

*И. В. Гайворонский<sup>1,2</sup>, Г. И. Ничипорук<sup>2</sup>, А. С. Сотников<sup>1</sup>*

## **УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСУДОВ ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ТОЩЕЙ КИШКИ В РАННИЕ СРОКИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ**

<sup>1</sup> ГОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, медицинский факультет

<sup>2</sup> 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]. 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]. При этом в развитии функциональных расстройств очень большая роль принадлежит структурным преобразованиям капилляров [13], поэтому для уточнения ряда вопросов патогенеза портальной гипертензии возникла необходимость проведения электронно-микроскопического 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.

**Материал и методы исследования.** Экспериментальные исследования выполнены на материале 24 беспородных собак, которым моделировали портальную гипертензию путем стеноза воротной вены на 2/3 ее первоначального просвета. 6 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 мм<sup>2</sup> на 1-е, 3-е, 5-е, 7-е, сутки после операции. Материал фиксировали 1%-ным раствором четырехоксида осмия по прописи Колфильда и 2,5%-ным раствором глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере с последующей дофиксацией осмием. Полутонкие срезы окрашивали 0,1%-ным раствором толудинового синего. Контрастирование ультратонких срезов производили дважды: в кусочках при обезвоживании насыщенным спиртовым раствором уранилацетата и на срезах — цитратом натрия. Морфометрический анализ (количество пиноцитозно-вакуолярных структур на 1 мм<sup>2</sup> 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 выполняли эндоскопические и рентгенологические (прижизненная портография путем катетеризации селезеночной вены и введения 70%-ного раствора верографина) исследования. Также осуществлялось измерение давления в системе воротной вены с помощью аппарата Вальдмана.

---

© И. В. Гайворонский, Г. И. Ничипорук, А. С. Сотников, 2010

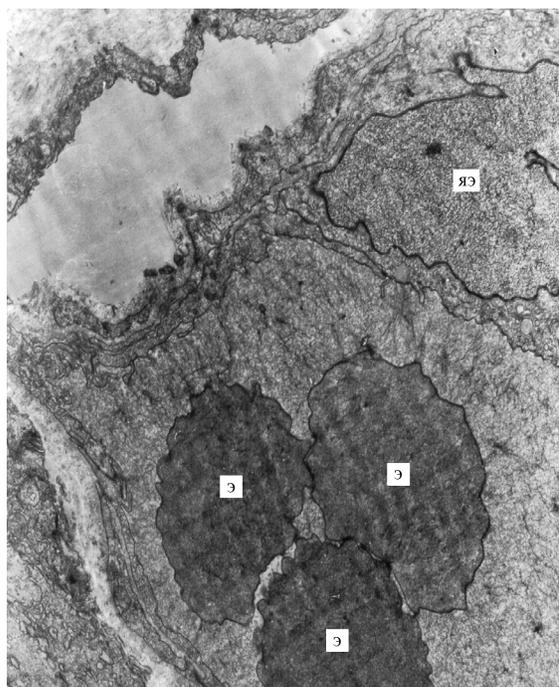
**Результаты и обсуждение.** В результате проведенного исследования показано, что при подпеченочной форме портальной гипертензии у экспериментальных животных в ранние сроки после стенозирования воротной вены (до 5 суток) отмечается существенное повышение портального давления (от 400 до 600 мм вод. ст.). 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, деформацию 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 обоснования патогенетических механизмов в сосудах гемомикроциркуляторного русла, возникающих при портальной гипертензии, были проведены ультраструктурные исследования у 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 и посткапиллярных венул, сопровождающееся диapedезными 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 элемен-



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

Обозначения: Э — эритроцит; ЯЭ — ядро эндотелиоцита. Увеличение 3000

тов, 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.

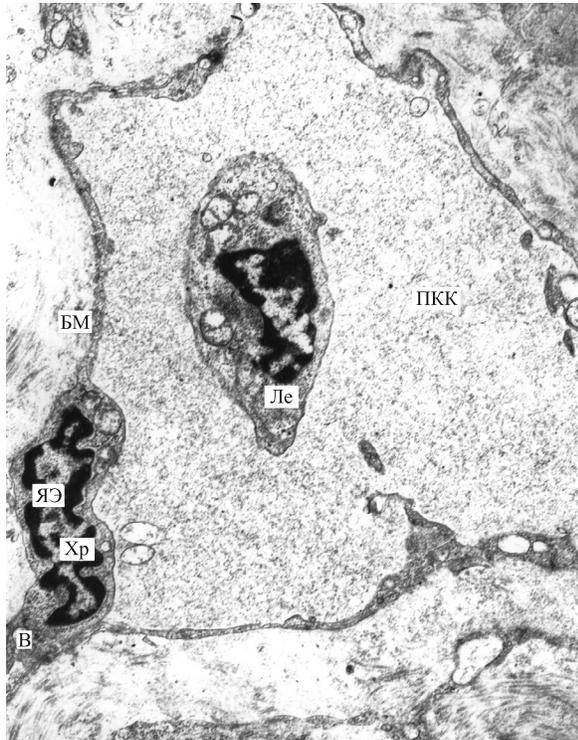


Рис. 2. Увеличение просвета кровеносного капилляра слизистой оболочки тощей кишки, уплощение эндотелиоцитов, фрагментарное исчезновение базальной мембраны через 3 суток после стеноза воротной вены.

Обозначения: БМ — базальная мембрана; В — везикулы; Ле — лейкоцит; ПКК — просвет кровеносного капилляра; Хр — хроматин; ЯЭ — ядро эндотелиоцита. Увеличение 8000

ортальной гипертензии появляются множественные фенестры (рис. 3). Так, через 1 сутки их количество на 100 эндотелиоцитов в капиллярах собственной пластинки слизистой оболочки тощей 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.

Наряду с фенестрацией существенно возрастает и трансцеллюлярный транспорт с помощью пиноцитозно-вакуолярных структур. В первые 3 суток при портальной гипертензии количество пиноцитозных пузырьков на  $1 \text{ мкм}^2$  в эндотелиоцитах кровеносных капилляров всех оболочек тощей кишки по сравнению с контролем увеличивается

В связи с сильным расширением просвета капилляров у них резко суживается не клеточный компонент базального слоя, местами он размыт или исчезает совсем. Эндотелиоциты на электронограммах имеют уплощенный вид, отмечается уплотнение матрикса их цитоплазмы, что проявляется ее гиперосмией. У них уменьшается количество микропиноцитозных везикул, но значительно увеличивается количество вакуолей. Поверхность плазмолеммы эндотелиальных клеток преимущественно гладкая, лишь в отдельных местах наблюдаются небольшие цитоплазматические выросты. Ядра эндотелиоцитов подвергаются значительным изменениям. Форма их становится неправильной, со значительными углублениями и выпуклостями по краям и локальными расширениями межмембранных пространств кариолеммы. У большинства ядер отмечается краевая конденсация хроматина.

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

Исследование показало, что у отдельных эндотелиоцитов при пор-

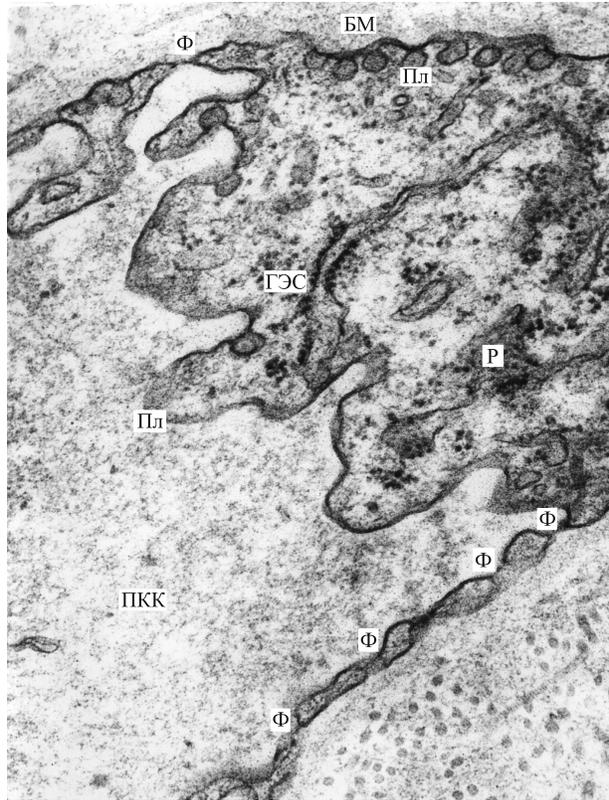


Рис. 3. Увеличение просвета кровеносного капилляра слизистой оболочки тощей кишки, фрагментарное исчезновение базальной мембраны, фенестрация эндотелиоцитов через 3 суток после стеноза воротной вены.

Обозначения: БМ — базальная мембрана; ГЭС — гранулярная эндоплазматическая сеть; Р — рибосомы; Ф — фенестры; Пл — плазмолеммы; ПКК — просвет кровеносного капилляра. Увеличение 20 000

в 3,5–4 раза (см. таблицу). Нами показано трансэндотелиальных «каналов», образующихся соединениями пиноцитозных пузырьков и вакуолей в цепочки. В этих цепочечных ассоциациях отмечаются исчезновение соприкасающихся мембран и появление каналов между аблюминальной и люминальной поверхностями эндотелиоцита (рис. 4).

Различия между данными эксперимента и контроля становятся статистически не значимыми только через 2 месяца после операции ( $p > 0,05$ ). К этому сроку выделяются основные окольные пути кровотока и в органах ликвидируются явления венозного застоя и отека.

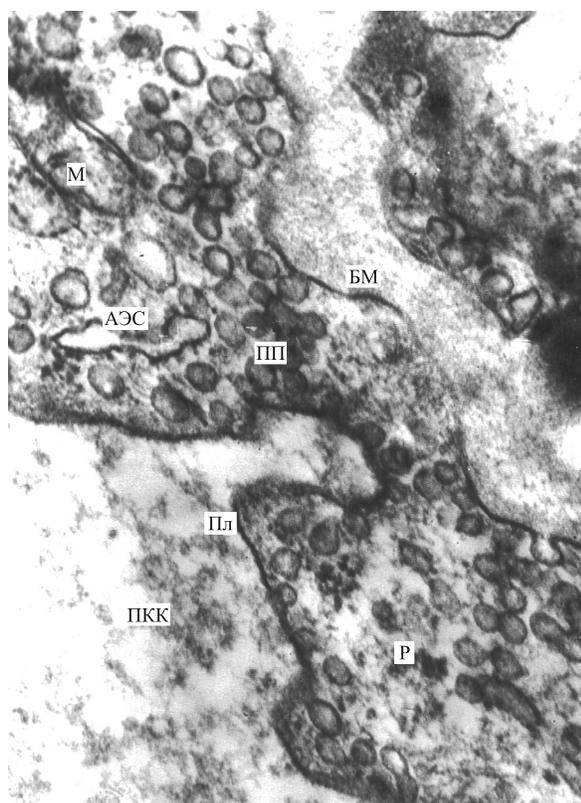
Установлено, что в связи с интерстициальным отеком при стенозе воротной вены в перипитах происходят такие же изменения, как и в самих эндотелиальных клетках. Цитоплазма уплотняется, становится электроннооптически плотной. В ядре отмечается краевая конденсация хроматина, в нем появляются участки с просветлениями. Как

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

Место исследования	Показатели транспортной активности	Статистические показатели по срокам наблюдения			
		1 сутки	3 суток	7 суток	2 месяца
Слизистая оболочка	ПП	17,21 ± 0,11* 4,80 ± 0,09	21,41 ± 0,17* 4,50 ± 0,20	18,61 ± 0,22* 4,60 ± 0,12	5,40 ± 0,29* 3,81 ± 0,16
	Ф	7,41 ± 0,09* 2,42 ± 0,13	8,11 ± 0,19* 2,60 ± 0,04	6,61 ± 0,14* 1,92 ± 0,11	2,22 ± 0,19 2,41 ± 0,21
Подслизистая основа	ПП	20,4 ± 0,6* 5,20 ± 0,12	2081 ± 0,24* 5,60 ± 0,08	18,80 ± 0,18* 4,80 ± 0,15	5,80 ± 0,06 4,31 ± 0,21
	Ф	6,10 ± 0,13* 2,63 ± 0,07	6,42 ± 0,16* 2,30 ± 0,14	5,40 ± 0,03* 2,50 ± 0,11	2,80 ± 0,17 2,82 ± 0,13
Мышечная оболочка	ПП	11,8 ± 0,4* 3,21 ± 0,08	9,91 ± 0,07* 2,80 ± 0,17	9,81 ± 0,12* 2,40 ± 0,06	2,91 ± 0,14 2,50 ± 0,15
	Ф	2,80 ± 0,07* 1,42 ± 0,15	4,20 ± 0,16* 1,20 ± 0,03	3,80 ± 0,11* 0,90 ± 0,17	1,60 ± 0,12 1,40 ± 0,15
Серозная оболочка	ПП	13,10 ± 0,17* 3,4 ± 0,06	16,3 ± 0,04* 4,21 ± 0,21	14,80 ± 0,17* 3,92 ± 0,08	3,81 ± 0,22 3,72 ± 0,15
	Ф	5,41 ± 0,08* 1,70 ± 0,04	6,40 ± 0,12* 1,91 ± 0,11	5,20 ± 0,08* 1,41 ± 0,24	1,60 ± 0,15 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<sup>2</sup> площади эндотелиоцитов; Ф — количество фенестр на 100 эндотелиоцитов.



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

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

в митохондриях эндотелиальных клеток, так и перицитов появляются деструктивные изменения. Матрикс у них 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, а, б).

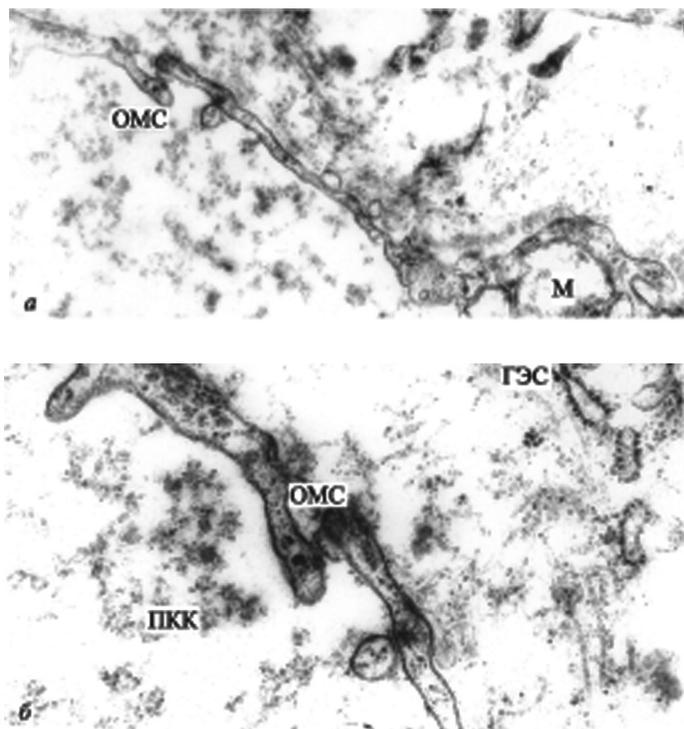


Рис. 5. Образование открытых межклеточных соединений между эндотелиоцитами кровеносных капилляров слизистой оболочки тощей кишки через 7 суток после стеноза воротной вены (а) и деталь рисунка (б).

Обозначения: ОМС — открытое межклеточное соединение; М — митохондрия; ГЭС — гранулярная эндоплазматическая сеть; ПКК — просвет кровеносного капилляра. Увеличения: 12 000 (а); 30 000 (б)

Размеры межклеточных пространств широко варьировали от 50 до 1500 нм.

Кроме капилляров следует отметить возникающие ультраструктурные изменения еще в одном звене ГМЦР — в прекапиллярных артериолах. На 5-е сутки после создания стеноза воротной вены у большинства артериол наблюдается резкое сужение просвета, в них содержится лишь плазма крови (рис. 6, а).

Между эндотелиоцитами и миоцитами в стенке артериолы всегда просматривается неравномерной величины базальный слой. Явно определяется неравномерность контуров плазмолеммы эндотелиоцитов со стороны как аблюминальной, так и люминальной поверхности. Особенно многочисленные инвагинации и выпячивания в виде цитоплазматических складок видны со стороны просвета сосуда. Наиболее отчетливо просмат-

риваются цитоплазматические отростки в области сложных межклеточных соединений (рис. 6, б).

Эндотелиоциты по окружности прекапиллярной артериолы четко дифференцированы на темные и светлые. Ядра светлых эндотелиоцитов набухшие, форма их неопределенная в связи с наличием глубоких инвагинаций (рис. 6, в).

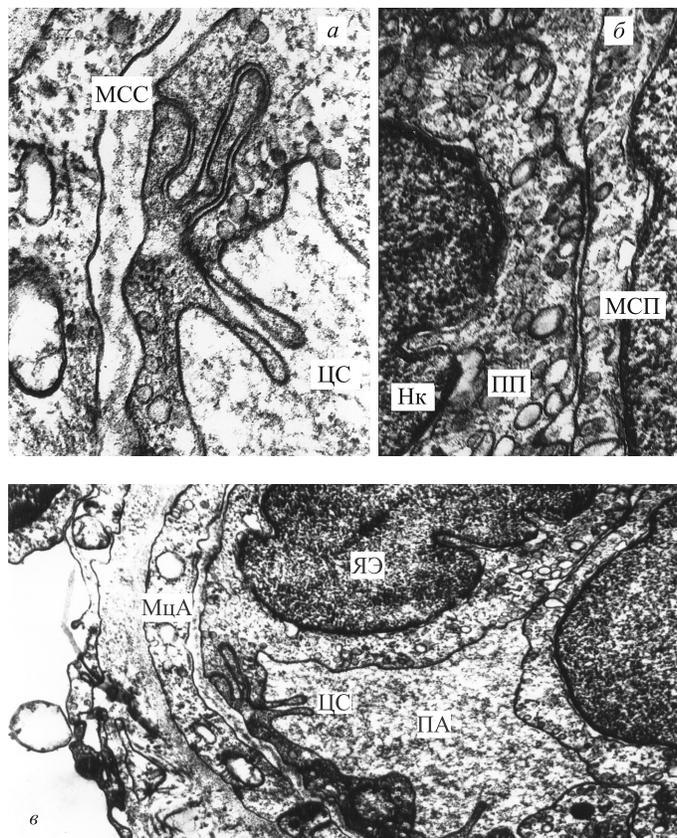


Рис. 6. Сужение просвета прекапиллярной артериолы в стенке толстой кишки через 5 суток после стеноза воротной вены (а) и детали рисунка: межклеточное сложное соединение (б); изменения ядер эндотелиоцитов (в).

Обозначения: МцА — миоцит артериолы; МСС — межклеточное соединение сложное; МСП — межклеточное соединение простое; Нк — нуклеолема; ПА — просвет артериолы; ЦС — цитоплазматическая складка; ЯЭ — ядро эндотелиоцита. Увеличения: 3000 (а); 8000 (б, в)

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. Струк-

тура цитоплазмы 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 тонкой кишки. Они связаны прежде всего с существенными реактивными компенсаторно-приспособительными и деструктивными изменениями эндотелиоцитов стенки микрососудов. Деструктивные изменения приводят к нарушению проницаемости в первую очередь стенок капилляров, что сопровождается возникновением плазморрагий и диapedезных 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. *Лыткин М. И.* Портальная гипертензия при отсутствии цирроза печени // Вестн. хир. 1967. Вып. 1. С. 44–46.
2. *Паццора 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. гистологии и эмбриологии. 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. гистологии и эмбриологии. 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., б.и., 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.