

---

**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. ТВЕРДОХЛЕБ<sup>1</sup>, И.Н. БЕРЕГОВЕНКО<sup>2</sup>, Д.Ю. ЗИНЕНКО<sup>2</sup>*

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. TVERDOKHLEB<sup>1</sup>, I.N. BEREGOVENKO<sup>2</sup>, D.YU. ZINENKO<sup>2</sup>*

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 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 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 артериолярного 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

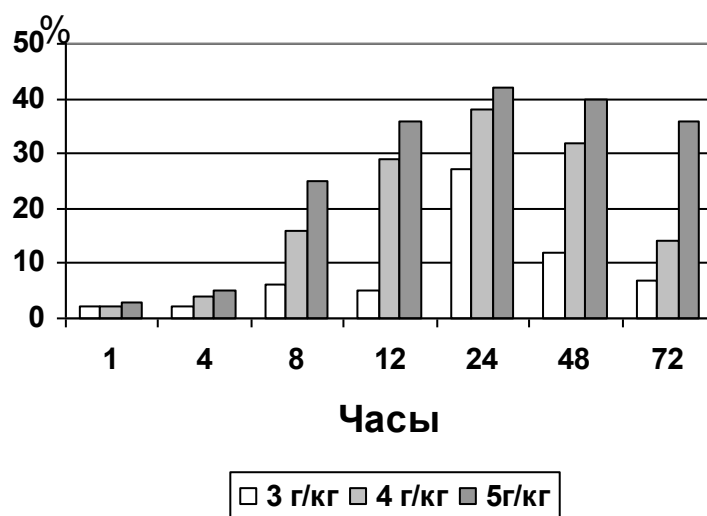


Рис. 1. Относительное количество (%) некротизированных ацинарных эпителиоцитов поджелудочной железы крыс при экспериментальном панкреатите после введения различных доз L-аргинина

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 таурохолат 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 таурохолат 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).

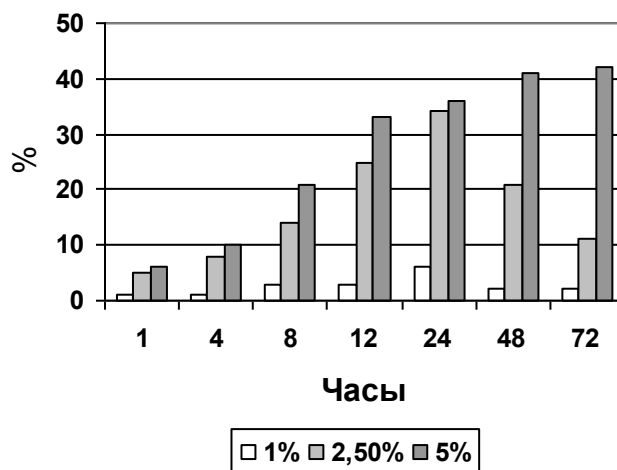


Рис. 2. Относительное количество (%) некротизированных ацинарных эпителиоцитов головки поджелудочной железы крыс при экспериментальном панкреатите после введения различных концентраций таурохолата натрия

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.

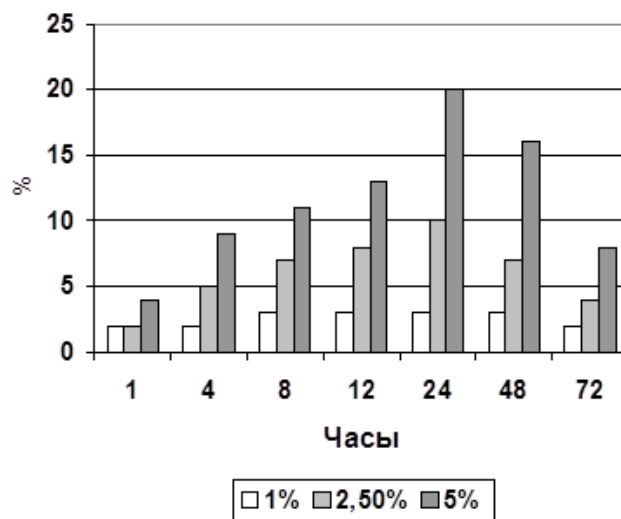


Рис. 3. Относительное количество (%) некротизированных ацинарных эпителиоцитов хвоста поджелудочной железы крыс при экспериментальном панкреатите после введения различных концентраций таурохолата натрия

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 го-меостаза 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.