
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2013
УДК: 616.361-007.272:616.37:616-005

**НАРУШЕНИЕ ПЕЧЕНОЧНОЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ
В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПЕЧЕНИ
ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА У КРЫС**

И.В. ТВЕРДОХЛЕБ¹, И.Н. БЕРЕГОВЕНКО², Д.Ю. ЗИНЕНКО²

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепропетровск (1)
Городская клиническая больница №16, г. Кривой Рог (2)

**SIGNIFICANCE OF HEPATIC MICROCIRCULATION DAMAGE
IN DEVELOPMENT OF PATHOLOGICAL CHANGES OF THE LIVER
IN EXPERIMENTAL ACUTE PANCREATITIS IN RATS**

I.V. TVERDOKHLEB¹, I.N. BEREGOVENKO², D.YU. ZINENKO²

GU «The Dnepropetrovsk medical Academy Ministry of health of Ukraine», Dnepropetrovsk (1)
City clinical hospital №16, Krivoy Rog (2)

В экспериментальных моделях острого панкреатита обнаруживается существенная реакция со стороны печеночной микроциркуляции, которая зависит от характера патоморфологических изменений в составе поджелудочной железы. Такая реакция имеет фазовый характер, включающий: 1) активацию печеночной циркуляции, в первую очередь портального компонента; 2) развитие воспалительных, дистрофических, деструктивных и некротических изменений в печеночной паренхиме наряду с микроциркуляторными; 3) восстановительно-адаптационные или декомпенсационные процессы в системе микроциркуляции печени и печеночной паренхиме в зависимости от степени панкреатогенной токсемии.

Ключевые слова: модели острого панкреатита, крысы, поджелудочная железа, печень, микроциркуляция, гистологическая структура.

The visible reaction of hepatic microcirculation in the experimental models of acute pancreatitis was depended on character of pathomorphological changes in pancreas. This reaction demonstrated the phase character including: 1) activation of hepatic circulation, first of all in portal component; 2) development of inflammatory, dystrophic, destructive and necrotic changes in hepatic parenchyme together with microcirculation disorders; 3) recovery and adaptation or decompensation processes in microcirculation system of liver and hepatic parenchyme depending on the degree of pancreatogenic toxemia.

Key words: models of acute pancreatitis, rats, pancreas, liver, microcirculation, histological structure.

Введение

Печень является первым органом-мишенью, на который приходится главный удар панкреатогенной токсемии в виде активированных панкреатических и лизосомальных ферментов, биологически активных веществ, токсических продуктов распада паренхимы поджелудочной железы при некробиозе [2, 6]. Такая агрессия эндотоксинов вызывает изменения гистоструктуры гепатоцитов, их пролиферации, блокаду метаболизма уже на ранних стадиях развития острого панкреатита [4, 5]. Значительное место принадлежит также апоптотическим процессам [7].

Установлено, что ведущая роль в поражении печеночной паренхимы принадлежит ранним циркуляторным реакциям [9], однако до сих пор сведения о морфологических и функциональных перестройках микроциркуляции остаются фрагментарными и часто противоречивыми. В частности, по мнению [3], на ранних стадиях цирку-

ляторные нарушения в печени представлены снижением линейной скорости кровотока в капиллярах, ухудшением реологии крови вследствие сдвиг-феномена и, в конечном итоге, развитием циркуляторно-метаболической гипоксии. Напротив, на основании лазер-доплеровской флоуметрии сообщалось о 1,5-кратном увеличении интенсивности кровотока [1]. Наконец, в публикации [10] констатировано отсутствие каких-либо патоморфологических изменений печеночной паренхимы в течение 240 часов после моделирования острого панкреатита, хотя в составе легких, почек и кишечника авторы наблюдали значительные повреждения уже на начальных этапах эксперимента.

Таким образом, вопрос о реакциях системы печеночной микроциркуляции при развитии острого панкреатита, а также об их патогенетическом значении в формировании патоморфологических изменений печени в преобладающем числе аспектов остается открытым.

Цель исследования

Определение роли печеночной микроциркуляции в развитии нарушений паренхимы печени вследствие острого воспалительного поражения поджелудочной железы.

Материалы и методы

В работе использовали две модели острого панкреатита: L-аргининовую модель, дающую быстрый и стабильный результат, и модель с введением раствора таурохолата натрия в проток поджелудочной железы.

В первой модели половозрелым крысам-самцам весом 150-200 г однократно вводили раствор L-аргинина в дозах 3 г/кг, 4 г/кг и 5 г/кг в 0,2 мл физиологического раствора в левую нижнюю часть брюшной полости. Эксперимент выполнялся в соответствии с рекомендациями С.Н. Kubisch с соавторами [8]. Животных умерщвляли в условиях глубокого наркоза 1, 4, 8, 12, 24, 48 и 72 часа после инъекции в соответствии с Законом Украины №3447-І от 21.02.06 г. „О защите животных от жестокого обращения”. Ткань поджелудочной железы и печени использовали для дальнейшего гистологического исследования.

Для реализации второй модели острого панкреатита проводили общее обезболивание с помощью кетамин в дозе 100 мг/кг. После срединной лапаротомии проводили фиксацию двенадцатиперстной кишки и

накладывали лигатуру на общий желчный проток с последующим введением в панкреатический проток 50 мкл 1%-ного, 2,5%-ного и 5%-ного раствора таурохолата натрия. После операции проводили ушивание раны. Забор материала для морфологического исследования проводили в сроки, указанные для первой модели.

Результаты и их обсуждение

При гистологическом анализе после введения L-аргинина в дозах 4 г/кг и 5 г/кг в поджелудочной железе экспериментальных животных наблюдались признаки интерстициального отека, а также накопление значительного количества вакуолевидных структур в цитоплазме панкреатоцитов уже через 4 часа эксперимента. На начальных стадиях развития панкреатита отмечался выраженный межклеточный отек, межацинарное пространство расширилось.

Помимо ацинусов с нормальным строением выявлялись группы клеток с деструктивными изменениями разных типов. Наиболее характерным была потеря эозинофилии и базальной базофилии цитоплазмы, уплотнение ядра, расширение перинуклеарного пространства, полярность клеток нарушена, ядро занимало центральное положение, границы экзокринных клеток становились нечеткими. Количество гранул в панкреатоцитах резко уменьшалось. Хроматин конденсировался в

виде больших глыбок вблизи ядерной оболочки или смещался к полюсам ядра в виде полумесяцев. Обнаруживались признаки распада ядра на фрагменты. Также выявлялись некротические изменения, включая деструкцию ядерной и плазматической мембран.

В составе печени животных через 1 час после введения L-аргинина во всех исследуемых дозах наблюдалось полнокровие сосудов портальных трактов. Синусоидные капилляры печеночных долек и паренхима органа в целом не обнаруживали заметных изменений. Через 4 часа после инициации панкреатита отмечалось значительное полнокровие междольковых и вокругдольковых кровеносных сосудов. У животных, получавших L-аргинин в дозе 5 г/кг, наблюдался периваскулярный отек и внутривенный отек вокругдольковых вен. В просвете синусоидов отмечалось скопление форменных элементов крови без признаков сладжирования и стаза. Просвет центральных вен большинства долек также содержал значительное количество неизмененных эритроцитов. Стенка синусоидов и перисинусоидальное пространство оставались без нарушений. Гепатоциты приобретали значительную ацидофилию. В центральной зоне долек встречались одиночные гепатоциты с уплотненными или фрагментированными ядрами. Признаки воспалительной инфильтрации не наблюдались.

Некротические изменения в составе поджелудочной железы были отмечены через 8 часов эксперимента во всех исследуемых группах. Также наблюдалось возрастание вакуолизации после 8 часов от начала эксперимента. Максимальная выраженность этих изменений была свойственна животным в группах, которые получали 4 г/кг и 5 г/кг L-аргинина (рис. 1).

Инфильтрация лимфоидными элементами была особенно выражена в соединительнотканых структурах, окружающих панкреатические дольки. Периваскулярный отек и повреждение сосудистой стенки в наибольшей степени отмечались в составе артериального и капиллярного звеньев микроциркуляторного русла. Структура железы подвергалась меньшим изменениям в группе животных, которые получили L-аргинин в дозе 3 г/кг.

Паренхима печени через 8 часов после введения L-аргинина в исследуемых дозах содержала многочисленные признаки токсического воспаления. В частности, наблюдался периваскулярный отек портальных сосудов, повреждение или значительный отек венозных стенок со сладжированием эритроцитов в просвете вокругдольковых сосудов. Просвет синусоидных капилляров был существенно расширенным и неравномерным, содержал множественные пристеночные агрегаты эритроцитов. Через 24 часа после

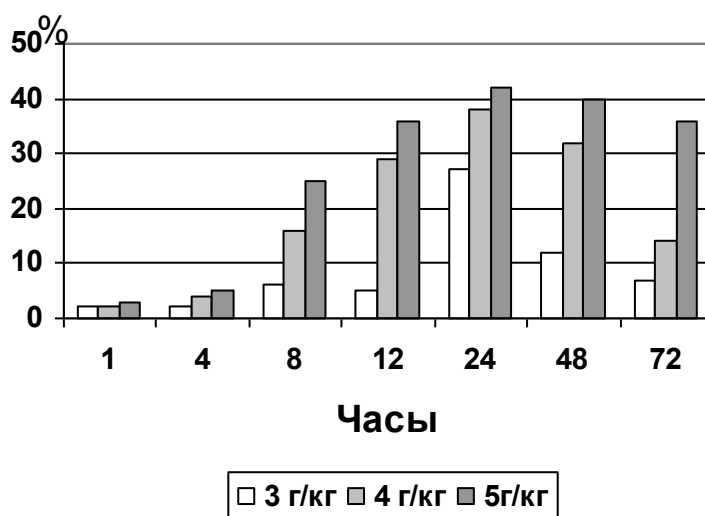


Рис. 1. Относительное количество (%) некротизированных ацинарных эпителиоцитов поджелудочной железы крыс при экспериментальном панкреатите после введения различных доз L-аргинина

введения L-аргинина в дозах 4 г/кг и 5 г/кг большинство синусоидов характеризовались явлениями стаза крови; перисинусоидальное пространство значительно расширялось, ретикулоэндотелиоциты формировали скопления вблизи центральной вены. Просвет центральной вены содержал незначительное количество форменных элементов, хотя и был заметно расширенным. Кроме апоптотически измененных гепатоцитов, на периферии долек обнаруживались скопления клеток с вакуолизированным или сморщенным ядром, отежной неравномерно окрашенной цитоплазмой с признаками дегенерации. На протяжении 1-х суток эксперимента постепенно нарастали явления холангита и воспалительной

инфильтрации гистиоцитами, плазмацитами и, в меньшей степени, нейтрофилами, причем выраженность инфильтрационных процессов зависела от дозы L-аргинина.

После 48 часов патоморфологические изменения поджелудочной железы нарастали, а некоторое улучшение морфологической картины наблюдалось к концу 3-х суток у животных, которые получали L-аргинин в дозах 3 г/кг и 4 г/кг. При этом в группе с введением 4 г/кг состояние одиночных экзокринных элементов поджелудочной железы приближалось к контролю, а в группе с введением 3 г/кг их было значительно больше. Большинство ацинусов в группах с введением 4 г/кг и 5 г/кг демонстрировали нарушение тканевой архитектуры и только некоторые из них со-

храняли характерный для нормального строения вид. Сохранялись и лейкоцитарные элементы, которые были результатом инфильтрационных процессов в соединительнотканых прослойках вокруг ацинусов. Также появлялись фибробласты, что свидетельствовало о начале фиброзных изменений. В стенке артериол наблюдались признаки склерозирования. Нарушение общей тканевой структуры было характерным для экзокринных компонентов поджелудочной железы, в то время как цитоархитектоника островков Лангерганса оставалась без существенных изменений.

В печени экспериментальных животных к концу исследования после введения L-аргинина в дозах 3 г/кг и 4 г/кг отмечались умеренные нарушения портальных сосудов и компонентов портальных трактов. Паренхима имела признаки диффузного мелкоочагового некроза, умеренные дегенеративные и дистрофические изменения гепатоцитов, явления холестаза и холангита. Воспалительная инфильтрация значительно ограничивалась, околосоудистая соединительная ткань уплотнялась и содержала значительное количество фибробластов. Большинство печеночных долек имели расширенные синусоиды с неравномерным просветом, однако стаз и существенная агрегация форменных элементов встречалась только в единичных случаях. После использования L-аргинина в дозе 5

г/кг выраженность некротических процессов резко превышала такую на предыдущих этапах исследования. Большинство печеночных долек содержали большие некротические участки в разных зонах, остальные гепатоциты имели вакуолизированную цитоплазму и множественные дистрофические признаки. Синусоиды имели широкий просвет и преимущественно обтурировались агрегатами эритроцитов. Общая гистоархитектура печеночных долек была также нарушена.

После введения таурохолата натрия выживаемость животных через 72 часа эксперимента для групп, которые получили 50 мкл 2,5%-ного и 5%-ного раствора, составила 3 из 5 крыс. В группах с введением 5%-ного раствора выживаемость составила 1 из 5 животных к концу 2-х суток.

Патоморфологические изменения поджелудочной железы также имели характер интерстициального отека, лимфоидной инфильтрации, некротических и микрососудистых изменений с преобладанием последних. Максимальная выраженность этих изменений была в моделях с использованием 2,5%-ного и 5%-ного растворов таурохолата натрия и в большей степени обнаруживались в головке и правой трети тела железы, в то время как в других частях железы они были умеренно выражены (рис. 2, 3).

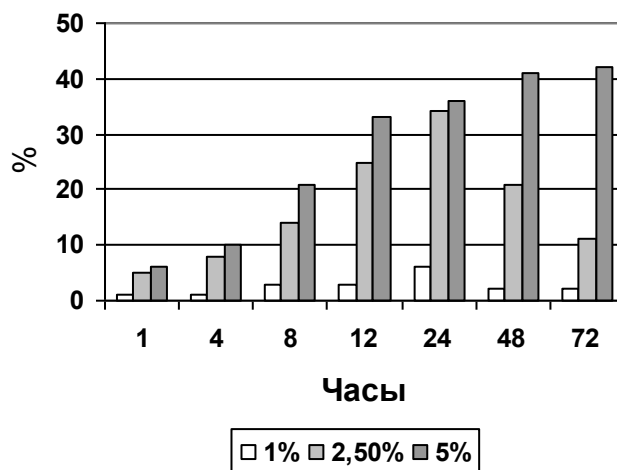


Рис. 2. Относительное количество (%) некротизированных ацинарных эпителиоцитов головки поджелудочной железы крыс при экспериментальном панкреатите после введения различных концентраций таурохолата натрия

Геморрагические изменения в головке железы проявлялись нарушением целостности стенки сосудов мелкого калибра и капилляров с формированием внутри- и субкапсулярных кровоизлияний. Это отмечалось уже через 1 час после введения таурохолата натрия. В дальнейшем зоны с наибольшими микрососудистыми повреждениями демонстрировали максимальную выраженность некротических проявлений, хронологическая динамика которых была подобна таковой в модели панкреатита с использованием L-аргинина. Апоптотические изменения в виде конденсата хроматина под нуклеолеммой и перемещением его к полюсам, деформации и фрагментации ядра встречались намного реже, чем это наблюдалось в

предыдущей модели панкреатита. Нарушения эндокринных структур поджелудочной железы были ограниченными или отсутствовали.

В составе печени животных через 1 час после введения таурохолата натрия во всех исследуемых концентрациях не наблюдалось существенных патологических изменений на светооптическом уровне. Только через 4 часа экспозиции 5%-ного раствора агента отмечалось нарастание полнокровия вен в составе портальных трактов. Через 24 часа у всех животных происходило накопление признаков острого воспаления печеночной паренхимы, степень которого зависела от используемой концентрации таурохолата натрия, однако воспалительные изменения в составе портальных трак-

тов, включая сосудистый компонент, были незначительны. В это время только одиночные гепатоциты прояв-

ляли апоптотические, деструктивные или дистрофические изменения.

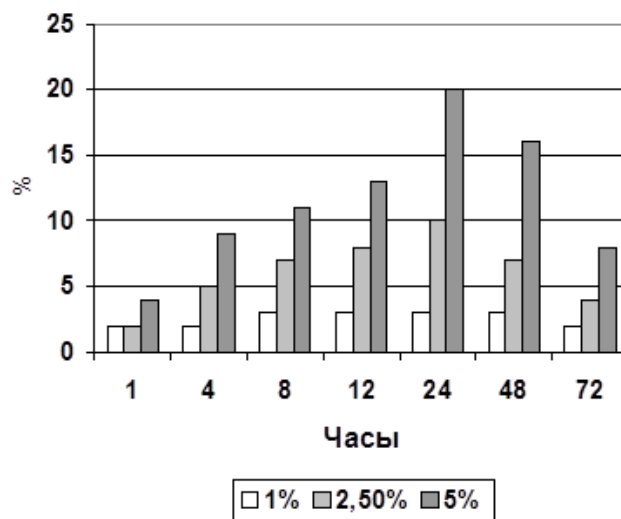


Рис. 3. Относительное количество (%) некротизированных ацинарных эпителиоцитов хвоста поджелудочной железы крыс при экспериментальном панкреатите после введения различных концентраций таурохолата натрия

В конце вторых суток моделирования острого панкреатита в печеночных долях наблюдались мелкие очаги некротически измененных гепатоцитов на фоне умеренного холангита. Стенка синусоидов и перисинусоидальное пространство оставались без существенных нарушений. В просвете синусоидов изредка отмечались сладжированные эритроциты.

После 48 часов экспозиции 5%-ного раствора таурохолата натрия сохранялись умеренные проявления мелкоочагового некроза на фоне существенных дегенеративных и дистрофических изменений гепатоцитов,

холестаза и холангита. Воспалительная инфильтрация редуцировалась. Синусоиды имели широкий неравномерный просвет, однако обтурации не наблюдалось. Общая гистологическая структура печеночных долек оставалась без повреждений. К окончанию эксперимента патологические изменения печени имели дозо-зависимый характер. В частности, после использования 1%-ного и 2,5%-ного растворов таурохолата натрия признаки острого воспаления отсутствовали, дистрофические и некробиотические процессы сохранялись в единичных гепатоцитах, микрососудистый ком-

понент, в целом, проявлял структурно-функциональную компенсацию большинства звеньев. После использования 5%-ного раствора таурохолата натрия наблюдалось умеренное количество мелких некротических очагов, выраженная диффузная дегенерация гепатоцитов, явления воспалительной инфильтрации печеночной паренхимы и умеренные изменения структуры синусоидных капилляров.

Выводы

В экспериментальных моделях острого панкреатита с интраперитонеальным введением различных доз раствора L-аргинина и внутривенной инъекцией разных концентраций раствора таурохолата натрия происходит существенная реакция со стороны печеночной микроциркуляции, которая зависит от характера патоморфологических изменений в составе поджелудочной железы. Такая реакция имеет фазовый характер, который включает:

- 1) активацию печеночной циркуляции, в первую очередь портального компонента, на фоне энзимной токсемии со стороны поджелудочной железы;
- 2) развитие воспалительных, дистрофических и некротических изменений в печеночной паренхиме наряду с микроциркуляторными нарушениями на фоне некротической токсемии со стороны поджелудочной железы;

- 3) восстановительно-адаптационные или декомпенсаторные процессы в системе микроциркуляции печени и печеночной паренхимы в зависимости от степени панкреатогенной токсемии при моделировании острого панкреатита.

Литература

1. Диагностика нарушений микрогемодинамики при остром панкреатите / Ю.С. Винник [и др.] // Методология флоуметрии. – М. : Трансоник, 1997. – С. 93-106.
2. Изменения в панкреатогепатодуоденальных органах при экспериментальном остром липогенном панкреатите / А.Д. Дибиров [и др.] // Бюлл. экспер. биол. мед. – 2000. – Т. 130, № 8. – С. 813-817.
3. Перспективные направления в терапии острого панкреатита / Р.Б. Мумладзе [и др.] // Анналы хир. – 1996. – № 3. – С. 37-41.
4. Повреждения печени в ходе экспериментального острого панкреатита / М.Е. Мозжелин [и др.] // Бюлл. экспер. биол. мед. – 2001. – Т. 132, № 1. – С. 647-649.
5. Свободнорадикальное окисление и активность ферментов биотрансформации ксенобиотиков в печени крыс с экспериментальным острым панкреатитом / В.В. Шабанов [и др.] // Бюлл. экспер. биол. мед. – 2001. – Т. 132, № 8. – С. 167-169.
6. Энтеральная коррекция гомеостаза при остром панкреатите /

В.А. Пенин [и др.] // Хирургия. – 1996. – № 2. – С. 8-11.

7. Apoptotic cell death of hepatocytes in rat experimental severe acute pancreatitis / Y. Takeyama [et al.] // Surgery. – 2000. – Vol. 127, № 1. – P. 55-64.

8. Early activation of endoplasmic reticulum stress is associated with arginine-induced acute pancreatitis / С.Н. Kubisch [et al.] // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2006. – Vol.

291. – P. 238-245.

9. Hepatic histopathological changes in biliary pancreatitis / M. Isogai [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 1995. – Vol. 90, № 3. – P. 449-454.

10. Histopathological sequential changes in sodium taurocholate-induced acute pancreatitis / A. Kudari [et al.] // Jop. J. Pancreas. – 2007. – Vol. 8, № 5. – P. 564-572.

Сведения об авторах

Твердохлеб И.В. – д-р мед. наук., проф., зав. кафедрой гистологии ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепропетровск.

E-mail: ivt@dsma.dp.ua.

Береговенко И.Н. – врач-хирург городской клинической больницы №16, г. Кривой Рог.

Зиненко Д.Ю. – врач-хирург городской клинической больницы №16, г. Кривой Рог.