

МОРФОЛОГІЯ СУДИННОГО РУСЛА ТА СПОЛУЧНОТКАНИННОГО КАРКАСУ СЕЛЕЗІНКИ ПРИ ПОРТАЛЬНІЙ ГІПЕРТЕНЗІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

К.О.Прокопець

*Кафедра оперативної хірургії та топографічної анатомії (зав. – проф. М.П.Ковальський)
Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, м. Київ*

Резюме. У статті наведено морфофункціональні зміни судинного русла та сполучнотканинного каркасу селезінки при експериментальній портальній гіпертензії.

Ключові слова: експериментальна портальна гіпертензія, морфофункціональні зміни, селезінка.

Відомості про стан судинного русла і сполучнотканинний каркас селезінки в умовах портального блоку нерідко суперечливі і важко зіставити. Розбіжності в оцінці та виборі методів лікування синдрому портальної гіпертензії (ПГ) та його ускладнень значною мірою зумовлені відсутністю чітких критеріїв оцінки динаміки структурних перетворень судинного русла та сполучнотканинного каркасу селезінки.

Мета дослідження. Визначити закономірності морфофункціональних перетворень селезінки в умовах експериментальної ПГ.

Матеріал і методи. Дослідження виконані на 33 7-місячних щурах-самцях лінії «Vistar albicans». Маса тварин до початку експерименту становила 300-320 г. Утримування тварин відповідає вимогам для віваріїв НДІ. Під час проведення експерименту керувалися положеннями GLP (1981) та дозволом Комісії з біоетики НМУ (протокол № 38 від 27.05.09 р.). Тривалість дослідження становила 360 днів. Тваринам основної групи моделювали: 1) гостру підпечінкову ПГ (5 тварин) шляхом одномоментного повного звуження ворітної вени (ВВ) за допомогою лігатури; 2) хронічну підпечінкову ПГ (23 тварини) шляхом неповного звуження ВВ за методом А.Д.Бекова, С.И.Бондаря (пат. СССР № 1583963; 1988). Контролем слугував матеріал від 5 тварин без оперативних втручань. Метод анестезії – наркоз (підшкірно 10% розчин тіопенталу натрію 0,5 мл на 100 г маси). Оперативні втручання виконували на основі даних про анатомічну будову щурів [1]. Тва-

рин, які вижили до закінчення експерименту, піддавали евтаназії через 1, 3, 7, 30, 90, 180 та 360 діб шляхом підвищення концентрації загального анестетика після виконання лапаротомії та вимірювання тиску крові у ВВ. Всіх тварин, виведених з експерименту, а також тих, що загинули в післяопераційному періоді, розтинали. Для гістологічного та гістохімічного дослідження вирізали фрагменти селезінки товщиною до 0,5 см з різних її відділів. Гістологічні препарати фарбували гематоксиліном і еозином та за методом ван Гізона [2]. Глікозаміноглікани виявляли фарбуванням за методом Mc Manus; глікозаміноглікани з кислою реакцією – реакцією метахромазії з толуїдиновим синім при рН=5,0; нуклеїнові кислоти – за методом Фельгена з реактивом Шиффа (для виявлення ДНК) та Браше з метиленовим зеленим і піроніном (для виявлення РНК) [3]; фібрин – за методом Picro-Mallori [4]. Для контролю специфічності реакцій використовували амілазу для методики Mc Manus, дезоксирибонуклеазу – для методу Фельгена, рибонуклеазу – для методу Браше. Активність АТФ-ази визначали за методом Гоморі в модифікації M. Wachstein, E. Meisel [5].

Для світлової мікроскопії та мікрофотографування препаратів використані мікроскопи «Axioskop» («Carl Zeiss Jena») та «Биолам-70» («ЛМО»). Визначали такі морфометричні параметри селезінки: 1) питому вагу капсули і трабекул; 2) питому вагу паренхіми – клітинних елементів червоної і білої пульпи;

3) питому вагу сполучної тканини; 4) діаметр просвіту і товщину стінки центральних артерій лімфоїдних фолікулів. Визначення питомої ваги тканин селезінки проводили на препаратах, пофарбованих гематоксилином і еозином та за методом ван Гізон, за рекомендаціями Г.Г.Автандилова [6]. Вираховували середню арифметичну величину згрупованого ряду (M), середню похибку середньої арифметичної (m). При оцінці суттєвості різниці між середніми та відносними величинами вираховували коефіцієнт вірогідності (p) за критерієм Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Ми отримали поступове зростання тиску крові у ВВ – від 174 ± 18 мм вод. ст. (7-10 діб експерименту) до максимального значення 178 ± 15 мм. вод. ст. (30 діб) і подальше повільне зменшення його значень – до 154 ± 21 мм вод. ст. При підвищенні тиску у ВВ в органах портального басейну виникають адаптаційні та патологічні зміни внутрішньоорганного кровообігу, які відіграють певну роль у патогенезі ПГ. Беручи до уваги положення про судинно-тканинний модуль [7], ми розглядали зміни внутрішньоорганної судинної системи разом зі змінами в тканинах, які живляться за рахунок цієї системи.

Після 1-3 діб розвитку експериментальної ПГ морфологічна картина селезінки характеризувалася загальним набряком всіх її структур (рис. 1). До цього стану призводить низка компенсаторно-приспосувальних і патологічних реакцій селезінки у відповідь на різке підвищення тиску в ВВ. Але чіткої межі між цими процесами провести неможливо. Звуження артеріальної частини судинної системи селезінки (рис. 2) можна розглядати, як реакцію судин на зменшення притоку крові до органа. Виражене розширення трабекулярних вен і венозних синусів червоної пульпи свідчить про те, що під час венотної гіпертензії компенсаторно-приспосувальні механізми запускаються переважно на рівні венозного русла. Повнокров'я венозної частини судинної системи, агрегація клітинних елементів крові в них – це прояви патологічного стану, які є прямими ознаками порушення гемодинаміки у портальній системі, що призводять до зростання судинної проникності для рідкої частини плазми крові. У результаті згущення крові та утворення у просвіті судин агрегатів клітинних елементів крові порушуються її реологічні властивості в бік підвищення в'язкості, що швидко блокує капілярний кровотік і приз-

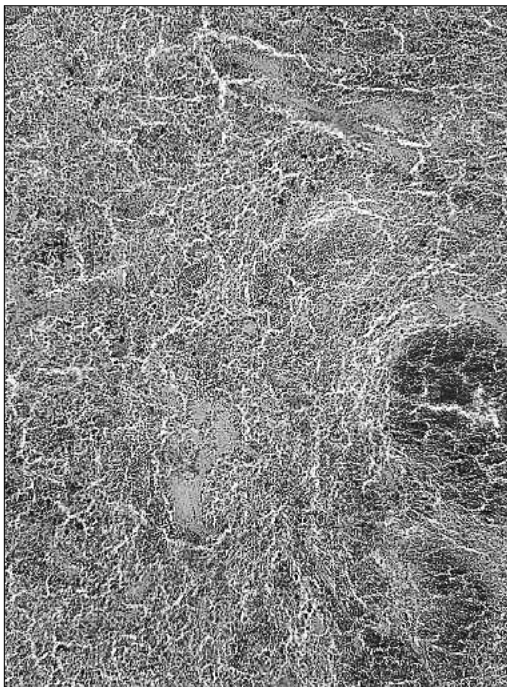


Рис. 1. Набряк трабекул, повнокров'я червоної пульпи, чітке розмежування червоної та білої пульпи селезінки через 3 доби експерименту. Мікропрепарат. Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб. $100\times$.

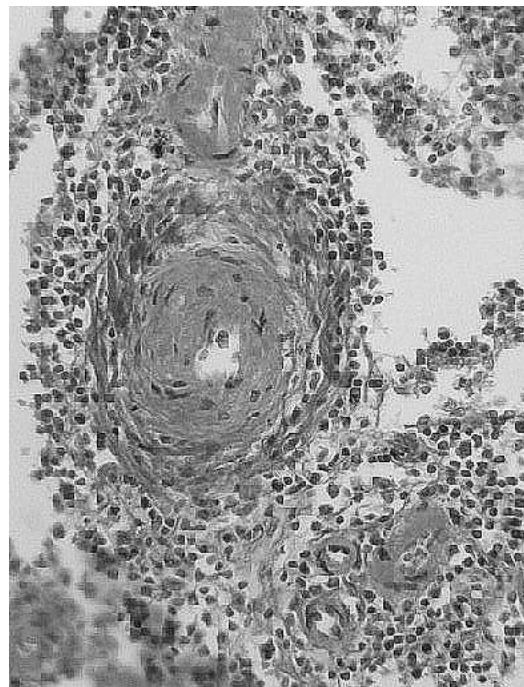


Рис. 2. Спазмована центральна артерія лімфоїдного фолікула селезінки зі звуженим просвітом через 3 доби експерименту. Мікропрепарат. Забарвлення за методом ван Гізон. Зб. $400\times$.

водить до ішемії тканин селезінки, яка посилюється спазмом артеріальної системи [8].

Зростання метакроматичних властивостей стінок кровоносних судин при фарбуванні толуїдиновим синім при рН 6,7 свідчить про нагромадження кислих мукополісахаридів, зокрема гіалуронової кислоти. Такі зміни можна розглядати як деполімеризацію білковополісахаридних комплексів, внаслідок чого порушується судинно-тканинна проникність. Підвищення рівня АТФ-ази в стінках артеріальних і венозних судин селезінки, а також підвищення активності лужної фосфатази в їх ендотелії свідчить про підвищення транспорту речовин через біологічні мембрани [9]. На думку Я.А.Караганова и др. [10], це характерно для початкових стадій зростання судинно-тканинної проникності. Підвищення активності кислої фосфатази у стінках судин може свідчити про підсилення процесів фагоцитозу і піноцитозу, оскільки лізосомальні ферменти активуються при проникненні таким шляхом сторонніх речовин у клітину [3].

Через 7-10 діб після початку моделювання ПГ патологічні зміни строми і паренхіми селезінки зростають і досягають максимального вираження на 30-й день. Морфологічні зміни капсули і трабекул селезінки характеризували подальше збільшення ступеня набряку волокнистих структур і, як результат, збільшення питомої ваги капсули і трабекул. Ця тенденція підтверджується даними морфометричного аналізу (табл.). Збільшення об'єму строми органа призводить до початку руйнування структури волокнистих елементів – розшарування пучків колагенових волокон та порушення архітектоніки еластичних волокон. Але процес деструкції строми селезінки, а значить і ступінь набряку більше виражені в капсулі органа, зокрема в його зовнішньому і внутрішньому шарах. Саме в цих шарах трапляється найбільша кількість розшарованих колагенових волокон. Це пояснюється тим, що саме середній шар є основним функціональним шаром, який перешкоджає перерозтягуванню селезінки під час зміни її об'єму [11]. Навпаки, набряклішою частиною трабекул селезінки є середня їх частина. Це відбувається за рахунок того, що саме в цій частині трабекул розташовуються трабекулярні судини, при порушенні судинно-тканинної проникності яких і виникають розшарування. Дані морфометричного аналізу пока-

зують, що питома вага капсули і трабекул селезінки зросла в порівнянні з даними тварин контрольної групи. Морфологічні зміни паренхіми селезінки характеризуються значним збільшенням об'єму червоної пульпи. Збільшення об'єму венозних синусів виникає за рахунок переповнення їх венозною кров'ю. Таке перерозтягування синусів призводить до збільшення кількості і розмірів пор між ендотеліальними клітинами. Ці зміни призводять до переважання кров'ю пульпарних тяжів і збільшення їх об'єму.

З боку судинної системи селезінки патологічні процеси характеризуються подальшим зростанням змін у стінках артерій і вен (рис. 3). Плазматичне просякання стінок судин, набряк і лізис ядер ендотеліоцитів, зниження рівня нуклеопротейдів ендотелію зі зниженням активності АТФ-ази та лужної фосфатази вказують на поглиблення патологічного процесу в стінках судин, зменшення синтетичних та регенераторних властивостей клітин [12]. Спазм артеріальної ланки судинної системи селезінки є рефлекторною відповіддю на венозну гіпертензію і венозний стаз. Такий стан судин ще більше поглиблює ішемію їх стінок і призводить до збільшення загальної ішемії тканин селезінки. На порушення трофіки стінки центральних артерій білої пульпи вказує значний набряк гладеньких м'язових клітин з утворенням порожнин поміж ними, а також розшарування зовнішньої оболонки артеріальних судин. Через 30 діб після моделювання ПГ спостерігається найбільше розширення трабекулярних вен і венозних синусів червоної пульпи. Питома вага венозних синусів червоної пульпи вірогідно зросла вдвічі порівняно з тваринами попереднього терміну та контрольної групи. Це пояснюється тим, що в даний термін розвитку ПГ істотно збільшується ємність артеріальної частини судинної системи селезінки. А це призводить до значного збільшення притоку артеріальної крові і, як наслідок, переважання червоної пульпи клітинними елементами крові. Показник питомої ваги просвітів центральних артерій зростає порівняно з попереднім терміном і перевищує цей показник контрольної групи тварин, але розбіжність цих даних статистично невірогідна. Повернення просвіту центральних артерій до розмірів контрольної групи вказує на пристосування артеріальної системи селезінки до умов венозної гіпертензії.

Таблиця

Морфометричні показники селезінки в різні терміни експериментальної портальної гіпертензії, $M \pm m$, (%)

	Контрольна група	Тривалість спостереження (діб)				
		7-10	30	90	180	360
Маса селезінки	1,34±0,42	3,64±0,1 p(k)<0,05	3,09±0,2 p(k)<0,05 p<0,05	2,4±0,14 p(k)<0,05 p<0,05	2,36±0,1 p(k)<0,05 p<0,05	2,24±0,1 p(k)<0,05 p<0,05
Питома вага капсули	5,5±0,2	5,9±0,25 p(k)<0,05	7,4±0,3 p(k)<0,05 p<0,05	8,1±0,4 p(k)<0,05 p<0,05	9,0±0,4 p(k)<0,05 p<0,05	11,66±0,5 p(k)<0,05 p<0,05
Питома вага трабекул	13,8±0,6	14,1±0,65 p(k)<0,05	16,15±0,7 p(k)<0,05 p<0,05	18,4±0,7 p(k)<0,05 p<0,05	20,68±0,9 p(k)<0,05 p<0,05	23,4±1,1 p(k)<0,05 p<0,05
ЧП/К	59,8±2,45	62,8±2,9 p(k)<0,05	51,9±2,4 p(k)<0,05 p<0,05	50,1±2,2 p(k)<0,05 p<0,05	50,27±2,2 p(k)<0,05 p<0,05	47,56±2,4 p(k)<0,05 p<0,05
ЧП/ВС	7,4±0,3	7,92±0,35 p(k)<0,05	14,3±0,6 p(k)<0,05 p<0,05	13,8±0,4 p(k)<0,05 p<0,05	12,1±0,5 p(k)<0,05 p<0,05	9,7±0,4 p(k)<0,05 p<0,05
БП/К	13,2±0,55	9,03±0,4 p(k)<0,05	9,85±0,42 p(k)<0,05 p>0,05	8,81±0,4 p(k)<0,05 p<0,05	7,38±0,3 p(k)<0,05 p<0,05	6,5±0,3 p(k)<0,05 p<0,05
БП/ПЦА	0,09±0,004	0,05±0,002 p(k)<0,05	0,1±0,004 p(k)>0,05 p<0,05	0,1±0,003 p(k)<0,05 p<0,05	0,12±0,005 p(k)<0,05 p<0,05	0,08±0,004 p(k)<0,05 p<0,05
БП/СЦА	0,2±0,009	0,2±0,001 p(k)<0,05	0,3±0,012 p(k)<0,05 p<0,05	0,41±0,02 p(k)<0,05 p<0,05	0,45±0,02 p(k)<0,05 p<0,05	0,7±0,03 p(k)<0,05 p<0,05

Примітка: БП – біла пульпа; ВС – венозний синус; К – капсула; ПЦА – просвіт центральної артерії; СЦА – стінка центральної артерії; ЧП – червона пульпа; p(k) – критерій вірогідності розбіжності даного показника в порівнянні з показниками інтактних тварин; p – критерій вірогідності розбіжності даного показника в порівнянні з показниками попереднього терміну спостереження.

Згущення клітинних елементів крові, наявність їх агрегатів у просвіті судин капсули і трабекул, а також у просвіті центральних артерій лімфоїдних фолікулів вказують на збереження порушення реологічних властивостей крові та ішемії тканини селезінки. Одночасно в даний період спостерігається збільшення питомої ваги стінок центральних артерій порівняно з тваринами контрольної групи, що пояснюється як гіпертрофією м'язової оболонки судин, так і утворенням сполучнотканинної муфти навколо центральних артерій лімфоїдного фолікула. Дані процеси є відповіддю на тривалу гіпоксію стінок судин. Зменшення рівня АТФ-ази і лужної фосфатази в стінках центральних артерій вказує на початок деструктивних процесів у стінках судин. Різний ступінь сприйняття барв-

ника стромою селезінки при фарбуванні за методом ван Гізон вказує на різний рівень інтенсивності процесів синтезу сполучної тканини. Рівень утворення сполучної тканини в капсулі селезінки більший у зовнішньому та внутрішньому її шарах, а в трабекулах – навколо трабекулярних судин та в їх зовнішніх ділянках. Результатом цих процесів є вірогідне збільшення питомої ваги капсули і трабекул, а також суттєве збільшення питомої ваги сполучної тканини в даний період моделювання ПГ в порівнянні з попереднім терміном.

Через 90-180 діб для капсули і трабекул селезінки характерно зникнення набряку і значне розшарування колагенових волокон та порушення структури еластичних волокон всіх шарів стромы. При цьому між волокнистими

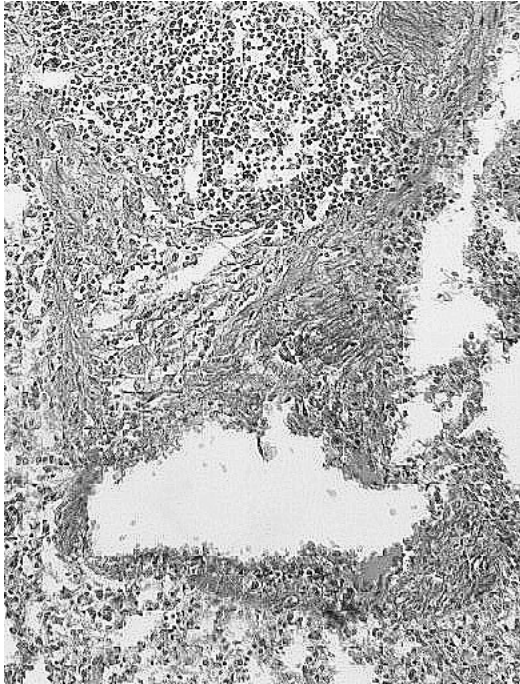


Рис. 3. Набряк стінки та адгезія еритроцитів у просвіті трабекулярної вени селезінки через 30 діб експерименту. Мікропрепарат. Забарвлення за методом ван Гізон. Зб. 100[×].

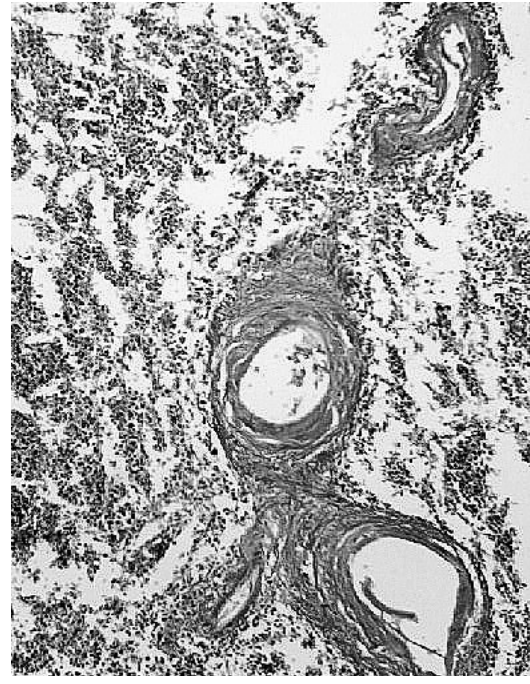


Рис. 4. Десквамація ендотеліоцитів у просвіті вени та розшарування волокон зовнішнього шару артеріальної стінки у селезінці через 90 діб експерименту. Мікропрепарат. Забарвлення за методом ван Гізон. Зб. 100[×].

структурами утворювались порожнини, в яких виявлялося значне нагромадження нейтральних глікозаміногліканів, що вказує на активність процесу утворення сполучної тканини. На активний процес склерозу капсули і трабекул селезінки вказує також вірогідне збільшення питомої ваги строми. Забарвлення строми в фіолетовий колір при фарбуванні на кислі мукополісахариди в порівнянні з синім забарвленням паренхіми свідчить про те, що в капсулі і трабекулах процес склерозування інтенсивніший, ніж у червоній і білій пульпах. Зміни судинної системи селезінки характеризувалися значним порушенням гемодинаміки і, як результат, у трабекулярних венах та венозних синусах червоної пульпи спостерігався активний процес тромбоутворення. У трабекулярних венах утворювалися як пристінкові тромби, так і обтуруючі. Венозні синуси заповнені агрегатами клітинних елементів крові (рис. 4). Умови хронічної гіпоксії артеріальних судин призводять до значного порушення структури стінки трабекулярних артерій з виникненням крововиливів у структуру трабекул, про що свідчать значні розшарування трабекул селезінки з утворенням великої кількості порожнин навколо трабекулярних артерій. Збільшення питомої ваги стінок

центральної артерій при морфометричному дослідженні свідчить про значне збільшення сполучнотканинної муфти навколо головних судин білої пульпи при збереженні просвіту, близького до значень тварин контрольної групи.

Через 360 діб ступінь патологічних процесів збільшується у всіх структурних ланках селезінки. В її стромі спостерігається завершення процесу утворення сполучної тканини, на що вказує червоне забарвлення капсули і трабекул при фарбуванні на кислі мукополісахариди. Тенденція до склерозу та атрофії паренхіми селезінки зберігається; в цей період ці патологічні процеси набувають максимального ступеня. Ці дані підтверджуються морфометричним дослідженням: вірогідно зменшується питома вага клітин червоної і білої пульп. У стінках артеріальних судин селезінки і навколо них визначається значне розростання сполучної тканини, в результаті чого товщина стінки центральної артерій білої пульпи збільшується в 3,5 раза. Результатом названих тенденцій є збільшення сполучної тканини в порівнянні з тваринами контрольної групи майже вдвічі.

Висновки. 1. Результати експериментального дослідження свідчать, що при портальній гіпертензії в селезінці виникають виражені аль-

теративні та компенсаторно-приспосувальні зміни. 2. У ранні терміни портальної гіпертензії в результаті значного венозного застою виникає розширення внутрішньоорганних судин селезінки. Порушення судинної проникності призводить до набряку всіх структур селезінки з їх

геморагічною та лімфоїдно-гістіоцитарною інфільтрацією. 3. У пізні терміни експерименту спостерігається тенденція до зростання в селезінці частки сполучної тканини, склерозу та атрофії паренхіми з їх максимальним вираженням наприкінці дослідження.

Література

1. Ноздрачѳв А.Д. *Анатомия крысы (Лабораторные животные)* / А.Д.Ноздрачѳв, Е.Л.Поляков; под ред. А.Д.Ноздрачѳва. – СПб.: Лань, 2001. – 464 с.
2. Меркулов Г.А. *Курс патогистологической техники* / Меркулов Г.А. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с.
3. Луппа Х. *Основы гистохимии* / Луппа Х.; пер. с нем. И.Б.Бухвалова, Е.Д.Вальтер; под ред. Н.Т.Райхлина. – М.: Мир, 1980. – 343 с.
4. Зербино Д.Д. *Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови* / Д.Д.Зербино, Л.Л.Лукаевич. – М.: Медицина, 1989. – 255 с.
5. Лойда З. *Гистохимия ферментов. Лабораторные методы* / Лойда З., Госспрау Р., Шиблер Т.; пер. с англ. – М.: Мир, 1982. – 272 с.
6. Автандилов Г.Г. *Медицинская морфометрия* / Автандилов Г.Г. – М.: Медицина, 1990. – 318 с.
7. *Современные представления об организации системы микроциркуляции. Научный обзор* / под ред. В.В.Куприянова, В.Н.Колмыковой. – М., 1982. – 84 с.
8. Ярыгин Н.Е. *Конструкция системы гемомикроциркуляции: ее моделирование в эмбриогенезе и ремоделирование в условиях патологии* / Ярыгин Н.Е., Кораблѳв А.В., Николаева Т.Н. – М.: Изд. РГМУ, 2001. – 247 с.
9. Берстон М. *Гистохимия ферментов* / Берстон М. – М.: Мир, 1965. – 464 с.
10. Караганов Я.Л. *Микроциркуляторное русло* / Караганов Я.Л., Куприянов В.В. и др. – М.: Медицина, 1975. – 168 с.
11. Сорокин А.П. *Клиническая морфология селезѳнки* / Сорокин А.П., Полянкин Н.Я., Федонюк Я.И. – М.: Медицина, 1989. – 154 с.
12. Ярыгин Н.Е. *Атлас патологической гистологии* / Н.Е.Ярыгин, В.В.Серов. – М.: Медицина, 1977. – 214 с.

МОРФОЛОГИЯ СОСУДИСТОГО РУСЛА И СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОГО ОСТОВА СЕЛЕЗѳНКИ ПРИ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. В статье приведены морфофункциональные изменения сосудистого русла и соединительнотканного остова селезѳнки при экспериментальной портальной гипертензии.

Ключевые слова: экспериментальная портальная гипертензия, морфофункциональные изменения, селезѳнка.

MORPHOLOGY OF THE VASCULAR BED AND THE CONNECTIVE TISSUE FRAMEWORK OF THE SPLEEN IN EXPERIMENTAL PORTAL HYPERTENSION

Abstract. The paper deals with morphofunctional changes of the vascular bed and the connective tissue framework of the spleen in experimental portal hypertension.

Key words: experimental portal hypertension, morphofunctional changes, spleen.

O.O.Bohomolets National Medical University (Kyiv)

Надійшла 25.10.2010 р.

Рецензент – д. мед. н. І.Ю.Олійник (Чернівці)