

ЗНАЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ ПЕЧЕНОЧНОЙ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ В РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПЕЧЕНИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА У КРЫС

И. В. Твердохлеб¹, И. Н. Береговенко², Д. Ю. Зиненко²

¹ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепропетровск, Украина

²Городская клиническая больница №16, г. Кривой Рог, Украина

В экспериментальных моделях острого панкреатита обнаруживается существенная реакция со стороны печеночной микроциркуляции, которая зависит от характера патоморфологических изменений в паренхиме поджелудочной железы. Такая реакция имеет фазовый характер, включающий: 1) активацию печеночной циркуляции, в первую очередь портального компонента; 2) развитие воспалительных, дистрофических и некротических изменений в печеночной паренхиме наряду с нарушением в ней микроциркуляции; 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.

© I. V. Tverdokhleba, I. N. Beregovenko, D. Yu. Zinenko, 2013

Significance of Hepatic Microcirculation Damage in Development of Pathological Changes of the Liver in Experimental Acute Pancreatitis in Rats

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.

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

Введение

Печень является первым органом-мишенью, в котором возникают основные патологические изменения при панкреатогенной токсемии под влиянием активированных панкреатических и лизосомальных ферментов, биологически активных веществ, токсических продуктов распада паренхимы поджелудочной железы при ее 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 патологического процесса циркуляторные нарушения в печени

представлены снижением линейной скорости кровотока в капиллярах, уменьшением уровня реологических показателей 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. В связи с этим целью данной работы явилось определение роли печеночной микроциркуляции в развитии структурно-

функциональных нарушений паренхимы печени вследствие острого воспалительного поражения поджелудочной железы.

Материал и методы исследования

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

В первой модели половозрелым крысам-самцам массой 150–200 г однократно вводили раствор L-аргинина в различных 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 через 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 кетамина 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 раствора таурохолата натрия различной концентрации: 1%, 2,5% и 5%. 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 развитие гидропической дистрофии в цитоплазме панкреатоцитов уже через 4 часа эксперимента. На начальных стадиях развития панкреатита отмечался выраженный межклеточный отек, межацинарное пространство расширялось.

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 была 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 кариорексиса. 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 признаками кариопикноза и кариорексиса. Явления воспалительной инфильтрации не наблюдались.

Некротические изменения в составе поджелудочной железы были отмечены через 8 часов эксперимента во всех исследуемых группах. Также наблюдалось возрастание гидропической дистрофии спустя 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. Пери-

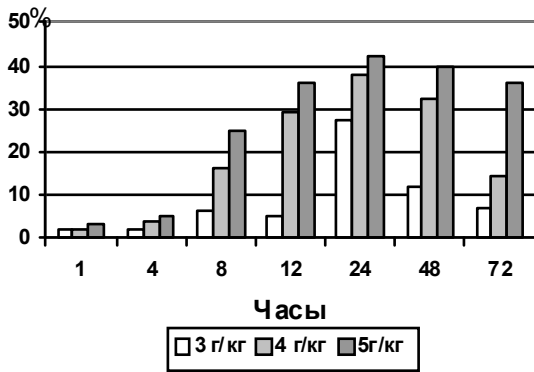


Рис. 1. Относительное количество (%) некротизированных ацинарных эпителиоцитов поджелудочной железы крыс при экспериментальном панкреатите после введения различных доз L-аргинина.

васкулярный отек и повреждение сосудистой стенки в наибольшей степени отмечались в пределах артериол и капилляров 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 неравномерным и существенно расширен, содержал множественные пристеночные агрегаты эритроцитов. Через 24 часа после 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. Ее просвет содержал незначительное количество форменных элементов, хотя и был заметно расширенным. Кроме апоптотически измененных гепатоцитов, на периферии долек обнаруживались скопления клеток с вакуолизированным или пикнотически измененным ядром, отежной неравномерно окрашенной цитоплазмой с признаками дегенерации. На протяжении 1-х суток эксперимента постепенно нарастали явления холангита и воспалительной инфильтрации гистиоцитами, плазмоцитами и, в меньшей степени, нейтрофилами, причем выраженность инфильтрацион-

ных процессов зависела от дозы L-аргинина.

Через 48 часов патоморфологические изменения поджелудочной железы нарастали, а некоторая оптимизация морфологических изменений наблюдалась к концу 3 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 структура одиночных экзокринных элементов поджелудочной железы приближалась к контрольным показателям, а в группе с введением 3 г/кг количество таких клеток значительно увеличивалось. Большинство ацинусов в группах с введением 4 г/кг и 5 г/кг отличались нарушением гистоархитектоники и только некоторые из них сохраняли 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 структуры портальных сосудов и компонентов портальных трактов. Гепатоциты имели признаки диффузного мелкоочагового некроза, умеренных дегенеративных и дистрофических изменений, наблюдались явления холестаза и холангита. Воспалительная инфильтрация значительно ограничивалась, околососудистая 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 таковую на предыдущих этапах исследования. Большинство печеночных долек содержали большие некротические участки в разных зонах, остальные гепатоциты имели вакуо-

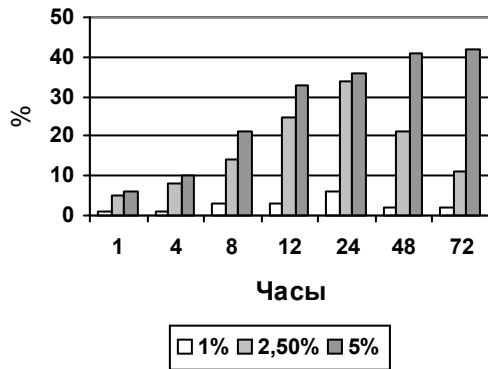


Рис. 2. Относительное количество (%) некротизированных ацинарных эпителиоцитов головки поджелудочной железы крыс при экспериментальном панкреатите после введения различных концентраций таурохолата натрия.

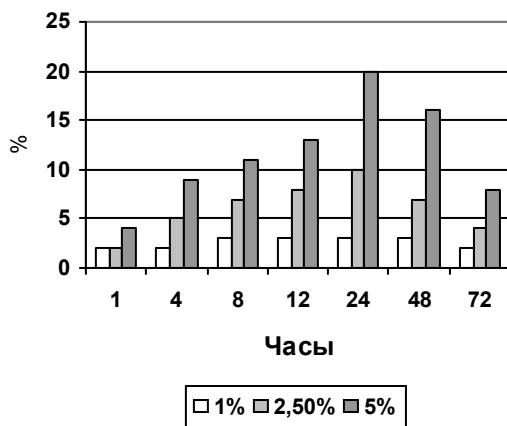


Рис. 3. Относительное количество (%) некротизированных ацинарных эпителиоцитов хвоста поджелудочной железы крыс при экспериментальном панкреатите после введения различных концентраций таурохолата натрия.

лизированную 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% и 5% растворов, составила 3 из 5 крыс. В группах с введением 5% раствора таурохолата из 5 животных к концу 2 суток выжило только одно.

Патоморфологические изменения поджелудочной железы также имели характер интерстициального отека, лимфоидной инфильтрации, некротических и микрососудистых изменений с преобладанием последних. Максимальная выра-

женность этих изменений была в моделях с использованием 2.5% и 5% 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).

Геморрагические изменения в головке железы проявлялись нарушением целостности стенки сосудов мелкого калибра и капилляров с формированием внутри- и субкапсулярных кровоизлияний, что отмечалось уже через 1 час после введения таурохолата натрия. В дальнейшей зоне с наибольшими микрососудистыми повреждениями отличались максимальной выраженностью 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 печени животных через 1 час после введения таурохолата натрия всех исследуемых концентраций не наблюдалось существенных патологических изменений. Только через 4 часа после введения 5% раствора таурохолата натрия 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 трактов, включая сосудистый компонент, были незначительны. В это время только одиночные гепатоциты проявляли апоптотические, деструктивные или дистрофические изменения.

В конце вторых суток моделирования острого панкреатита в печеночных дольках наблюдались мелкие очаги некротически измененных гепатоцитов на фоне умеренного холангита. Стенка синусоидов и перисинусоидальное пространство оставались без существенных нарушений. В просвете синусоидов изредка отмечалось сладжирование эритроцитов.

Через 48 часов после введения 5%

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 сосудов 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% и 2.5% растворов таурохолата натрия признаки острого воспаления отсутствовали, дистрофические и некробиотические процессы сохранялись в единичных гепатоцитах, в микрососудистом компоненте, в целом, проявлялась структурно-функциональная компенсация большинства звеньев. После использования 5% раствора таурохолата натрия наблюдалось умеренное количество мелких некротических очагов, выраженная диффузная дегенерация гепатоцитов, явления воспалительной инфильтрации печеночной паренхимы и умеренные изменения структуры синусоидных капилляров.

Заключение

В экспериментальных моделях острого панкреатита с интраперитонеальным введением различных доз раствора L-аргинина и внутрипротоковой 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.

Список литературы

1. *Диагностика нарушений микрогемодинамики при остром панкреатите* / Ю. С. Винник, Д. В. Черданцев, А. А. Вахрунин [и др.] // *Методология флюометрии*. М.: Трансоник, 1997. С. 93–106.
2. *Изменения в панкреатогепатодуоденальных органах при экспериментальном остром липогенном панкреатите* / А. Д. Дибиров, В. А. Петухов, М. Д. Донскова [и др.] // *Бюлл. exper. биол. мед.* 2000. Т. 130, № 8. С. 813–817.
3. *Перспективные направления в терапии острого панкреатита* / Р. Б. Мумладзе, С. М. Чудных, О. Е. Колесова [и др.] // *Анналы хир.* 1996. № 3. С. 37–41.
4. *Повреждения печени в ходе экспериментального острого панкреатита* / М. Е. Мозжелин, А. И. Венгеровский, И. В. Суходолов, А. С. Саратиков // *Бюлл. exper. 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, Н. Н. Сарбаева, М. Н. Милякова, В. П. Детюченко // *Бюлл. exper. биол. мед.* 2001. Т. 132, № 8. С. 167–169.
6. *Энтеральная коррекция гомеостаза при остром панкреатите* / В. А. Пенин, С. И. Емельянов, Г. С. Рыбаков [и др.] // *Хирургия*. 1996. № 2. С. 8–11.
7. *Apoptotic cell death of hepatocytes in rat experimental severe acute pancreatitis* / Y. Takeyama, Y. Hori, K. Takase [et al.] // *Surgery*. 2000. Vol. 127, № 1. P. 55–64.
8. *Early activation of endoplasmic reticulum stress is associated with arginine-induced acute pancreatitis* / C. H. Kubisch, M. D. Sans, T. Arumugam [et al.] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2006. Vol. 291. P. 238–245.
9. *Hepatic histopathological changes in biliary pancreatitis* / M. Isogai, A. Yamaguchi, A. Hori, S. Nakano // *Am. J. Gastroenterol.* 1995. Vol. 90, № 3. P. 449–454.
10. *Histopathological sequential changes in sodium taurocholate-induced acute pancreatitis* / A. Kudari, J. D. Wig, K. Vaiphei [et al.] // *Jop. J. Pancreas*. 2007. Vol. 8, № 5. P. 564–572.

Информация об авторах

Твердохлеб И. В. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой гистологии ГУ “Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины”, г. Днепропетровск, Украина. E-mail: ivt@dsma.dp.ua

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

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

Поступила в редакцию 28.02.2013 г.