

# ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ



УДК 616.36–076:612.35:616.37–002–021.6

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ БИЛИАРНОМ ПАНКРЕАТИТЕ

**И. Н. Мамонтов, Т. И. Тамм, И. В. Ивахно, В. А. Панасенко, В. И. Падалко, Я. Ю. Самбург**

Харьковская медицинская академия последипломного образования,  
Харьковский национальный медицинский университет,  
Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина

## MORPHOLOGICAL CHANGES OF LIVER IN EXPERIMENTAL ACUTE BILIARY PANCREATITIS

**I. N. Mamontov, T. I. Tamm, I. V. Ivakhno, V. A. Panasenko, V. I. Padalko, Ya. Yu. Samburg**

Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education,  
Kharkov National Medical University,  
V. N. Karazin Kharkov National University

### Реферат

У крыс линии Вистар моделировали холестаза путем перевязки общего желчного протока (ОЖП), острый билиарный панкреатит (ОБП) — низкой перевязки билиопанкреатического протока. Образцы печени исследовали через 1, 3, 7 сут. По данным морфологических исследований, у крыс обеих групп выявлены очаги некроза гепатоцитов, их гипертрофия с увеличением ядерно—цитоплазматического отношения (ЯЦО), увеличение объемной плотности (Vv) воротных каналов, количества желчных протоков, синусоидных клеток. Морфологические изменения в печени при экспериментальном ОБП обусловлены последствиями холестаза, они возникали раньше и были достоверно более выражены при обструктивном холестазе (ОХ).

**Ключевые слова:** экспериментальный билиарный панкреатит; экспериментальный обструктивный холестаза; морфологические изменения печени.

### Abstract

In rats of a Wistar line a cholestasis was simulated, using ligation of common biliary duct, and an acute biliary pancreatitis — using low ligation of biliopancreatic duct. Hepatic specimens were investigated in 1, 3, and 7 days. In accordance to the morphological data obtained, in rats of both groups there were revealed the foci of hepatocytic necrosis, their hypertrophy with enhancement of nucleo—cytoplasmatic ratio, of the portal channels volumetric density, of the biliary ducts and sinusoid cells quantity. Morphological changes in experimental acute biliary pancreatitis are caused by cholestasis consequences, in obstructive cholestasis they occur earlier and are trustworthy more pronounced.

**Keywords:** experimental biliary pancreatitis; experimental obstructive cholestasis; hepatic morphological changes.

Острый панкреатит (ОП) занимает третье место в структуре острых хирургических заболеваний органов брюшной полости, уступая лишь острому аппендициту и острому холециститу [1, 2]. Основными этиологическими факторами ОП являются злоупотребление алкоголем и желчнокаменная болезнь [1 — 3], при которой нарушение проходимости дистального отдела внепеченочных желчных протоков обуславливает возникновение ОП. Билиарная обструкция может быть как транзиторной — при миграции мел-

ких конкрементов или желчного сладжа, так и длительной — при холедохолитиазе и наличии фиксированного камня большого сосочка двенадцатиперстной кишки [1, 3]. Летальность при тяжелом течении ОП может достигать 20% и обусловлена системными и местными осложнениями [1, 3].

Системные осложнения ОП характеризуются поражением сердечно—сосудистой системы, легких, центральной нервной системы, почек, печени [2, 3]. При ОБП дисфункцию печени диагностируют у 66%

больных [2]. Поражение печени, очевидно, является холестатическим, вследствие нарушения проходимости желчевыводящих путей. Патогенетическое влияние ОП на функцию и морфологию печени не изучено.

Гистологические изменения печени подробно изучены как при ОХ [4 — 6], так и экспериментальном ОП [7 — 9]. Однако исследования гистологических изменений печени при ОП билиарного генеза с оценкой сочетанного влияния двух патологических факторов — холестаза и

панкреатогенной токсемии — отсутствуют.

Цель исследования: сравнительное изучение морфологических изменений печени крыс при экспериментальном ОБП и ОХ.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены в соответствии с требованиями и положениями "Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей" (1986).

Использовали самцов крыс линии Вистар массой тела 270 — 310 г, которых содержали в стандартных лабораторных условиях.

Оперативное вмешательство выполняли с учетом правил антисептики под общим обезболиванием. Выполняли верхнюю срединную лапаротомию, ОБП (у 21 животного) моделировали путем перевязки общего билиопанкреатического протока у места его впадения в двенадцатиперстную кишку [10]; ОХ (у 23) — путем перевязки ОЖП выше впадения в него протока поджелудочной железы [6]. Контролем были 10 неоперированных и 6 ложно оперированных животных.

Животных выводили из эксперимента через 1, 3, 7 сут, оценивали состояние органов брюшной полости, измеряли диаметр ОЖП. Печень забирали и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Гистологические препараты, изготовленные по стандартной методике,

окрашивали гематоксилином и эозином и по ван—Гизон. Проводили морфометрический анализ, в программе Image J. Тестовая площадь составила  $2,8 \times 10^6$  мкм<sup>2</sup>.

Пролиферацию желчных протоков оценивали количественно по числу желчных протоков (ЧЖП) в зонах воротных каналов и объемной плотности воротных зон (Vv). Для оценки реакции синусоидных клеток определяли их количество ( $N_{\text{син}}$ ) в заданном поле зрения, которое брали равным  $5,6 \times 10^4$  мкм<sup>2</sup>, также синусоидно—гепатоцитарное число (СГЧ) — количество синусоидных клеток на 1000 гепатоцитов. Для количественной оценки гипертрофии гепатоцитов учитывали их площадь и ЯЦО. Степень фиброза оценивали по системе K. Ishak и соавторов [11]. Учитывали также дистрофические и некротические изменения гепатоцитов, воспалительную инфильтрацию и другие морфологические признаки.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При ОБП на 2—е сутки эксперимента умерли 8 (38%) животных, при ОХ — на 3—и сутки эксперимента — 1 (4,3%) ( $p < 0,01$ ).

В обеих группах, начиная с первых суток, отмечали желтушное окрашивание кожи, видимых слизистых оболочек и внутренних органов, увеличение, полнокровие печени.

У животных при ОБП в брюшной полости обнаруживали очаги стеатонекроза различной выраженнос-

ти, наличие свободной жидкости, часто геморрагической. Диаметр ОЖП при ОБП в 1—е сутки составил в среднем ( $1,5 \pm 0,1$ ) мм, на 3—и сутки — ( $3,7 \pm 0,2$ ) мм, на 7—е сутки — ( $5,9 \pm 0,3$ ) мм; при ОХ — соответственно ( $1,8 \pm 0,1$ ), ( $3,2 \pm 0,2$ ) и ( $5,8 \pm 0,3$ ) мм. В обеих группах отмечены достоверные ( $p < 0,05$ ) различия показателя как по сравнению с таковым в контроле (диаметр протока менее 1 мм), так и в разные сроки эксперимента. Однако диаметр ОЖП при ОБП и ОХ в одинаковые сроки эксперимента достоверно не различался.

В 1—е сутки эксперимента в печени животных обеих групп обнаруживали признаки альтерации, мелкоочаговый некроз гепатоцитов, острую воспалительную реакцию, отек и полнокровие сосудов. При ОБП очаги некроза были множественными в 5 (50%) наблюдениях, при ОХ — во всех, они были более многочисленными и крупными. На 3—и сутки прогрессирование некротических изменений в обеих группах не наблюдали, существовавшие очаги уменьшились. На 7—е сутки некроз не определяли. Воспаление проявлялось слабой инфильтрацией воротных каналов и стенок сосудов нейтрофильными гранулоцитами. Степень реакции зависела от объема и распространенности очагов некроза и была больше при ОХ. В последующем воспалительная инфильтрация прогрессировала, преимущественно лимфоцитами.

Первую фазу ОХ с ее процессами альтерации и воспаления постепенно сменяла вторая фаза, которая характеризовалась пролиферацией желчных протоков, фиброзированием и расширением воротных каналов [12]. Vv увеличивалась при ОХ на 3—и сутки по сравнению с таковой в контроле ( $p < 0,001$ ), на 7—е сутки — по сравнению с таковой на 3—и сутки ( $p < 0,001$ ); при ОБП — лишь на 7—е сутки по сравнению с таковой в контроле ( $p < 0,003$ ). ЧЖП увеличивалось в обеих группах на 3—и сутки (соответственно  $p < 0,001$  и  $p < 0,01$ ) и на 7—е сутки ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$ ).

Пролиферация желчных протоков сопровождалась фиброзира-

### Морфометрические показатели печени при экспериментальном ОБП и ОХ

Показатель	Величина показателя ( $\bar{x} \pm m$ ) в сроки наблюдения, сутки				
		контроль	1-е	3-и	7-е
Vv, см <sup>3</sup> /см <sup>3</sup>	ОБП	$0,009 \pm 0,005$	$0,008 \pm 0,004$	$0,017 \pm 0,011$	$0,025 \pm 0,06$
	ОХ		$0,01 \pm 0,009$	$0,03 \pm 0,013$	$0,07 \pm 0,01^*$
ЧЖП	ОБП	$1,0 \pm 0,1$	$0,95 \pm 0,2$	$1,5 \pm 0,3$	$4,4 \pm 2,5$
	ОХ		$1,2 \pm 0,5$	$3,6 \pm 0,7^*$	$10,5 \pm 5,0^*$
СГЧ	ОБП	$374 \pm 99$	$442 \pm 85$	$472 \pm 38$	$622 \pm 83$
	ОХ		$497 \pm 71$	$515 \pm 106$	$756 \pm 212$
ЯЦО	ОБП	$0,21 \pm 0,05$	$0,29 \pm 0,06$	$0,32 \pm 0,06$	$0,31 \pm 0,05$
	ОХ		$0,31 \pm 0,05$	$0,34 \pm 0,05$	$0,45 \pm 0,05^*$

*Примечание.* \* - различия показателей достоверны по сравнению с таковыми при ОБП ( $p < 0,05$ ).

нием воротных каналов. Первые признаки фиброза печени выявляли на 3—и сутки в 6 (66%) наблюдениях — при ОХ и в 2 (40%) — при ОБП. На 7—е сутки степень фиброза составляла 1 — 2 балла по системе K. Ishak [11]. При ОХ степень фиброза увеличивалась на 3—и и 7—е сутки (соответственно  $p < 0,05$  и  $p < 0,05$ ), при ОБП фиброзирование было менее выражено, увеличение показателя наблюдали на 3—и сутки ( $2 = 6,1$ ,  $p < 0,05$ ), на 7—е сутки — отсутствовало.

В патогенезе холестаза важную роль играют синусоидные клетки, участвующие в процессах альтерации и воспаления, стимулирующие рост гепатоцитов, способствующие синтезу коллагена [12]. Уже в 1—е сутки при ОБП наблюдали тенденцию к увеличению количества синусоидных клеток и СГЧ, при ОХ — более выраженное увеличение показателя по сравнению с таковым в контроле (соответственно  $p < 0,03$  и  $p < 0,01$ ). На 3—и сутки, при уменьше-

нии выраженности альтеративных и воспалительных процессов, количество синусоидных клеток увеличилось незначительно. На 7—е сутки вновь отмечали выраженное увеличение СГЧ как при ОБП ( $p < 0,01$ ), так и ОХ ( $p < 0,01$ ), что соответствовало активизации процессов фиброобразования, пролиферации холангиоцитов, гиперплазии гепатоцитов.

С первого дня эксперимента отмечали увеличение пролиферации гепатоцитов в виде повышения их митотической активности и количества двухъядерных форм. Гиперплазию клеток печени с увеличением ЯЦО обнаруживали также в 1—е сутки у животных обеих групп ( $p < 0,01$ ); на 7—е сутки статистически значимое увеличение показателя наблюдали лишь при ОХ ( $p < 0,003$ ).

При сравнении результатов исследования (см. таблицу) выявлены достоверные различия Vv — на 7—е сутки ( $p < 0,05$ ), ЧЖП — на 3—и ( $p <$

$0,001$ ) и 7—е сутки ( $p < 0,03$ ), ЯЦО — на 7—е сутки ( $p < 0,003$ ). Во всех наблюдениях показатели были больше при экспериментальном ОХ. Эти различия свидетельствовали, что менее тяжелый холестаз возникал при перевязке билиопанкреатического протока, чем ОЖП. При этом морфологические признаки ОП в печени не обнаруживали.

## ВЫВОДЫ

1. Изменения в печени при ОХ более выражены, чем при ОБП, о чем свидетельствовали данные морфометрии.

2. Морфологические изменения в печени крыс при экспериментальном ОБП обусловлены процессами холестаза.

3. Тяжелый патологический процесс в поджелудочной железе и высокая летальность крыс не нашли подтверждения по данным морфологических исследований печени на фоне холестаза.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко ВВ, Криворучко ИА, Шевченко РС, и др. Острый панкреатит: Патогизиология и лечение. Харьков: Торнадо, 2002. 228 с.
2. Василюк СМ, Иваніна СМ. Діагностика біліарного панкреатиту. Укр хірург журн. 2016;1—2(30—31):60—3.
3. Cappell MS. Acute pancreatitis: etiology, clinical presentation, diagnosis, and therapy. Med Clin N Am J. 2008;92(4):889—923.
4. Aller M—A, Ortega L, Sanchez—Patan F, et al. Microsurgical extrahepatic cholestasis in the rat: A histopathological liver study. The Open Pathology Journal. 2008;(2):71—7.
5. Li MK, Crawford JM. The pathology of cholestasis. Seminars Liver Disease. 2004;24:21—42.
6. Kountouras J, Billing BH, Scheuer PJ. Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat. Br J Exp Path. 1984;65:305—11.
7. Takeyama Y, Hori Y, Takase K, et al. Apoptotic cell death of hepatocytes in rat experimental severe acute pancreatitis. Surgery. 2000;127(1):55—64.
8. Kudari A, Wig JD, Vaiphei K, et al. Histopathological sequential changes in sodium taurocholate—induced acute pancreatitis. J Pancreas (Online). 2007;8(5):564—72.
9. Esrefoglu M, Gul M, Turan F. Comparative effects of several therapeutic agents on hepatic damage induced by acute experimental pancreatitis. Dig Dis Sci. 2008;53:1303—10.
10. Samuel I, Toriumi Y, Yokoo H, et al. Ligation—induced acute pancreatitis in rats and opossums: a comparative morphologic study of the early phase. J Surg Res. 1994;57:1—13.
11. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. J Hepatol. 1995;22:696—9.
12. Tag CG, Sauer—Lehnen S, Weiskirchen S, et al. Bile duct ligation in mice: Induction of inflammatory liver injury and fibrosis by obstructive cholestasis. Journal of Visualized Experiments. 2015;96:5243.

