

І.В.Твердохліб¹
Ю.М.Степанов¹
О.Ю.Сіренко¹
Д.Ю.Зіненко²
І.М.Береговенко²

¹ Дніпропетровська державна медична академія
² Міська клінічна лікарня №16, м. Кривий Ріг

Ключові слова: підшлункова залоза, моделі гострого панкреатиту, щури, мікроциркуляція.

Надійшла: 05.07.2011
Прийнята: 10.08.2011

УДК: 616.361-007.272:616.37:616-005

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ ПЕЧІНКИ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ У ЩУРІВ ЗА ДОПОМОГОЮ ТАУРОХОЛАТУ НАТРІЮ

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи „Аналіз нормального й аномального гістогенезу тканинних компонентів серцево-судинної системи людини та експериментальних тварин” (номер державної реєстрації 0105U007837).

Резюме. Використана модель з введенням 50 мкл 1%-ного, 2,5%-ного і 5%-ного розчинів таурохолату натрію в протоку підшлункової залози. Гістологічне дослідження й визначення рівня амілази крові проводили через 1, 4, 8, 12, 24, 48 й 72 години після ін'єкції. Для моделі із введенням таурохолату натрію в протоку підшлункової залози характерні геморагічні прояви поряд із запальними й некротичними змінами, які мають істотний градієнт від голівки до хвоста залози. Також після застосування таурохолата натрію спостерігається швидка відновна динаміка концентрації амілази крові, стану мікросудин і загальної тканинної структури підшлункової залози.

Морфологія. – 2011. – Т. V, № 3. – С. 71-74.

© І.В.Твердохліб, Ю.М.Степанов, О.Ю.Сіренко, Д.Ю.Зіненко, І.М.Береговенко, 2011

Tverdokhlib I.V., Stepanov Yu.M., Sirenko O.Yu., Zinenko D.Yu., Beregovenko I.M. Structural and functional changes of liver's microcirculation in a rat model of acute pancreatitis induced by sodium taurocholate.

Summary. To model an acute pancreatitis condition in rats, 50 mkl of 1 %, 2,5 % or 5 % solution of sodium taurocholate was injected to the pancreatic duct. Following 1, 4, 8, 12, 24, 48 and 72 hours post-injection, rats were euthanized to perform the histologic study of pancreatic tissue and to test the amylase level in the blood. Our results show that introduction of sodium taurocholate to the pancreatic duct results in a gradient appearance of hemorrhagic areas, inflammatory and necrotic changes from the head to the tail of pancreas. Quick dynamics towards recovery of the amylase concentration in the blood was observed after the injection, as well as recovery of the microvessels and the general tissue structure of a pancreas.

Key words: pancreas, acute pancreatitis model, rat, microcirculation.

Вступ

Клінічні симптоми патології печінки діагностуються у 18-30% пацієнтів з гострим панкреатитом, при панкреонекрози у кожного 4-го хворого розвивається печінкова недостатність. Після створення моделей гострого панкреатиту за допомогою різних речовин, що підсилюють секрецію залози (Lampel M., Kern H.F., 1977), чинять токсичну (Mizunuma T. et al., 1984) або місцеву активуючу дію (Aho H.J. et al., 1980), дослідники показали їх дозозалежний ефект. Дотепер не було здійснено комплексного морфологічного дослідження різних моделей панкреатиту з урахуванням патоморфологічних змін у залозі й стану мікроциркуляції в органі.

Мета дослідження – виявити ранні морфологічні зміни в тканині підшлункової залози з використанням різних моделей експериментального гострого панкреатиту.

Матеріали та методи

Статевозрілі щури-самці лінії Wistar (вага

150–200 г) утримувалися при звичайних умовах (вільний доступ до їжі й води, температура повітря 22-24°C). У кожній експериментальній групі нараховувалось 5 тварин.

Для реалізації моделі гострого панкреатиту проводили загальне знеболювання за допомогою ін'єкції розчину кетаміна в дозі 100 мг/кг. Після серединної лапаротомії здійснювали фіксацію дванадцятипалої кишки й накладали лігатуру на загальну жовчну протоку. Ін'єкцією через анти-мезентеричний край дванадцятипалої кишки в панкреатичну протоку вводили 50 мкл 1%-ного, 2,5%-ного й 5%-ного розчину таурохолату натрію. Контрольним тваринам було виконано внутрішньопотокове введення 50 мкл фізіологічного розчину. Після операції проводили ушивання рани передньої черевної стінки. Забір матеріалу й крові здійснювали за попередньою схемою. Статистичний аналіз проводили із використанням рангового критерію Ван-дер-Вардена (Лакин Г.Ф., 1990).

Результати та їх обговорення

Після введення таурохолату натрію виживаність тварин через 72 години експерименту для груп, що одержали 50 мкл 2,5%-ного і 5%-ного розчину, становила 3 із 5 шурів. У групі із введенням 5%-ного розчину виживаність становила 1 із 5 тварин наприкінці 2-ї доби.

Патоморфологічні зміни підшлункової залози також мали характер інтерстиційного набряку, лімфоїдної інфільтрації, некротичних та мікросудинних змін з перевагою останніх. Максимальна виразність цих порушень була в моделях із застосуванням 2,5%-ного й 5%-ного розчинів таурохолату натрію й більшою мірою виявлялася в голівці й правій третині тіла залози, тоді як в інших частинах залози вони були помірно виражені (рис. 1, 2).

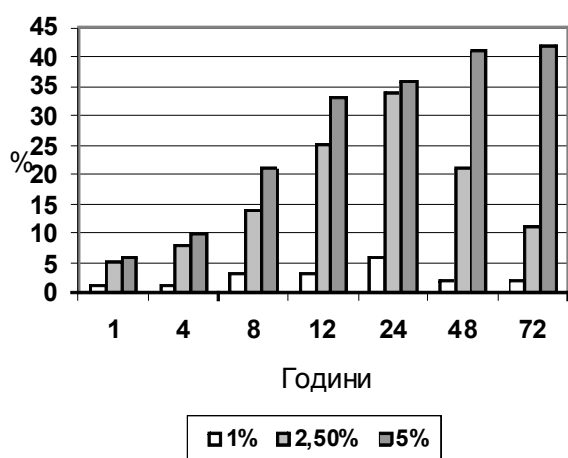


Рис. 1. Відносна кількість (%) некротизованих ацинарних епітеліоцитів голівки підшлункової залози шурів при експериментальному панкреатиті після введення різних концентрацій таурохолату натрію.

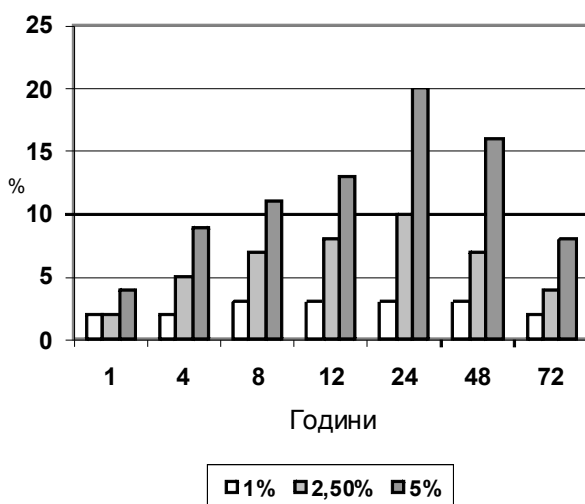


Рис. 2. Відносна кількість (%) некротизованих ацинарних епітеліоцитів хвоста підшлункової залози шурів при експериментальному панкреатиті після введення різних концентрацій таурохолату натрію.

Геморагічні зміни в голівці залози були представлені порушенням цілісності стінки су-

дин дрібного калібру й капілярів з формуванням внутрішньо- й субкапсулярних крововиливів. Це відзначалося вже через 1 годину після введення таурохолату натрію. Апоптотичні зміни у вигляді конденсації хроматину під нуклеолою та переміщення його до полюсів, деформації й фрагментації ядра зустрічалися набагато рідше, ніж це спостерігалось в попередній моделі панкреатиту. Порушення ендокринних структур підшлункової залози були обмеженими або відсутні.

У групі тварин, де використовувався 1%-ний розчин таурохолату натрію, морфологічні зміни в голівці підшлункової залози були незначними й мали характер поодиноких геморагій. Тіло й хвіст залози в цій групі тварин при гістологічному аналізі істотно не відрізнялися від контролю.

У складі печінки тварин за 1 годину після введення таурохолату натрію в усіх досліджуваних концентраціях не спостерігалось суттєвих патологічних змін на світлооптичному рівні. Лише після 4 годин експозиції 5%-ного розчину агента відзначалося зростання повнокров'я вен у складі портальних трактів. Через 24 години у всіх тварин відбувалося накопичення ознак гострого запалення печінкової паренхіми, ступінь якого залежав від використовуваної концентрації таурохолату натрію, проте запальні явища у складі портальних трактів, включаючи судинний компонент, були незначними. У цей час лише поодинокі гепатоцити виявляли апоптотичні, деструктивні або дистрофічні зміни (рис. 3).

Наприкінці другої доби моделювання гострого панкреатиту в печінкових часточках спостерігалися дрібні осередки некротично змінених гепатоцитів на фоні помірного холангіту (рис. 4). Слід відзначити, що стінка синусоїдів і перисинусоїдний простір залишались без суттєвих порушень. У просвіті синусоїдних капілярів зрідка відзначалися сладжовані еритроцити.

Після 48 годин експозиції 5%-ного розчину таурохолату натрію зберігалися помірні прояви дрібноосередкового некрозу на фоні суттєвих дегенеративних і дистрофічних змін гепатоцитів, холестазу і холангіту. Запальна інфільтрація редукувалася. Синусоїди мали широкий нерівномірний просвіт, проте обтурації не спостерігалось. Загальна гістологічна структура печінкових часточок залишалася не ушкодженою. Наприкінці експерименту патологічні зміни печінки мали дозо-залежний характер. Зокрема, після використання 1%-ного і 2,5%-ного розчинів таурохолату натрію ознаки гострого запалення були відсутні, дистрофічні і некробіотичні процеси зберігалися у поодиноких гепатоцитах, мікросудинний компонент, загалом, виявляв структурно-функціональну компенсацію більшістю ланок. Після використання 5%-ного розчину таурохолату натрію спостерігалася помірна кількість дрібних некротичних осередків, значна дифузна дегенерація гепатоцитів, явища запальної інфільтрації печін-

кової паренхіми і помірні зміни структури сину-

соїдних гемокапілярів.

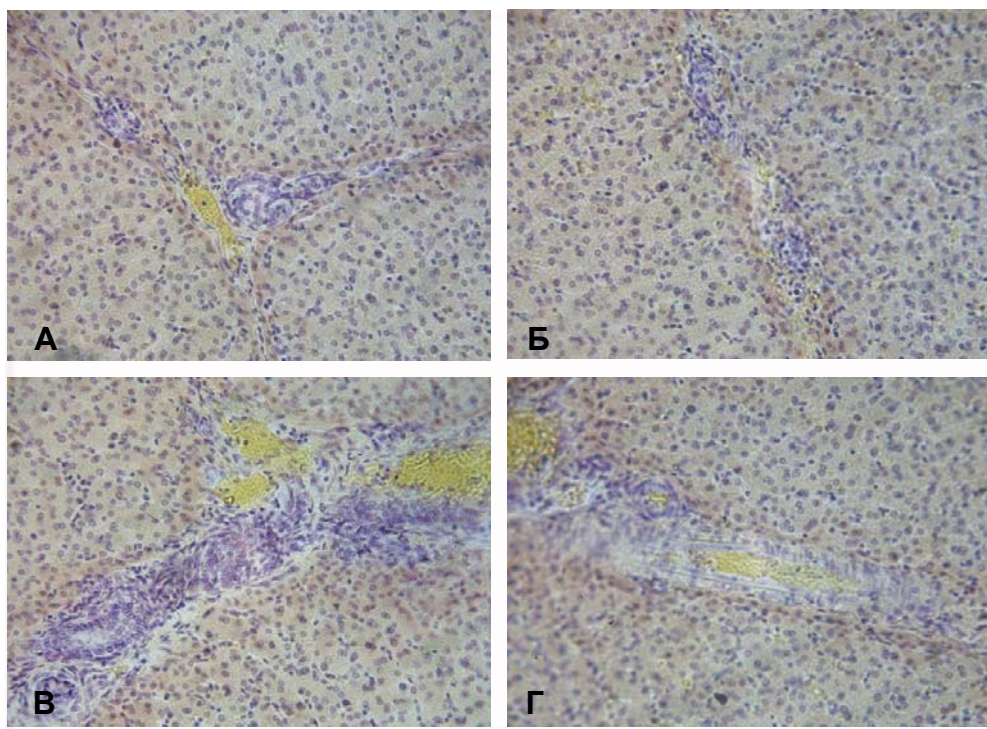


Рис. 3. Стан печінки щурів при моделюванні гострого панкреатиту після внутрішньопотокового введення таурохолату натрію: А – через 1 годину, концентрація таурохолату натрію 1%; Б – через 4 години, концентрація таурохолату натрію 5%; В – через 12 годин, концентрація таурохолату натрію 2,5%; Г – через 12 годин, концентрація таурохолату натрію 5%. Забарвлення за Ван-Гізон. $\times 200$.

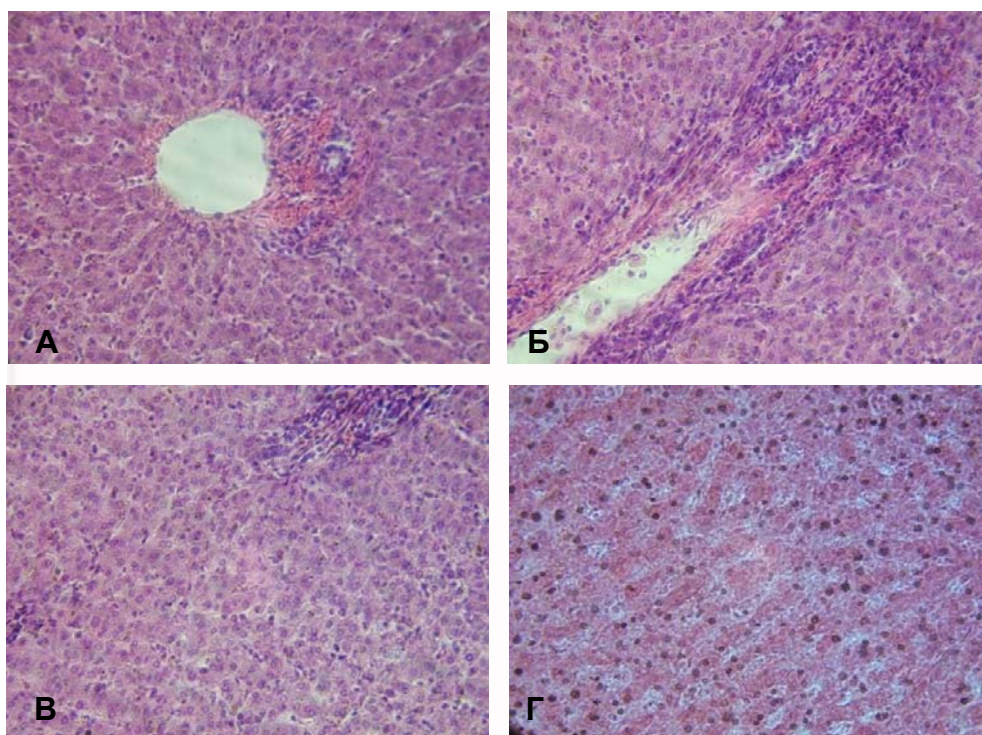


Рис.4. Стан печінки щурів при моделюванні гострого панкреатиту після внутрішньопотокового введення таурохолату натрію: А – через 48 годин, концентрація таурохолату натрію 1%; Б – через 48 годин, концентрація таурохолату натрію 5%; В – через 72 години, концентрація таурохолату натрію 2,5%; Г – через 72 години, концентрація таурохолату натрію 5%. Забарвлення гематоксиліном-еозином. $\times 200$.

Підсумок

Проведені дослідження на моделі внутрішньопротоковою ін'єкцією розчину таурохолату натрію виявили динаміку рівня амілази крові, патоморфологічні зміни паренхіми, стромы й мікроциркуляції в органі. Патологічні зміни мікросудин поєднуються з дифузним ушкодженням паренхіми підшлункової залози за апоптотичним і некротичним механізмами. Для моделі з використанням таурохолату натрію більш характерними є геморагічні прояви поряд із запальними й

некротичними змінами, що мають істотний градієнт від голівки до хвоста залози. Також після застосування таурохолату натрію спостерігається швидке відновлення рівня амілази крові, стану мікросудин і загальної тканинної структури підшлункової залози.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження моделі гострого панкреатиту спрямовані на з'ясування ультраструктурних основ розвитку даного виду патології.

Літературні джерела

Диагностика нарушений микрогемодинамики при остром панкреатите / Ю. С. Винник, Д. В. Черданцев, А. А. Вахрунин [и др.] // Методология флоуметрии. – М. : Трансоник, 1997. – С. 93-106.

Колб В.Г. Справочник по клинической химии / Колб В.Г., Камышников В.С. [2-е изд., перераб. и доп.]. – Минск: Беларусь, 1982. – 366 с.

Лакин Г. Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов / Лакин Г. Ф. – [4-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.

Моделирование острого панкреатита / В.М.Буянов, И.В.Ступин, В.Н.Егиев [и др.] // Клин. хирургия. – 1989. - №11. – С. 24-26.

Перспективные направления в терапии острого панкреатита / Р. Б. Мумладзе, С. М. Чудных, О. Е. Колесова [и др.] // Анналы хир. – 1996. - № 3. – С. 37-41.

Повреждения печени в ходе экспериментального острого панкреатита / М. Е. Мозжелин, А. И. Венгеровский, И. В. Суходолов, А. С. Саратиков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2001. – Т. 132, № 1. – С. 647-649.

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. эксп. биол. и мед. – 2001. – Т. 132, № 8. – С.

167-169.

Шумейко А. Г. Функциональная недостаточность печени при остром панкреатите / А. Г. Шумейко // Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2006. – Т. 6, № 1-2. – С. 157-158.

A mouse model of acute biliary pancreatitis induced by retrograde pancreatic duct infusion of Na taurocholate / J. M. Laukkanen, G. J. D. Van Acker, E. R. Weiss [et al.] // Gut. – 2007. – Vol.56, №6. – P.1590-1598.

Aho H. J. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis / H. J. Aho, S. M. Koskensalo, T. J. Nevalainen // Scand. J. Gastroenterol. – 1980. – Vol. 15, № 4. – P. 411-416.

Aho H. J. Experimental pancreatitis in the rat. Ultrastructure of sodium taurocholate-induced pancreatic lesions / H. J. Aho, T. J. Nevalainen // Scand. J. Gastroenterol. – 1980. – Vol. 15, № 4. – P. 417-424.

Lampel M. Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue / M. Lampel, H. F. Kern // Virchows Arch. – 1997. – Vol. 373. – P. 97-117.

Relationship of plasma CCK to acinar cell regeneration in acute pancreatitis as studied by proliferating cell nuclear antigen / J. Sakagami, K. Kataoka, A. Ohta [et al.] // Dig. Dis. Sci. – 1996. – Vol. 41. – P.1828-1837.

Твердохлеб И.В., Степанов Ю.М., Сиренко О.Ю., Зиненко Д.Ю., Береговенко И.Н. Структурно-функциональные изменения микроциркуляции печени при моделировании острого панкреатита у крыс при помощи таурохолата натрия.

Резюме. Использовали модель с введением 50 мкл 1%-ного, 2,5%-ного и 5%-ного растворов таурохолата натрия в проток поджелудочной железы. Гистологическое исследование и определение уровня амилазы крови проводили через 1, 4, 8, 12, 24, 48 и 72 часа после инъекции. Для модели с введением таурохолата натрия в проток поджелудочной железы характерны геморагические проявления наряду с воспалительными и некротическими изменениями, которые имеют существенный градиент от головки к хвосту железы. Также после применения таурохолата натрия наблюдается быстрая восстановительная динамика концентрации амилазы крови, состояния микрососудов и общей тканевой структуры поджелудочной железы.

Ключевые слова: поджелудочная железа, модели острого панкреатита, крысы, микроциркуляция.