

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.149-008.341.1

Г. И. Ничипорук², И. В. Гайворонский^{1,2}, А. С. Сотников¹**УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСУДОВ
ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ТОЩЕЙ КИШКИ
В РАННИЕ СРОКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Медицинский факультет² Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург

Портальная гипертензия является частым спутником ряда хронических заболеваний печени, а также окклюзионных поражений воротной вены [1–5]. По данным ряда авторов, при портальной гипертензии в круг патологических расстройств вовлекается сосудистое русло всех органов, отток крови от которых осуществляется в бассейн воротной вены [6, 7]. Вместе с тем, следует отметить, что среди органов желудочно-кишечного тракта в наибольшей степени страдает тощая кишка [8, 9]. Состояние микроциркуляторного русла данного органа с помощью светооптических методик достаточно подробно изучено в ранее проведенных исследованиях [10–12]. В развитии функциональных расстройств очень большая роль принадлежит структурным преобразованиям капилляров [13], поэтому для уточнения ряда вопросов патогенеза портальной гипертензии возникла необходимость проведения электронномикроскопического исследования сосудов гемомикроциркуляторного русла тощей кишки при данном состоянии.

Целью настоящей работы явилось изучение ультраструктурных преобразований стенки сосудов гемомикроциркуляторного русла тощей кишки при экспериментальной портальной гипертензии.

Методы. Экспериментальные исследования выполнены на материале от 24 беспородных собак, которым моделировали портальную гипертензию путем стеноза воротной вены на 2/3 ее первоначального просвета. Шесть интактных животных служили в качестве контроля — им выполнялась лапаротомия без стенозирования ствола воротной вены. В большинстве случаев у одного и того же животного путем операционной биопсии иссекали кусочки стенки тощей кишки размером 1,5 мм² на 1-, 3-, 5-, 7-е сутки после операции. Материал фиксировали 1% раствором четырехокси осмия по прописи Колфильда и 2,5% раствором глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере с последующей дофиксацией осмием. Полутонкие срезы окрашивали 0,1% раствором толудинового синего. Контрастирование ультратонких срезов производили дважды: в кусочках при обезвоживании насыщенным спиртовым раствором уранил-ацетата и на срезах — цитратом натрия. Морфометрический анализ (количество пиноцитозно-вакуолярных структур на 1 мм² площади поперечного сечения эндотелиоцитов кровеносных

капилляров и количество фенестр на 100 эндотелиоцитов) производили на электронных микрофотографиях при конечном увеличении в 10 000 раз с использованием тестовой сетки с величиной квадрата 0,5 см.

Кроме ультрамикроскопических исследований, выполняли эндоскопические и рентгенологические (прижизненная портография путем катетеризации селезеночной вены и введения 70% раствора верографина). Также осуществляли измерение давления в системе воротной вены с помощью аппарата Вальдмана.

Результаты исследования и их обсуждение. В результате проведенного исследования показано, что при подпеченочной форме портальной гипертензии у экспериментальных животных в ранние сроки после стенозирования воротной вены (до 5 суток) отмечается существенное повышение портального давления (от 400 до 600 мм вод. ст.). На серийных портограммах у всех животных отчетливо определялся подпеченочный блок портального кровотока и развившиеся окольные пути оттока крови.

Эндоскопические исследования позволили выявить, наряду с варикозными расширениями вен пищевода, желудка и тонкой кишки, множественные внутрислизистые и подслизистые кровоизлияния, набухание и отек слизистой оболочки, деформация и утолщение складок, увеличение содержания газа, снижение моторной функции.

Возникающие при портальной гипертензии изменения гемомикроциркуляторного русла (ГМЦР) в оболочках стенки тонкой кишки характеризуются, прежде всего, резким расширением венул, посткапиллярных венул и капилляров. Кроме явлений венозного застоя, обусловленных затруднениями оттока крови (подпеченочным блоком портальной системы), следует отметить и нарушение притока крови в микроциркуляторное русло, что связано с выраженным сужением просвета прекапиллярных артериол. Указанные изменения существенно сказываются на гемодинамике и, естественно, отражаются на интенсивности обменных процессов в тканях органа.

Для углубленного объяснения патогенетических механизмов в сосудах гемомикроциркуляторного русла, возникающих при портальной гипертензии, были проведены ультраструктурные исследования на экспериментальных животных. При этом установлено, что наиболее выраженные изменения происходят в микрососудах подслизистой основы и собственной пластинки слизистой оболочки тощей кишки. Именно в них наблюдается нарушение проницаемости стенок капилляров, посткапиллярных венул, сопровождающееся диапедезными кровоизлияниями и плазморрагиями.

Выход жидкой части крови из просвета сосудов сказывается на состоянии форменных элементов. По данным электронной микроскопии, особенно заметно изменяется форма эритроцитов, находящихся в просветах капилляров и посткапиллярных венул. Если у интактных животных они имеют форму двояковогнутого круга с ровными краями, то в условиях эксперимента они приобретают чаще неправильную округлую форму с неровными краями — становятся эхиноцитами (рис. 1). Обращают на себя внимание явления стаза форменных элементов, которые сопровождаются образованием монетных столбиков из эритроцитов и их адгезией. Нередко отмечается прилипание мембран форменных элементов крови к люминальной поверхности эндотелиоцитов. Естественно, что изменения со стороны форменных элементов крови существенно сказываются на реологических свойствах крови.

В связи с сильным расширением просвета капилляров, у них резко суживается неклеточный компонент базального слоя, местами он размыт или исчезает совсем. Эндотелиоциты на электронограммах имеют уплощенный вид, отмечается уплотнение матрикса их цитоплазмы, что проявляется ее гиперосмией. В них уменьшается количество микропиноцитозных везикул, но значительно увеличивается количество вакуолей.

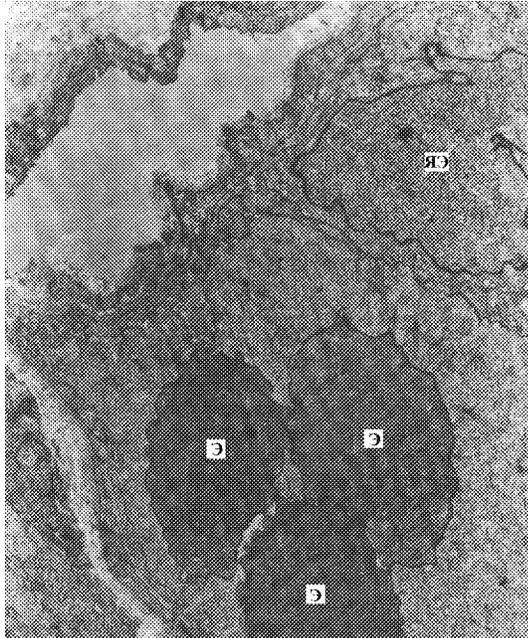


Рис. 1. Изменение формы эритроцитов и ядер эндотелиоцитов посткапиллярных венул слизистой оболочки тощей кишки. Уплотнение матрикса цитоплазмы, перивазальный отек, повышение электронной плотности плазмы крови (3 суток после стеноза воротной вены).

Э — эритроцит; ЯЭ — ядро эндотелиоцита. Ув. 3 000.

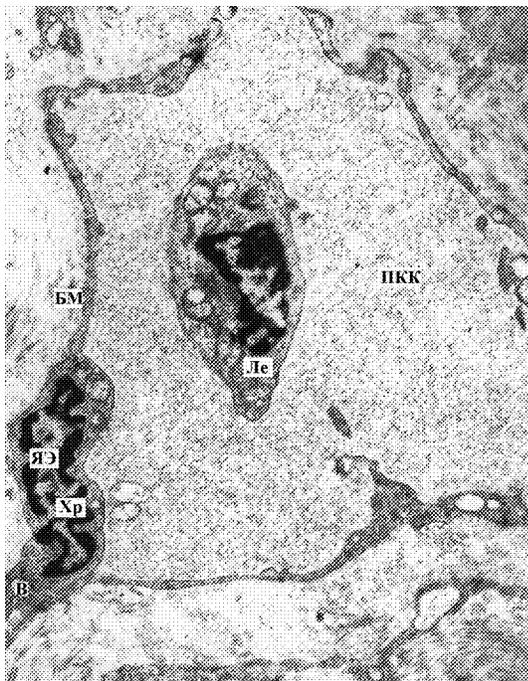


Рис. 2. Увеличение просвета кровеносного капилляра слизистой оболочки тощей кишки, уплощение эндотелиоцитов, фрагментарное исчезновение базальной мембраны (3 суток после стеноза воротной вены).

БМ — базальная мембрана; В — везикулы; Ле — лейкоцит; ПКК — просвет кровеносного капилляра; Хр — хроматин; ЯЭ — ядро эндотелиоцита. Ув. 8 000.

Поверхность плазмалеммы эндотелиальных клеток преимущественно гладкая, лишь в отдельных местах наблюдаются небольшие цитоплазматические выросты. Ядра эндотелиоцитов подвергаются значительным изменениям. Форма их становится неправиль-

ной, со значительными углублениями и выпуклостями по краям и локальными расширениями межмембранных пространств кариолеммы. В большинстве ядер отмечается краевая конденсация хроматина.

В связи с уплотнением цитоплазмы органеллы располагаются в области перикариона и практически исчезают из мест ее истончения (рис. 2).

Исследование показало, что у отдельных эндотелиоцитов при портальной гипертензии появляются множественные фенестры (рис. 3). Так, через 1 сутки их количество на 100 эндотелиоцитов в капиллярах собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки по сравнению с контролем составляет соответственно $17,2 \pm 0,11$ и $4,8 \pm 0,09$, через 3 суток $21,4 \pm 0,17$ и $4,5 \pm 0,20$, через 2 месяца — $5,4 \pm 0,29$ и $3,8 \pm 0,16$. Данные по другим оболочкам представлены в таблице. По-видимому, фенестрация эндотелия способствует усилению проницаемости стенки кровеносных капилляров в условиях венозного застоя.

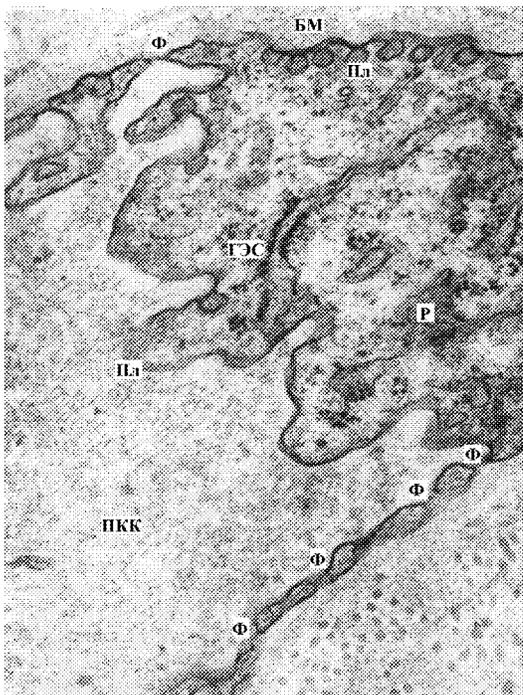


Рис. 3. Увеличение просвета кровеносного капилляра слизистой оболочки тонкой кишки, фрагментарное исчезновение базальной мембраны, фенестрация эндотелиоцитов (3 суток после стеноза воротной вены).

БМ — базальная мембрана; ГЭС — гранулярная эндоплазматическая сеть; Р — рибосомы; Ф — фенестры; Пл — плазмалемма; ПКК — просвет кровеносного капилляра. Ув. 20 000.

Наряду с фенестрацией, существенно возрастает и трансцеллюлярный транспорт с помощью пиноцитозно-вакуолярных структур. В первые 3 суток при портальной гипертензии количество пиноцитозных пузырьков на 1 мкм^2 в эндотелиоцитах кровеносных капилляров всех оболочек тонкой кишки по сравнению с контролем увеличивается в 3,5–4 раза (см. табл.). Нами показано формирование при портальной гипертензии трансэндотелиальных «каналов», образующихся соединениями пиноцитозных пузырьков и вакуолей в цепочки. В этих цепочечных ассоциациях отмечается исчезновение соприкасающихся мембран и появление каналов между аблюминальной и люминальной поверхностями эндотелиоцита (рис. 4).

Различия между данными эксперимента и контроля становятся статистически незначимыми только через 2 месяца после операции ($p > 0,05$). К этому сроку вы-

Сравнительная характеристика трансэндотелиальной транспортной активности кровеносных капилляров тощей кишки в различные сроки эксперимента

Место исследования	Показатели транспортной активности	Статистические показатели по срокам наблюдения			
		1 сут.	3 сут.	7 сут.	2 мес.
Слизистая оболочка	ПП	17,21±0,11*	21,41±0,17*	18,61±0,22*	5,40±0,29*
	Ф	7,41±0,09*	8,11±0,19*	6,61±0,14*	2,22±0,19
Подслизистая основа	ПП	20,4±0,6*	2081±0,24*	18,80±0,18*	5,80±0,06
	Ф	5,20±0,12	5,60±0,08	4,80±0,15	4,31±0,21
Мышечная оболочка	ПП	6,10±0,13*	6,42±0,16*	5,40±0,03*	2,80±0,17
	Ф	2,63±0,07	2,30±0,14	2,50±0,11	2,82±0,13
Серозная оболочка	ПП	11,8±0,4*	9,91±0,07*	9,81±0,12*	2,91±0,14
	Ф	3,21±0,08	2,80±0,17	2,40±0,06	2,50±0,15
Слизистая оболочка	ПП	2,80±0,07*	4,20±0,16*	3,80±0,11*	1,60±0,12
	Ф	1,42±0,15	1,20±0,03	0,90±0,17	1,40±0,15
Слизистая оболочка	ПП	13,10±0,17*	16,3±0,04*	14,80±0,17*	3,81±0,22
	Ф	3,4±0,06	4,21±0,21	3,92±0,08	3,72±0,15
Слизистая оболочка	ПП	5,41±0,08*	6,40±0,12*	5,20±0,08*	1,60±0,15
	Ф	1,70±0,04	1,91±0,11	1,41±0,24	1,71±0,18

* Различия по сравнению с контролем значения при $P < 0,05$.

Примечание. Верхняя строка — данные эксперимента, нижняя — контроль; ПП — количество пиноцитозных пузырьков на 1 мм^2 площади эндотелиоцитов; Ф — количество фенестр на 100 эндотелиоцитов.

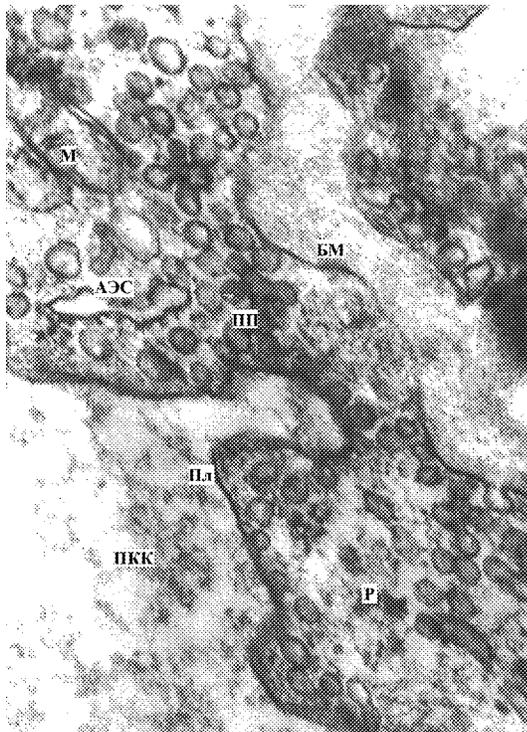


Рис. 4. Формирование трансэндотелиальных каналов в кровеносном капилляре слизистой оболочки тощей кишки (3 суток после стеноза воротной вены).

АЭС — агранулярная эндоплазматическая сеть; БМ — базальная мембрана; М — митохондрия; ПП — пиноцитозные пузырьки; Пл — плазмалемма; ПКК — просвет кровеносного капилляра; Р — рибосомы. Ув. 20 000.

деляются основные окольные пути кровотока, и в органах ликвидируются явления венозного застоя и отека.

Установлено, что, в связи с интерстициальным отеком, при стенозе воротной вены в перицитах происходят такие же изменения, как и в самих эндотелиальных клетках. Цитоплазма уплотняется, становится электроннооптически плотной. В ядре отмечается краевая конденсация хроматина, в нем появляются участки с просветлениями. В митохондриях как эндотелиальных клеток, так и перицитов появляются деструктивные изменения. Матрикс их просветлен, наблюдается частичное исчезновение крист и нарушение их архитектоники. Можно полагать, что возникновение интерстициального отека связано с активацией не только трансэндотелиального, но и межклеточного транспорта. Нами обнаружены в первые 7 суток после стеноза воротной вены открытые межклеточные соединения, преимущественно в местах простых межклеточных контактов (рис. 5).

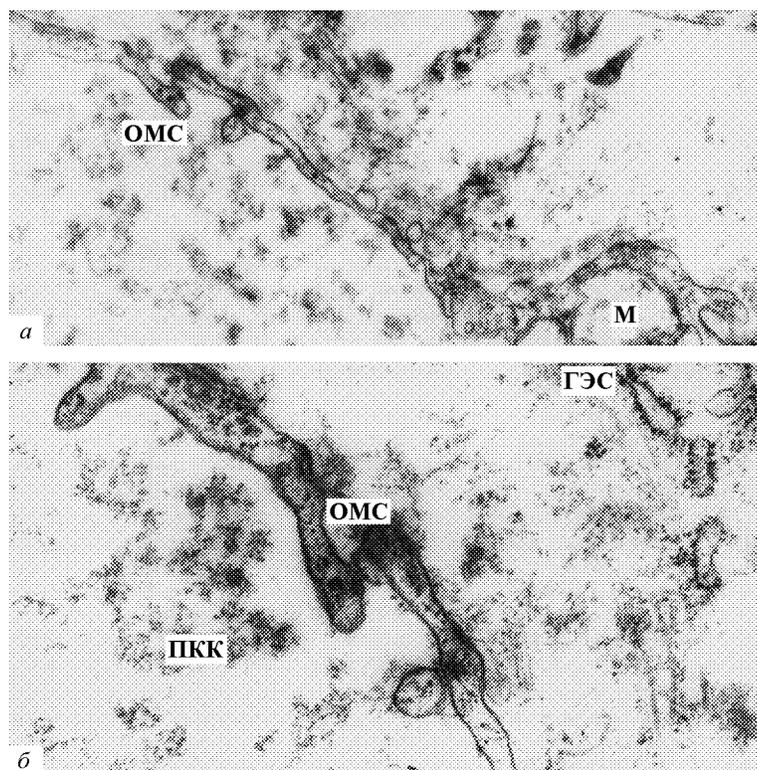


Рис. 5. Образование открытых межклеточных соединений между эндотелиоцитами кровеносных капилляров слизистой оболочки тощей кишки через 7 суток после стеноза воротной вены.

a — общий вид (ув. 12 000); *б* — деталь (ув. 30 000).

ОМС — открытое межклеточное соединение; М — митохондрия; ГЭС — гранулярная эндоплазматическая сеть; ПКС — просвет кровеносного капилляра.

Размеры межклеточных пространств широко варьировали от 50 до 1500 нм.

Кроме капилляров, следует отметить возникающие ультраструктурные изменения еще в одном звене ГМЦР — прекапиллярных артериолах. На 5-е сутки после создания

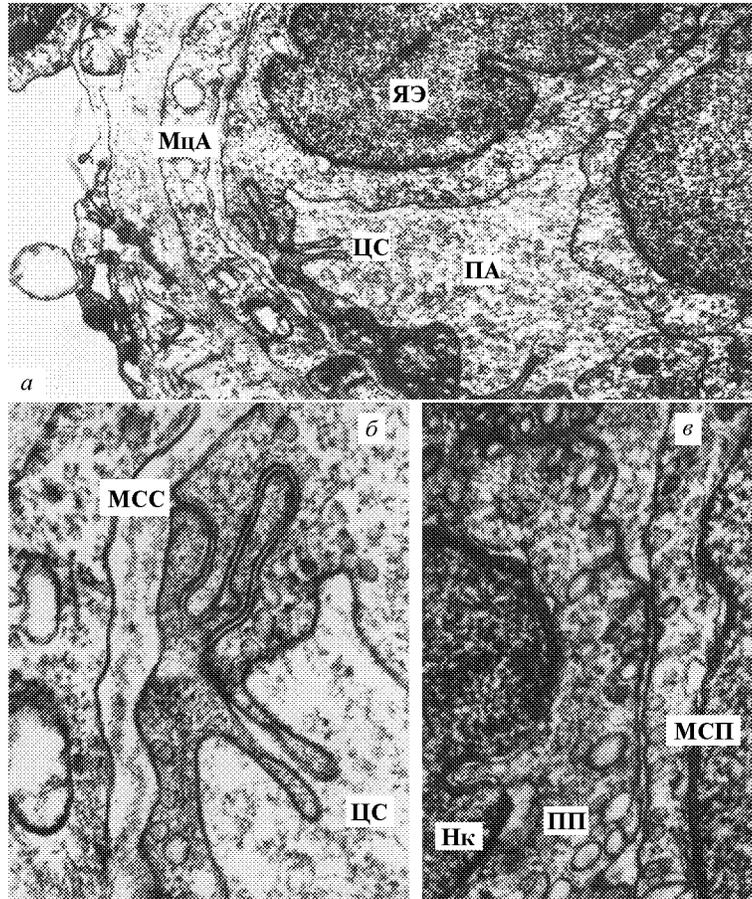


Рис. 6. Сужение просвета прекапиллярной артериолы в стенке тощей кишки через 5 суток после стеноза воротной вены.

a — общий вид (ув. 3000); детали (ув. 8000); *б* — межклеточное сложное соединение; *в* — изменения ядер эндотелиоцитов.

МцА — миоцит артериолы; МСС — межклеточное соединение сложное; МСП — межклеточное соединение простое; Нк — нуклеолема; ПА — просвет артериолы; ЦС — цитоплазматическая складка; ЯЭ — ядро эндотелиоцита.

стеноза воротной вены у большинства артериол наблюдается резкое сужение просвета, в них содержится лишь плазма крови (рис. 6а).

Между эндотелиоцитами и миоцитами в стенке артериолы всегда просматривается неравномерной толщины базальный слой. Явно определяется неравномерность контуров плазмалеммы эндотелиоцитов как со стороны аблюминальной, так и люминальной поверхностей. Особенно многочисленные инвагинации и выпячивания в виде цитоплазматических складок видны со стороны просвета сосуда. Наиболее отчетливо просматриваются цитоплазматические отростки в области сложных межклеточных соединений (рис. 6б).

Эндотелиоциты по окружности прекапиллярной артериолы четко дифференциро-

ваны на темные и светлые. Ядра светлых эндотелиоцитов — набухшие, форма их — неопределенная в связи с наличием глубоких инвагинаций (рис. 6в).

В большинстве случаев создается впечатление гофрированности нуклеолеммы. Хроматин в нуклеоплазме распределен равномерно. Цитоплазма околядерной зоны электронноплотная, содержит как одиночные рибосомы, так и полирибосомы в виде палочек, розеток и сеточек. Пиноцитозные пузырьки образуют сложные ассоциации. Часть из них связана с цитолеммой сложных межклеточных соединений. Митохондрии имеют различные размеры и форму. У некоторых из них матрикс просветлен, мембраны становятся одноконтурными. Миоциты четко повторяют контуры эндотелиоцитов. Цитоплазма миоцитов слегка просветлена. Судя по состоянию органелл, можно сделать заключение, что миоциты находятся в активизированном состоянии. Данный факт подтверждают и выявленные нами у прекапиллярных артериол множественные миоэндотелиальные контакты.

Итак, в ранние сроки после создания стеноза воротной вены наблюдаются структурные преобразования практически всех сосудов гемомикроциркуляторного русла толстой кишки. Они, прежде всего, связаны с существенными реактивными компенсаторно-приспособительными и деструктивными изменениями эндотелиоцитов стенки микрососудов. Деструктивные изменения приводят к нарушению проницаемости, прежде всего, стенок капилляров, которая сопровождается возникновением плазморрагий и диапедезных кровоизлияний. Выход плазмы крови из просвета микрососудов сказывается на состоянии форменных элементов и приводит к расстройствам гемодинамики на уровне гемомикроциркуляторного русла. Следовательно, при портальной гипертензии в генезе морфофункциональных нарушений тонкой кишки одним из главных факторов являются изменения со стороны гемомикроциркуляторного русла.

Литература

1. *Лытжин М. И.* Портальная гипертензия при отсутствии цирроза печени // Вестн. хир. 1967. Вып. 1. С. 44–46.
2. *Пацюрка М. Д.* Хирургия портальной гипертензии. Ташкент: Медицина, 1984. 319 с.
3. *Raby N., Meire H. B.* Duplex ultrasound in the diagnosis of cavernous transformation of the portal // Radiology. 2006. Vol. 174, N 4. P. 309–319.
4. *Beppu T., Ohashi K., Kojima K., Kinoshita E., Fukosawa M.* Etiologi and classification of portal hypertension // Nippon Rinho. 1990. Vol. 48, N 4. P. 659–667.
5. *Ito Y., Tarao K., Tamai S.* Portal vein aneurism in the liver associated with multiple vascular malformations // J. Gastroenterol. 1994. Vol. 29, N 6. P. 776–781.
6. *Дыскин Е. А., Гайворонский И. В.* Гемомикроциркуляторное русло в стенке полых органов желудочно-кишечного тракта собаки при портальной гипертензии // Арх. анат. гистол. и эмбриол. 1987. Т. 93. Вып. 8. С. 58–68.
7. *Рынгач Г. М.* Морфологическая характеристика венозного и лимфатического русел пищевода в условиях портальной гипертензии и порто-кавальных анастомозов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2000. 22 с.
8. *Шепелев М. В.* Изменения внутриорганный венозный русла желудочно-кишечного тракта при экспериментальных нарушениях кровотока в системе воротной вены // Арх. анат. гистол. и эмбриол. 1954. Т. 31. Вып. 3. С. 55–61.
9. *Cavalli C, Orlandi F., Bacci G., Bianchi F. B.* Vascularization of the intestinal villi in portal hypertension // Arch. Hal. Mai. Appar. Dig. 1994. Vol. 131, N 13. P. 260–267.
10. *Гайворонский И. В., Ченур С. В.* Портальная гипертензия: морфофункциональные исследования. СПб.: Сезар, 1997. 130 с.

11. *Ничипорук Г. И.* Экстраорганные вены и микроциркуляторное русло кишечника в норме и при экспериментальной портальной гипертензии: Автореф. дис. . . . канд. мед. наук. СПб., 1997. 20 с.

12. *Гайворонский И. В., Сотников А. С., Лазаренко В. А.* Пластичность венозного и микроциркуляторного русла органов желудочно-кишечного тракта в аспекте проблемы коллатерального кровообращения. Белгород: Белгородская областная типография, 2005. 125 с.

13. *Козлов В. И., Мельман Е. П., Нейко Е. М., Шутка Б. В.* Гистофизиология капилляров. СПб.: Наука, 1994. 230 с.

Статья поступила в редакцию 16 сентября 2009 г.