов зарегистрировано нарастание в сыворотке крови уровней ОХ и ТГ, а у самок – только последнего показателя в группе «ВКД + бег». У самцов выявлено достоверное снижение активности АЛТ и АСТ, а у самок – только АЛТ. Сдвиги со стороны

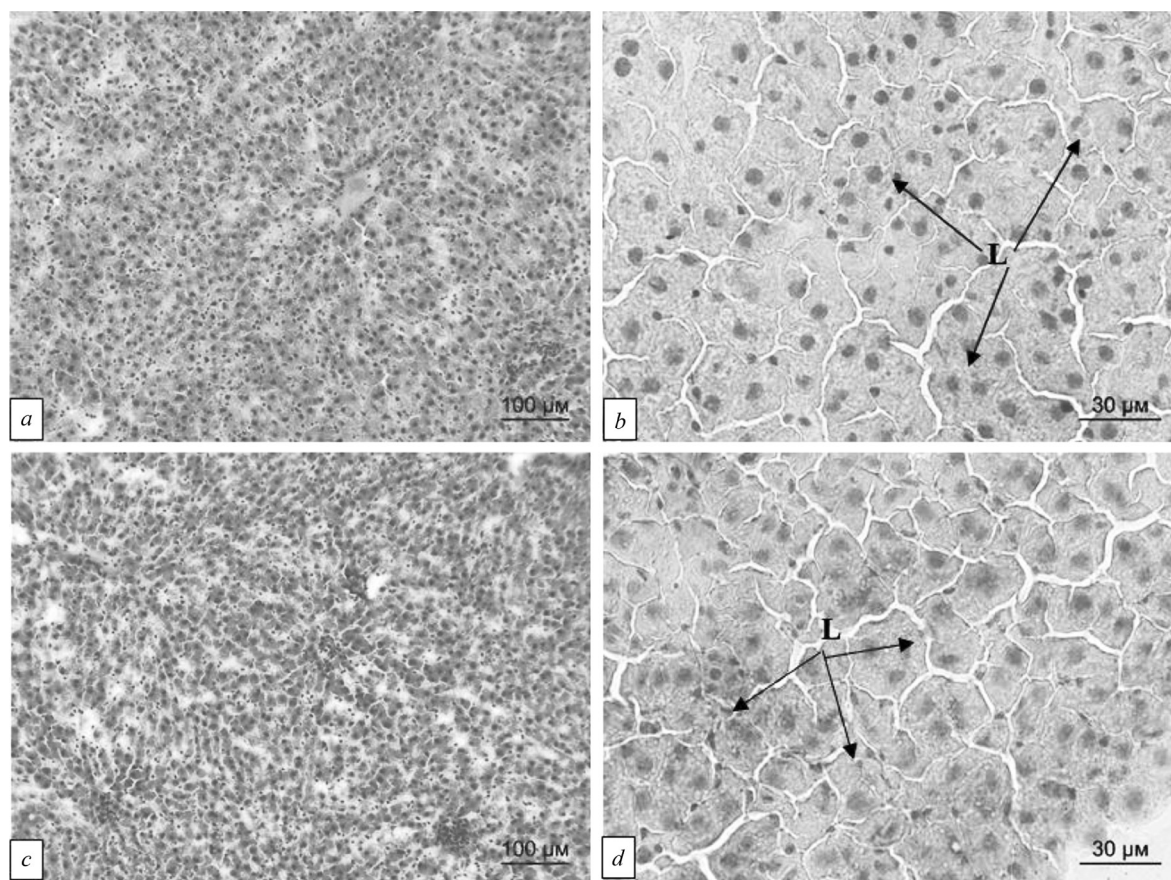


Рис. 5. Гистоструктура печени крыс групп «ВКД/СтД» (*a, b*) и «ВКД/СтД + бег» (*c, d*). L – липидные включения. Окраска: *a, c* – гематоксилин-эозин ($\times 100$); *b, d* – судан III ($\times 400$)

Fig. 5. Histostructure of the rat liver from “HCD/StD” (*a, b*) and “HCD/StD + running” (*c, d*) groups. L – lipid inclusions. Color: *a, c* – hematoxylin-eosin ($\times 100$); *b, d* – sudan III ($\times 400$)

мочевины, ОБ и ЩФ были сопоставимыми у животных обоего пола. Переход на стандартный рацион питания в сочетании с физическими нагрузками и без таковых приводил к нивелированию метаболических сдвигов на фоне ВКД вне зависимости от пола.

Сравнительный анализ полученных данных демонстрирует, что неблагоприятные изменения метаболических показателей в сыворотке крови в большей степени выражены у самцов, чем у самок, хотя степень висцерального ожирения при избыточном питании была сопоставимой у крыс обоего пола. Необходимо подчеркнуть, что физические нагрузки на фоне висцерального ожирения зачастую отягчали сдвиги метаболизма у животных обоего пола.

У самцов в группах «ВКД» и «ВКД + бег», а также у самок в группе «ВКД» выявлено нарушение гистоструктуры печени с выраженной жировой дистрофией органа. Следует подчеркнуть, что только у самок обнаружены индивидуальные особенности в реакции на подключение бега при высококалорийном питании. Среди самок в группе «ВКД + бег» были выявлены животные как с нарушенной, так и с сохраненной гистоархитектоникой печени. Нормализация гистоструктуры печени наблюдалась у животных обоего пола в группе «ВКД/СтД», а признаки восстановления структуры с сопутствующими признаками регенерации органа – в группах «ВКД/СтД + бег», также вне зависимости от пола. Таким образом, жировая дистрофия печени на фоне ВКД при подключении физических нагрузок в большей степени выражена у самцов, чем у самок. Полученные нами результаты согласуются с данными авторов [9, 10] и подтверждают, что при однотипном диет-индуцированном висцеральном ожирении у самок крыс развивается менее выраженное поражение печени, чем у самцов.

Выводы

Содержание самок крыс линии Вистар в течение 16 недель на высококалорийной диете приводит к формированию висцерального ожирения, жировой дистрофии печени, образованию жировых кист и частичной гибели гепатоцитов, что сопровождается рядом нарушений печеночного метаболизма и нарастанием процессов перекисного окисления липидов.

Коррекция диет-индуцированного ожирения путем перехода на стандартную диету вызывает снижение массы и массового коэффициента висцеральной жировой ткани и частичное восстановление архитектоники печени. При этом регистрируется нормализация биохимических показателей сыворотки крови, нарушенных при висцеральном ожирении (триглицериды, общий билирубин, активность ферментативных процессов – АЛТ и ЩФ) и уровня МДА в ткани печени.

Подключение физических нагрузок на фоне продолжающейся высококалорийной диеты приводит к неоднозначным изменениям гистоархитектоники печени, включая как выраженный стеатогепатоз, так и частичное сохранение структуры органа. При этом в группе «ВКД + бег» метаболические нарушения носят более выраженный характер, чем в группе «ВКД».

Переход от высококалорийного питания к стандартной диете в сочетании с физическими нагрузками способствует более полному восстановлению гистоструктуры печени с признаками регенерации органа. При этом масс-метрические и метаболические показатели остаются на уровне нормы, достигнутой при переходе к сбалансированному питанию.

Таким образом, оптимальная коррекция висцерального ожирения, жировой дистрофии печени и ее метаболизма невозможна без нормализации рациона питания у самок крыс линии Вистар. Дополнительный регенерирующий эффект в отношении гистоструктуры печени достигается при сочетанном варианте коррекции – при переходе к сбалансированному питанию и умеренным физическим нагрузкам.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Sarwar, R. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: current perspectives / R. Sarwar, N. Pierce, S. Koppe // *Diabetes Metab. Syndr. Obes.* – 2018. – Vol. 11. – P. 533–542. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S146339>
2. Histologic and metabolic derangement in high-fat, high-fructose, and combination diet animal models / J. S. Lee [et al.] // *Sci. World J.* – 2015. – Art. 306326. <https://doi.org/10.1155/2015/306326>

3. Ganz, M. High fat diet feeding results in gender specific steatohepatitis and inflammasome activation / M. Ganz, T. Csak, G. Szabo // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, N 26. – P. 8525–8534. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i26.8525>
4. Distinct metabolic effects following short-term exposure of different high-fat diets in male and female mice / S. P. Senthil Kumar [et al.] // *Endocr. J.* – 2014. – Vol. 61, N 5. – P. 457–470. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ13-0455>
5. Gender and strain-specific differences in the development of steatosis in rats / S. Stöppeler [et al.] // *Lab. Anim.* – 2013. – Vol. 47, N 1. – P. 43–52. <https://doi.org/10.1177/0023677212473717>
6. Metabolic differences between male and female adolescents with non-alcoholic fatty liver disease, as detected by ultrasound / M. T. Fernandes [et al.] // *Acta Paediatr.* – 2010. – Vol. 99, N 8. – P. 1218–1223. [10.1111/j.1651-2227.2010.01774.x](https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2010.01774.x)
7. Sex and species differences in the development of diet-induced obesity and metabolic disturbances in rodents / I. Maric [et al.] // *Front Nutr.* – 2022. – Vol. 9. – Art. 828522. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.828522>
8. Taraschenko, O. D. Sex differences in high fat-induced obesity in rats: Effects of 18-methoxycoronaridine / O. D. Taraschenko, I. M. Maisonneuve, S. D. Glick // *Physiol. Behav.* – 2011. – Vol. 103, N 3–4. – P. 308–314. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.02.011>
9. Hepatic FGF21 mediates sex differences in high-fat high-fructose diet-induced fatty liver / N. Chukijrunroat [et al.] // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2017. – Vol. 313, N 2. – P. E203–E212. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00076.2017>
10. Ovarian hormones and obesity / B. Leeners [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2017. – Vol. 23, N 3. – P. 300–321. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw045>
11. Морфофункциональное состояние печени крыс-самцов линии Вистар при диет-индуцированном ожирении и его коррекции / А. А. Басалай [и др.] // *Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук.* – 2022. – Т. 19, № 3. – С. 308–320.
12. Инструкция о порядке организации оказания медицинской помощи в отношении профилактики и ведения избыточной массы тела и ожирения [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://belcmt.by/docs/BELMED/3_Instruction_Overweight_and_obesity.pdf. – Дата доступа: 01.02.2023.
13. Experimental models of metabolic syndrome in rats / S. Gancheva [et al.] // *Scripta Scientifica Medica.* – 2015. – Vol. 47, N 2. – P. 14–21. <http://dx.doi.org/10.14748/ssm.v47i2.1145>
14. Impacts of exercise intervention on various diseases in rats / R. Wang [et al.] // *J. Sport Health Sci.* – 2020. – Vol. 9, N 3. – P. 211–227. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2019.09.008>
15. Стальная, И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // *Современные методы в биохимии* / под ред. В. Н. Ореховича. – М., 1977. – С. 66–68.
16. Коржевский, Д. Э. Основы гистологической техники / Д. Э. Коржевский, А. В. Гиляров. – СПб.: Спецлит, 2010. – 95 с.
17. Краткий справочник лабораторных исследований / У. Г. Борейко [и др.]; под ред. В. В. Шилю, О. В. Небыльцовой. – Минск: Смэлток, 2016. – 630 с.
18. Гавриленко, Д. И. Особенности интерпретации некоторых печеночных тестов / Д. И. Гавриленко, Т. Е. Гавриленко. – Гомель: б. и., 2017. – 27 с.

References

1. Sarwar R., Pierce N., Koppe S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: current perspectives. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 2018, vol. 11, pp. 533–542. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S146339>
2. Lee J. S., Kim E. K., Jeon H. J., Nam H. H., Saeed W. K. Histologic and metabolic derangement in high-fat, high-fructose, and combination diet animal models. *Scientific World Journal*, 2015, art. 306326. <https://doi.org/10.1155/2015/306326>
3. Ganz M., Csak T., Szabo G. High fat diet feeding results in gender specific steatohepatitis and inflammasome activation. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, vol. 20, no. 26, pp. 8525–8534. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i26.8525>
4. Kumar S. S., Shen M., Spicer E. G., Goudjo-Ako A. J., Stumph J. D., Zhang J., Haifei S. Distinct metabolic effects following short-term exposure of different high-fat diets in male and female mice. *Endocrine Journal*, 2014, vol. 61, no. 5, pp. 457–470. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ13-0455>
5. Stöppeler S., Palmes D., Fehr M., Hölzen J. P., Zibert A., Sijaj R., Schmidt H. H.-J., Spiegel H.-U. Gender and strain-specific differences in the development of steatosis in rats. *Laboratory Animals*, 2013, vol. 47, no. 1, pp. 43–52. <https://doi.org/10.1177/0023677212473717>
6. Fernandes M. T., Ferraro A. A., Azevedo R. A., Fagundes Neto U. Metabolic differences between male and female adolescents with non-alcoholic fatty liver disease, as detected by ultrasound. *Acta Paediatrica*, 2010, vol. 99, no. 8, pp. 1218–1223. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2010.01774.x>
7. Maric I., Krieger J.-P., Velden P., Borchers S., Asker M., Vujicic M., Asterholm I. M., Skibicka K. P. Sex and species differences in the development of diet-induced obesity and metabolic disturbances in rodents. *Frontiers in Nutrition*, 2022, vol. 9, art. 828522. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.828522>
8. Taraschenko O. D., Maisonneuve I. M., Glick S. D. Sex differences in high fat-induced obesity in rats: Effects of 18-methoxycoronaridine. *Physiology Behavior*, 2011, vol. 103, no. 3–4, pp. 308–314. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.02.011>
9. Chukijrunroat N., Khamphaya T., Weerachayaphorn J., Songserm T., Saengsirisuwan V. Hepatic FGF21 mediates sex differences in high-fat high-fructose diet-induced fatty liver. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 2017, vol. 313, no. 2, pp. E203–E212. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00076.2017>
10. Leeners B., Geary N., Tobler P. N., Asarian L. Ovarian hormones and obesity. *Human Reproduction Update*, 2017, vol. 23, no. 3, pp. 300–321. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw045>

11. Basalai A. A., Kuznetsova T. E., Mityukova T. A., Polulyakh O. E., Chudilovskaya E. N., Kostyuchenko N. S., Shcherbakov Ya. V., Khrustaleva T. A., Gubkin S. V. Morphofunctional state of the liver of male Wistar rats during diet-induced obesity and its correction. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2022, vol. 19, no. 3, pp. 308–320 (in Russian).

12. *Instruction on the procedure for organizing the provision of medical care in relation to the prevention and management of overweight and obesity*. Available at: https://belcmt.by/docs/BELMED/3_Instruction_Overweight_and_obesity.pdf (accessed 01.02.2023) (in Russian).

13. Gancheva S., Zhelyazkova-Savova M., Galunska B., Chervenkov T. Experimental models of metabolic syndrome in rats. *Scripta Scientifica Medica*, 2015, vol. 47, no. 2, pp. 14–21. <http://dx.doi.org/10.14748/ssm.v47i2.1145>

14. Wang R., Tian H., Guo D., Tian Q., Yao T., Kong X. Impacts of exercise intervention on various diseases in rats. *Journal of Sport and Health Science*, 2020, vol. 9, no. 3, pp. 211–227. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2019.09.008>

15. Stal'naya I. D., Garishvili T. G. Method for the determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid. *Sovremennye metody v biokhimiі [Modern methods in biochemistry]*. Moscow, 1977, pp. 66–68 (in Russian).

16. Korzhevskii D. E., Gilyarov A. V. *Fundamentals of histological technique*. St. Petersburg, Spetslit Publ., 2010. 95 p. (in Russian).

17. Boreiko U. G., Glazkova S. E., Efimova N. N., Zhdanova O. V., Kovaleva O. V., Kugaev O. L. [et al.]. *Concise reference book of laboratory research*. Minsk, Smeltok Publ., 2016. 630 p. (in Russian).

18. Gavrilenko D. I., Gavrilenko T. E. *Peculiarities of interpretation of some liver tests*. Gomel, 2017. 27 p. (in Russian).

Информация об авторах

Басалай Анастасия Александровна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: anastasiya.basalay@gmail.com

Митюкова Татьяна Алексеевна – канд. биол. наук, гл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: mityukovat@gmail.com

Кузнецова Татьяна Евгеньевна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: tania_k@mail.ru

Чудиловская Екатерина Николаевна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: e.chudilovskaya@gmail.com

Полулях Ольга Евгеньевна – науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: oilipol@yandex.ru

Костюченко Никита Сергеевич – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nkostuchenko888@gmail.com

Щербakov Яков Валентинович – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: yakov.shcherbakov.98@gmail.com

Губкин Сергей Владимирович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: gubkin@yandex.ru

Information about the authors

Anastasia A. Basalai – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: anastasiya.basalay@gmail.com

Tatyana A. Mityukova – Ph. D. (Biol.). Chief Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: mityukovat@gmail.com

Tatyana E. Kuznetsova – Ph. D. (Biol.). Leading Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: tania_k@mail.ru

Katerina N. Chudilovskaya – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: e.chudilovskaya@gmail.com

Olga Y. Polulyakh – Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: oilipol@yandex.ru

Mikita S. Kastsyuchenka – Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nkostuchenko888@gmail.com

Yakov V. Shcherbakov – Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yakov.shcherbakov.98@gmail.com

Siarhei V. Hubkin – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: gubkin@yandex.ru