

ГІСТОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ВІСЦЕРАЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ У НАЩАДКІВ GESTAЦІЙНО СТРЕСОВАНИХ МАТЕРІВ

Сергієнко Л. Ю., Перець О. В., Картавцева О. В., Черевко Г. М., Толмачова Л. М.,
Бондаренко Т. В.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України», м. Харків

За даними ВООЗ, на початку 21 сторіччя понад 1,5 млрд чоловік на Землі страждають від надмірної ваги, що клінічно визначається як ожиріння різного ступеня [1]. При цьому складний комплекс гормонально-метаболических порушень, притаманний ожирінню, обумовлює його патогенетичний зв'язок з артеріальною гіпертензією, ішемічною хворобою серця, цукровим діабетом 2 типу, зниженням дітородної функції у жінок та потенції у чоловіків ще в молодому репродуктивному віці [2–5]. Тим самим ожиріння не тільки погіршує здоров'я та якість життя людей, а й впливає на формування несприятливої демографічної ситуації. В зв'язку з цим ожиріння є однією з найбільш актуальних медико-соціальних проблем, вирішенню якої у розвинених країнах приділяється велика увага.

За останні роки, завдяки значному розширенню як клінічних, так і експериментальних досліджень у площині цієї проблеми, значно змінилися та розширилися уявлення про витоки та механізми розвитку даної патології.

Так, з 90-х років минулого сторіччя, коли була створена та набула визнання теорія «ембріонального походження хронічних хвороб дорослого віку» [6], згідно з якою до низки хвороб, що маніфестуються у дорослих але обумовлені глюкокортикоїдним імпринтингом геному фетальних клітин, ста-

ли відносити і ожиріння. Погляд на ожиріння як перинатально детерміновану патологію базується на тому, що надлишкове формування жирової тканини є патогномонічним симптомом при артеріальній гіпертензії, ішемічній хворобі серця, метаболическому синдромі, цукровому діабеті 2 типу, полікістозі яєчників та інших хворобах, для яких пов'язаність з умовами розвитку плода в утробі матері доведена безперечно.

Однак, якщо генетичні чинники, що відповідають за виникнення ожиріння, на сьогодні визначені, то питання, на якому з етапів вагітності зміна внутрішнього середовища плода (і, перш за все, зростання концентрації глюкокортикоїдів у його організмі) може спричинити розвиток ожиріння в наступному житті, і чи залежить виразність розвитку патологічного процесу від дії будь-яких стресорів у дорослому віці, потребують свого подальшого дослідження.

Метою даної роботи було вивчення гістофункціональних особливостей вісцеральної жирової тканини в нащадків гестаційно стресованих матерів у залежності від терміну вагітності, в якому мав місце соціально-емоційний стрес у самиць, а також встановлення характеру пов'язаності структури жирової тканини в ембріонально стресованих нащадків з дією на них стрес-чинників у післянатальному житті.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено на нащадках жіночої статі щурів популяції Вістар. Були досліджені нащадки інтактних самиць, що склали контрольну групу (гр. К), а також щури, матері яких зазнали впливу соціально-емоційного стресу в першому триместрі вагітності (гр. S-I) та першому та третьому триместрах (тобто спочатку з 2 по 8, а потім — з 15 по 20 добу вагітності) (гр. S I+III). При роботі з експериментальними тваринами дотримувалися вимог відповідних нормативних документів [7]. Соціально-емоційний стрес у вагітних самиць відтворювали за методикою N. C. Pratt [8]. По досягненню всіма нащадками 11-місячного віку їх позбавляли їжі на 2 доби, а через 5 днів після відновлення харчування у них відтворювали стрес гіпокінезії шляхом утримання тварин у пеналах (1 година \times 3 доби). На початку експерименту та через 1 місяць після його закінчення щурів зважували. Шляхом знеживлення (спочатку частини, а потім усіх) тварин та відсепарування вісцеральної жирової тканини визначали її загальну масу та перерозподіл жиру по фракціях.

Для гістологічного дослідження окремо виділяли мезентеріальну жирову тканину, з якої були виготовлені гістологічні зрізи завтовшки 3–5 мкм. Зафарбовані гематоксилін-еозином гістологічні зрізи вивчені за допомогою світлового мікроскопа «Jenaval», фотографування виконано мікрофотонасадкою МФН-1. В даній статті наведені результати візуальної оцінки гістологічної структури мезентеріальної жирової тканини щурів усіх досліджуваних груп.

Отримані кількісні показники проаналізовано статистично. Перевірявся характер розподілу даних у виборках. Дані представлені як середнє арифметичне (\bar{X}) та його похибка ($S_{\bar{X}}$). Перевірку нульової гіпотези проведено на рівні значущості $P < 0,05$. Статистичний аналіз проведено з використанням пакету прикладних програм StatGraphics Plus for Windows v3.

Отримані кількісні показники проаналізовано статистично. Перевірявся характер розподілу даних у виборках. Дані представлені як середнє арифметичне (\bar{X}) та його похибка ($S_{\bar{X}}$). Перевірку нульової гіпотези проведено на рівні значущості $P < 0,05$. Статистичний аналіз проведено з використанням пакету прикладних програм StatGraphics Plus for Windows v3.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як видно з таблиці, в базальному стані (тобто на початку експерименту) маса тіла 11-місячних самиць щурів — нащадків матерів, стресованих у першому триместрі вагітності, статистично значуще вища, ніж у контрольних тварин ($P_{II-I} < 0,05$), в той час як у нащадків гр. S I+III статистично значущого зростання цього показника не спостерігається. Наприкінці експерименту відмічається стабільність маси тіла у контрольних тварин, ще більше зростання показника маси тіла в гр. S-I порівняно з інтактними нащадками ($P_{II-I} < 0,05$) та відсутність змін маси тварин з гр. S I+III.

Маса вісцеральної жирової тканини на початку експерименту в нащадків гр. S-I найбільша і статистично значуще перевищує показник гр. К та S I+III ($P < 0,05$). Ця ж група (S-I) демонструє статистично значущий приріст маси вісцеральної жирової тканини наприкінці експерименту як по відношенню до свого базового показни-

ка ($P_{4-3} < 0,05$), так і порівняно з групою контролю та гр. S I+III. При цьому аналіз того, який відсоток складає мезентеріальна жирова тканина в загальній масі вісцерального жиру показує, що як на початку, так і наприкінці експерименту її більше всього у тварин гр. S I+III, а найменше — в гр. К. Після стресування цей показник зростає у всіх тварин, але це зростання має статистично значущий рівень в контролі та в гр. S-I.

Гістологічне дослідження зрізів жирової тканини показало, що ця тканина сформована окремими часточками різних розмірів, розділеними прошарками сформованої або пухкої сполучної тканини, в якій проходять кровеносні судини різного калібру (рис. 1). Самі часточки складаються з достатньо крупних клітин з округлими або неправильно овальними контурами, цитоплазма яких при застосованому фарбуванні виглядає світлою, гомогенною, а ядра — пле-

Т а б л и ц я

Маса тіла, вісцеральної жирової тканини та відсоток в ній мезентеріальної фракції у самиць — нащадків гестаційно стресованих матерів ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$, n = 5)

Показник	Група		
	I. Контроль (інтактні нащадки)	II. Стрес матерів в першому триместрі вагітності (S-I)	III. Стрес матерів в першому та третьому триместрі вагітності (S I+III)
Маса тіла, г			
Базальний стан (1)	244,4 ± 5,1	265,3 ± 6,6 P _{II-I} < 0,05	258,6 ± 6,6
Кінець експерименту (2)	246,7 ± 5,2	273,0 ± 7,4 P _{II-I} < 0,05	250,5 ± 7,4
Маса вісцеральної жирової тканини, г			
Базальний стан (3)	8,7 ± 1,6	13,3 ± 1,3 P _{II-I} < 0,05	10,9 ± 2,2 P _{III-II} < 0,05
Кінець експерименту (4)	14,9 ± 1,8	23,2 ± 3,3 P ₄₋₃ < 0,05 P _{II-I} < 0,02	14,6 ± 1,4 P _{III-II} < 0,05
% мезентеріальної жирової тканини			
Базальний стан (5)	22 ± 2	26 ± 2	34 ± 2 P _{III-I} < 0,05
Кінець експерименту (6)	33 ± 2 P ₆₋₅ < 0,05	34 ± 2 P ₆₋₅ < 0,05	36 ± 2

скаті, розташовані ексцентрично. Жирові клітини лежать щільно одна біля одної; між ними знаходяться дуже тонкі (витягнуті) клітини та волокна сполучної тканини. За розмірами в базальному стані у інтактних тварин адипоцити різні — від мілких до крупних (у 2–3 рази більших) (рис. 2). Наприкінці експерименту в адипоцитах контрольних тварин накопичується значна кількість жиру і їх розмір зростає в декілька разів (рис. 3).

У нащадків матерів, стресованих в першому триместрі вагітності (гр. S-I), ще в базальному стані розмір адипоцитів наближається до розміру у контрольних тварин після стресу (рис. 4), наприкінці експерименту накопичення жиру в клітинах зростає, а розмір жирових клітин стає надзвичайно великим (рис. 5). Поряд з цим серед функціонально зрілих клітин нащадків гр. S-I з'являються вогнища новоутворення жирової тканини (рис. 6), що виглядають як скупчення клітин з еозинофільною цитоплазмою та центрально розташованими ядра-

ми. Форма клітин та їх скупчень неправильна: цитоплазма більшості клітин виглядає сітчастою за рахунок того, що в ній знаходяться дуже дрібні краплі жиру, які ще не злилися між собою. Більш зрілі клітини, де інтрацелюлярний жир вже перетворився на одну або кілька крупних вакуолей, мають вигляд, типовий для адипоцитів. У тварин гр. S-I таких вогнищ гіперплазії жирових клітин відносно невелика кількість (1–2 на 20 серійних зрізів), що дає підставу розцінювати тип ожиріння, притаманного цим нащадкам, як гіпертрофічно-гіперпластичний.

Основна маса мезентеріальної жирової тканини у нащадків S I+III представлена крупними адипоцитами, які хоч і збільшуються в розмірі наприкінці експерименту, тобто після дії додаткових стрес-чинників, але цей процес функціональної гіпертрофії виражено менше, ніж у тварин гр. S-I (рис. 7). Разом з тим у жировій тканині щурів-нащадків матерів, що перенесли стрес у першій та третій третинах вагітності та були піддані додатковій дії стресорів, дуже часто

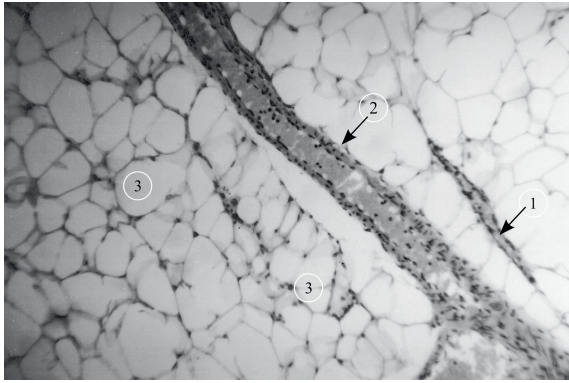


Рис. 1. Гістоструктура мезентеріальної жирової тканини самиці щура — нащадка інтактної матері.
1 — капіляр; 2 — вена м'язового типу; 3 — адипоцити.
Мікрофото. Фарбування геметоксилін-еозином, зб. $\times 150$.

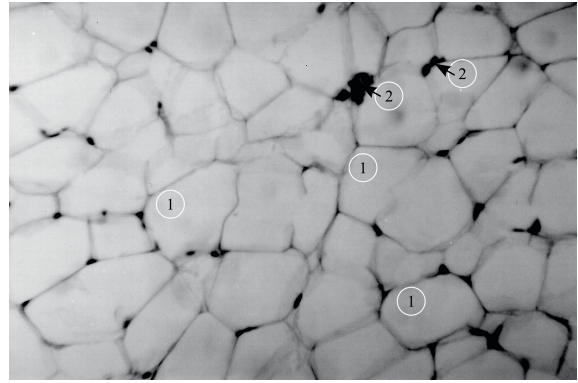


Рис. 4. Гістоструктура мезентеріальної жирової тканини самиці щура — нащадка гестаційно стресованої матері (гр. S-I).
1 — адипоцити великих розмірів; 2 — поперечний зріз капіляра.
Мікрофото. Фарбування геметоксилін-еозином, зб. $\times 300$.

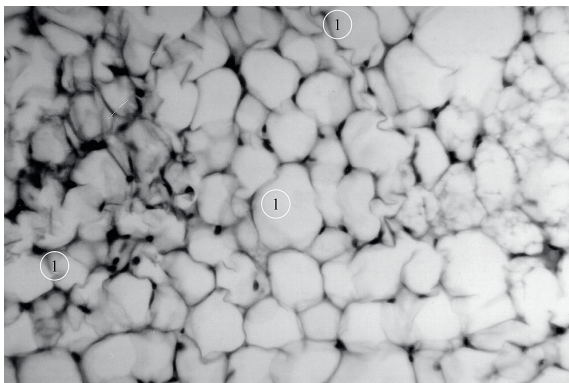


Рис. 2. Гістоструктура мезентеріальної жирової тканини самиці щура — нащадка інтактної матері (базальний стан).
1 — адипоцити різного калібру.
Мікрофото. Фарбування геметоксилін-еозином, зб. $\times 300$.

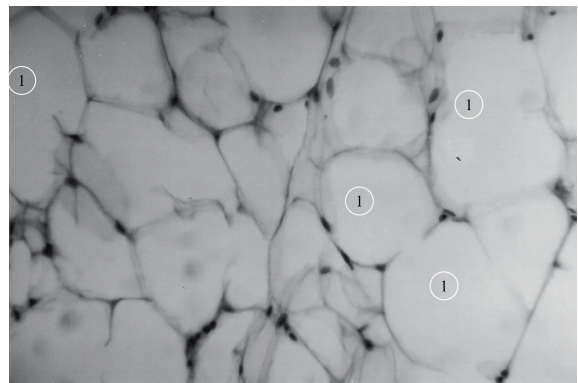


Рис. 5. Гістоструктура мезентеріальної жирової тканини самиці щура — нащадка гестаційно стресованої матері (гр. S-I) після додаткового стресування.
1 — дуже велике накопичення жиру в адипоцитах.
Мікрофото. Фарбування геметоксилін-еозином, зб. $\times 300$.

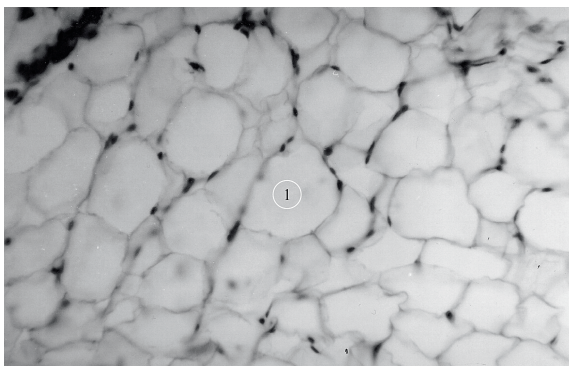


Рис. 3. Гістоструктура мезентеріальної жирової тканини самиці щура — нащадка інтактної матері після додаткового стресування.
1 — тотально збільшені у розмірах адипоцити.
Мікрофото. Фарбування геметоксилін-еозином, зб. $\times 300$.

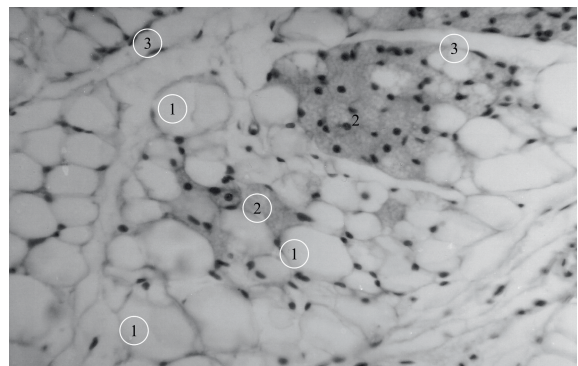


Рис. 6. Гістоструктура мезентеріальної жирової тканини самиці щура — нащадка гестаційно стресованої матері (гр. S-I) після додаткового стресування.
1 — адипоцити; 2 — вогнища гіперплазії жирової тканини; 3 — венула.
Мікрофото. Фарбування геметоксилін-еозином, зб. $\times 150$.

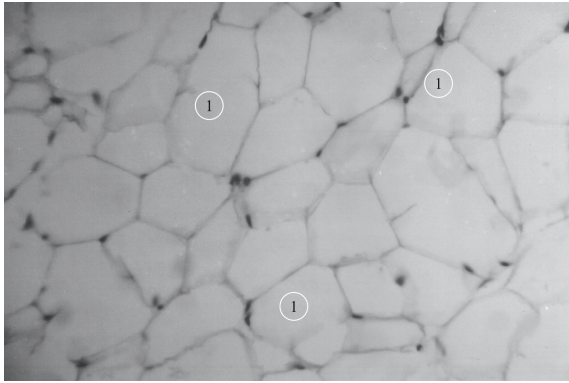


Рис. 7. Гістоструктура мезентеріальної жирової тканини самиці щура — нащадка гестаційно стресованої матері (гр. S I+III) після додаткового стресування.
1 — гіпертрофічні адипоцити.
Мікрофото. Фарбування геметоксилін-еозином, зб. $\times 300$.

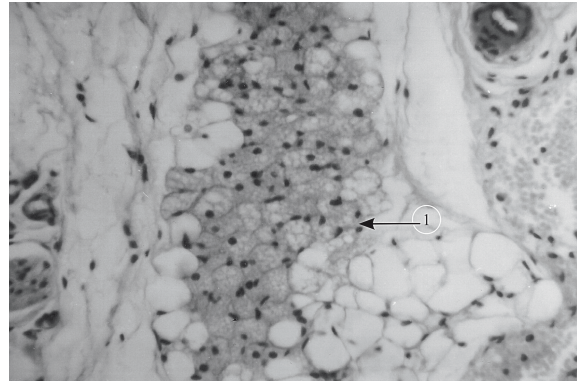


Рис. 9. Гістоструктура мезентеріальної жирової тканини самиці щура — нащадка гестаційно стресованої матері (гр. S I+III) після додаткового стресування.
1 — велике вогнище гіперплазії адипоцитів.
Мікрофото. Фарбування геметоксилін-еозином, зб. $\times 150$.

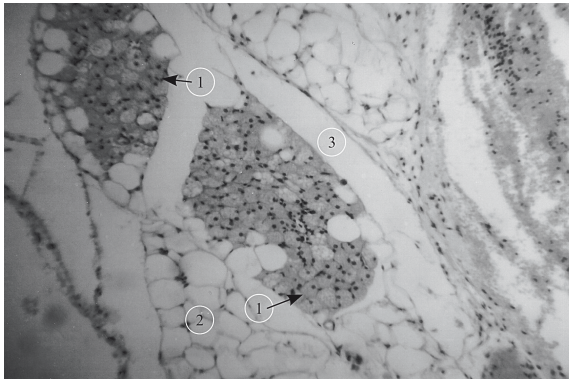


Рис. 8. Гістоструктура мезентеріальної жирової тканини самиці щура — нащадка гестаційно стресованої матері (гр. S I+III) після додаткового стресування.
1 — вогнища гіперплазії адипоцитів; 2 — зрілі адипоцити; 3 — венула.
Мікрофото. Фарбування геметоксилін-еозином, зб. $\times 150$.

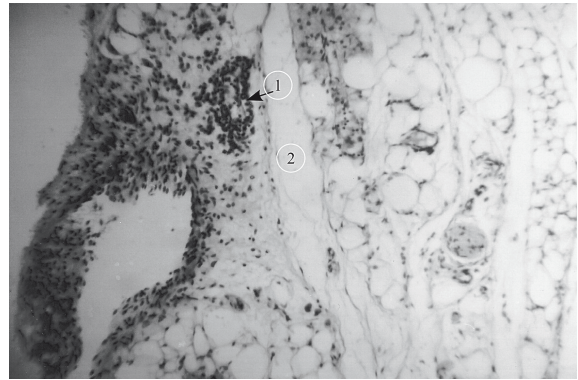


Рис. 10. Гістоструктура мезентеріальної жирової тканини самиці щура — нащадка гестаційно стресованої матері (гр. S I+III) після додаткового стресування.
1 — вогнища гіперплазії адипоцитів та лімфоцитарної інфільтрації (crown-like формування); 2 — венула.
Мікрофото. Фарбування геметоксилін-еозином, зб. $\times 150$.

(1–2 на 5–7 серійних зрізів) зустрічаються місця новоутворення жирових клітин. Вогнища гіперплазії різні за розміром (рис. 8), іноді дуже великі (рис. 9). В середині цих ділянок та на периферії спостерігаються поля лімфоцитарної інфільтрації, деструктивні зміни в ендотелії кровоносних судин та діapedез еритроцитів у навколишню сполучну тканину (рис. 8, 10). Оскільки частина гіпертрофічно змінених адипоцитів у таких ділянках гине, на їх місцях спостерігаються вінецьподібні скупчення макрофагальних елементів (рис. 10). Сукупність вказаних ознак свідчить про наявність виразних процесів асептичного запалення жирової тканини в даній групі тварин.

Таким чином, показники зростання ваги вісцерального жиру та характер гістоструктури жирової тканини в нащадків інтактних матерів, яких піддавали стресу голодування та гіпокінезії, свідчить про розвиток у цих тварин гіпертрофічного типу ожиріння. В той же час, додаткове стресування нащадків гр. S-I не тільки призводить до виразної гіпертрофії адипоцитів, але й стимулює їх розмноження. Тому ожиріння, притаманне цим тваринам, можна розцінити як гіпертрофічно-гіперпластичне. Такий саме змішаний тип ожиріння має місце і в тварин групи S I+III, хоча процеси новоутворення тканини більш виразні, ніж у гр. S-I, а на тлі цих

процесів розвивається запалення жирової тканини.

В сучасній літературі процесам запалення жирової тканини, що супроводжують ожиріння, приділяється велика увага [9–12]. Показано, що саме запалення в жировій тканині суттєво впливає на метаболічну та секреторну функцію цієї тканини та відіграє вирішальну роль у розвитку процесів, патогенетично пов'язаних з ожирінням. Так, на сьогодні підтверджена наявність тісного зв'язку запалення жирової тканини з механізмами цукрового діабету 2 типу [12]. Зокрема встановлено, що воно має вплив на дисфункцію β -клітин, на розвиток інсулінорезистентності, на підвищен-

ня продукції вільних жирних кислот, надходження яких у печінку сприяє її стеатозу [13]. Вважається, що саме запалення жирової тканини відповідає за зміну в секреції таких адипокінів, що відіграють патогенетичну роль при цукровому діабеті, як адипонектин, лептин, фактор некрозу пухлин- α , ІЛ-6, МСР-1 та інші. [14]. При цьому поява скупчень макрофагів у місцях загибелі адипоцитів, що структурно визначається як утворення подібні до вінця (crown-like structures), є ознакою не тільки запалення жирової тканини, а й корелятом глибоких метаболічних порушень — предикторів метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу [11].

ВИСНОВКИ

1. Виразність ожиріння та тип реакції мезентеріальної жирової тканини на повторні стреси в післянатальному житті пов'язані з умовами розвитку особини в ембріональному періоді. У нащадків інтактних матерів післянатальні стреси індукують формування гіпертрофічного типу ожиріння. У нащадків матерів, стресованих у першому триместрі вагітності, такі стреси є причиною гіпертрофічно-гіперпластичного типу ожиріння. У нащадків матерів, стресованих на початку та наприкінці вагітності, підданих дії стресу в дорослому житті, гіпертрофічно-гіперпластичний тип ожиріння супроводжується запаленням жирової тканини.
2. Ознаки гіпертрофії, гіперплазії та запалення жирової тканини в тварин — нащадків гестаційно стресованих матерів обґрунтовують віднесення таких нащадків до груп ризику розвитку метаболічних порушень, патогенетично пов'язаних з маніфестацією метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.
3. Дія повторних стресорів у дорослому житті на організм антенатально стресованих нащадків відіграє роль пускового механізму формування у них тканинних реакцій з боку вісцеральної жирової тканини — предикторів ожиріння та продіабетичних процесів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Socioeconomic status and obesity in adult populations of developing countries: a review [Text] / C.A. Monteiro, E.C. Moura, W.L. Conde, B.M. Popkin // Bull. World Hlth Organisation. — 2004. — Vol. 82. — P. 940–946.
2. Бейол Е. А. Ожирение [Текст] / Е. А. Бейол, В. А. Оленева, В. А. Шатерников. — М.: Медицина, 1986. — 192 с.
3. Gordon T. Obesity and cardiovascular disease: the Framingham Study [Text] / T. Gordon, W. B. Kannel // Clin Endocrinol Metabol. — 1976. — Vol. 5. — P. 367–374.
4. Васюкова Е. А. Ожирение и сахарный диабет [Текст] / Е. А. Васюкова, А. М. Грановская-Цветкова // Клинич. медицина. — 1979. — № 1. — С. 70–76.
5. Links between nutrition and reproduction: signals, sensors and pathways controlling GnRH secretion [Text] / D.L. Foster, S. Nagatani, D.C. Bucholtz [et al.] // Nutrition and reproduction. — [B. L.]: Baton Rouge, 1998. — P. 1–22.
6. Barker D. J. P. In utero programming of chronic disease [Text] / D.J.P. Barker // Clin. Science. — 1998. — Vol. 95. — P. 115–128.

7. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах [Текст] // Ендокринологія. — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 142–145.
8. Pratt N. C. Effect of social stress during early pregnancy on litter, size, and sex ratio in golden hamster [Text] / N. C. Pratt, R. D. Lisk // J. Reprod. Fert. — 1989. — Vol. 87. — P. 763–769.
9. Wellen K. E. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue [Text] / K. E. Wellen, G. S. Hotamisligil // J. Clin. Invest. — 2003. — Vol. 112. — P. 1785–1788.
10. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue [Text] / S. P. Weisberg, D. McCann, M. Desai [et al.] // J. Clin. Invest. — 2003. — Vol. 112. — P. 1796–1808.
11. Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice [Text] / I. Murano, G. Barbatelli, V. Parisani [et al.] // J. of Lipid Res. — 2008. — Vol. 49. — P. 1562–1568.
12. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance [Text] / H. Xu, G. T. Barnes, Q. Yang [et al.] // J. Clin. Invest. — 2003. — Vol. 112. — P. 1821–1830.
13. Adipocyte Apoptosis, a Link between Obesity, Insulin Resistance, and Hepatic Steatosis [Text] / N. Alkhoury, A. Gornicka, M. P. Berk [et al.] // J. Biol. Chem. — 2010. — Vol. 285. — P. 3428–3438.
14. Cinti S. Transdifferentiation properties of adipocytes in the adipose organ [Text] / S. Cinti // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. — 2009. — Vol. 297, № 1. — P. 977–986.

ГІСТОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ВІСЦЕРАЛЬНОЇ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ У НАЩАДКІВ ГЕСТАЦІЙНО СТРЕСОВАНИХ МАТЕРІВ

Сергієнко Л. Ю., Перець О. В., Картавцева О. В., Черевко Г. М., Толмачова Л. М., Бондаренко Т. В.

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України», м. Харків

Проведено порівняльне вивчення гістоструктури жирової тканини у самиць щурів — нащадків інтактних та гестаційно стресованих матерів у базальному стані та після дії стрес-чинників. Знайдено, що стресування статевозрілих нащадків призводить до формування гіпертрофічного типу ожиріння в інтактних тварин та провокує гіперплазію адипоцитів та запалення жирової тканини у щурів, стресованих у антенатальному періоді.

Ключові слова: гестаційний стрес, нащадки, ожиріння, запалення жирової тканини.

ГИСТОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ВИСЦЕРАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ У ПОТОМКОВ ГЕСТАЦИОННО СТРЕССИРОВАННЫХ МАТЕРЕЙ

Сергиенко Л. Ю., Перец Е. В., Картавцева О. В., Черевко А. Н., Толмачева Л. Н., Бондаренко Т. В.

ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского АМН Украины», г. Харьков

Проведено сравнительное изучение гистоструктуры жировой ткани у самок крыс — потомков интактных и гестационно стрессированных матерей в базальном состоянии и после воздействия стресс-факторов. Найдено, что стрессирование половозрелых потомков приводит к формированию гипертрофического типа ожирения у интактных животных и провоцирует гиперплазию адипоцитов, сопровождающуюся воспалением в жировой ткани, у крыс, стрессированных в антенатальном периоде.

Ключевые слова: гестационный стресс, потомки, ожирение, воспаление жировой ткани.