

© О.І. Дельцова, В.Д. Скрипко, М.Г. Гончар, 2014

УДК 616-07 +616.381-002 +616.34-007.272

О.І. ДЕЛЬЦОВА<sup>1</sup>, В.Д. СКРИПКО<sup>2</sup>, М.Г. ГОНЧАР<sup>2</sup>

*Івано-Франківський національний медичний університет, <sup>1</sup> кафедра гістології, цитології та ембріології, <sup>2</sup> кафедра хірургії післядипломної освіти, Івано-Франківськ*

## **УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГОСТРІЙ ТОНКОКИШКОВІЙ НЕПРОХІДНОСТІ В ПРОЦЕСІ ЛІКУВАННЯ**

Вивчено результати дослідження ультраструктурної будови печінки в 40 свиней в'єтнамської породи на експериментальній моделі гострої тонкокишкової непрохідності. Встановлено, що в міру наростання терміну захворювання відбуваються значні порушення ультраструктурної будови печінки від дистрофічних до некробіотичних, які коригуються під впливом розчину реамберину.

**Ключові слова:** кишкова непрохідність, ультраструктурні зміни, гепатоцити

**Вступ.** Провідну роль у формуванні критичного стану в організмі відіграє наростання ендогенної інтоксикації (ЕІ). У залежності від часу розвитку ентерергії кишки, що тягне за собою затримку проходження кишкового вмісту, наростають процеси бродіння та гниття через зміну активності бактеріальної флори, яка інтенсивно розмножується з виділенням ендотоксинів, зумовлюючи утворення високотоксичних метаболічних компонентів, кишкових отрут, продуктів деструкції клітин слизової оболонки кишки, концентрація яких постійно наростає. Із проривом бар'єрної функції кишки збільшується поступлення токсинів безпосередньо в кров, зокрема ворітну вену, що перевищує можливості гомеостатичної системи, яка не в змозі забезпечити їхню природну детоксикацію і є патогенетичною основою початку формування дисфункції життєво важливих органів із пригніченням авторегуляції гомеостазу до рівня несумісного з життям [1, 2].

Домінуюча роль в адаптивних реакціях організму до факторів ендотоксикозу пов'язана з роллю печінки, що обумовлено, у першу чергу, детоксикаційною функцією гепатоцита та активністю процесів катаболізму. Рання об'єктивна діагностика порушення морфо-функціонального стану гепатоцитів визначає в подальшому тактику комплексного хірургічного лікування гострої тонкокишкової непрохідності (ГТКН) і наслідок розв'язки патологічного процесу. Тому при гострій кишковій непрохідності одним із важливих завдань є детоксикація організму і відновлення його енергозабезпечення [3, 4, 5].

**Мета дослідження.** Вивчити ультраструктурні зміни печінки при експериментальній кишковій непрохідності і корекція їх із використанням антигіпоксантно-антиоксидантної і гепатопротекторної терапії.

**Матеріали та методи.** Враховуючи, що клінічні дослідження не дозволяють належно прослідкувати всі етапи патогенетичного розвитку патологічного порушення метаболічного гомеостазу в органах і системах організму хворих ГТКН, залежно від часу формування ентерергії кишки та

впроваджувати нові підходи до його лікування та профілактики, проведено узагальнення результатів дослідження в експерименті на 40 свинях в'єтнамської породи масою 15–25 кг у віварії Тернопільського державного медичного університету. Усі втручання, догляд та евтаназію проводили з дотриманням вимог по відношенню до тварин, що використовувались для дослідження та інших наукових цілей, від 18.03.1986 р. Директиви ЄС №609 від 24.х1.1986 р. і Наказу МОЗ України №609 від 23.09.2009 р.

Усіх тварин було поділено на 3 групи. Першу групу склали піддослідні тварини, в яких вивчали морфологічні зміни печінки та біохімічні показники крові в нормі. Другу групу тварин із ГТКН (контрольну), в яких в окремих підгрупах через 12, 24, 36, 48 та 72 години, на 5–7-у та 12–14-у доби визначали динаміку показників ендогенної інтоксикації після відновлення прохідності тонкої кишки та застосування загально прийнятих схем лікування. Третя група – тварини з ГТКН (основна), яким після проведеного відновлення прохідності тонкої кишки після 12, 24, 36, 48 та 72 годин додатково застосовували препарат для інфузій «Реамберин», що проявляє антигіпоксантну, антиоксидантну і опосередковану гепатопротекторну дію.

Моделювання ГТКН виконували за методом А.С. Шалімова (1989), яка полягала в накладанні лігатури на тонку кишку, що супроводжувалося прогресивним наростанням ендотоксикозу внаслідок розвитку ентерергії привідного відділу тонкої кишки і характеризувалося парезом з утворенням вмісту високотоксичних продуктів, викликаних формуванням застійних явищ та посилення процесів бродіння, гниття, деструкції тканин кишки, кишкових отрут та мікробних токсинів, що зумовлювало загибель нелікованих тварин на 3–4-у добу експеримента.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням програмно-математичного комплексу для ЕОМ і ВМ РС Excel-7,0 на базі Microsoft Windows 1985–2005, а також програми для статистичної обробки Analys+Soft,

2007. Перевірку закону розподілу вибірок на нормальність проводили за допомогою критерію Шапіро-Вілкі. Для перевірки гіпотези про рівність середніх величин використовували критерій Стюдента-Фішера для нормально розподілених вибірок і критерій Вілкоксона-Манна-Вітні для вибірок, розподіл яких відрізняється від нормального.

Матеріал (шматочки печінки) для дослідження забирали і обробляли відповідно загальноприйнятими методами – фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну з наступним забарвленням зрізів гематоксилином і еозином [5]. Для електронномікроскопічного дослідження забирали і обробляли згідно з загальноприйнятими методами.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Через 5 діб після зняття лігатури зі стінки кишки, із приводу 12-годинної експериментальної ГТКН, електронномікроскопічно в гепатоцитах

спостерігалися значні зміни. Окремі гепатоцити в стадії некрозу з пікнотичними ядрами, їхня цитоплазма просвітлена з рештками органел біля ядра.

На васкулярному полюсі більшості гепатоцитів мікроворсинки короткі, простір Діссе звужений (рис. 1). Цитоплазма гепатоцитів вакуолізована. Мітохондрії мали локально зруйновані мембрани – зовнішню і внутрішню, із виходом вмісту мітохондрій у цитозоль. Кристи ідентифікуються нечітко. Часто мітохондрії мали електроннощільний матрикс з осміофільними включеннями. Цистерні гранулярної та гладкої ендоплазматичної сітки поодинокі, місцями їхні мембрани в стані деструкції. Виявлялися мієліноподібні фігури невеликих розмірів, поодинокі ліпідні вакуолі, лізосоми і залишкові тільця. Жовчні каналці не проявляли відхилень від нормального стану – їхні мікроворсинки довгі і чітко контуровані.

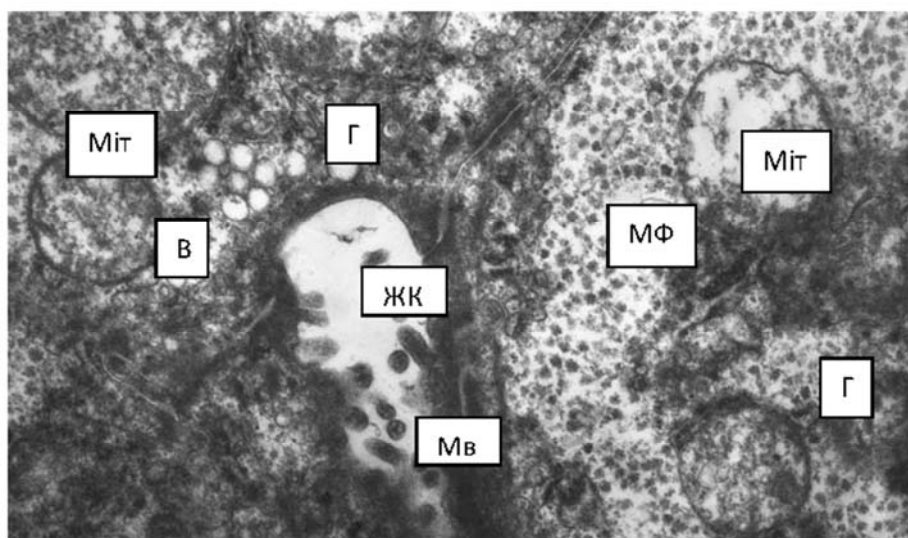


Рис. 1. Морфо-функціональні зміни гепатоцита (Г): вакуолі (В), локальна деструкція мембран мітохондрій (Міт), наявність мієліноподібних фігур (МФ) у цитоплазмі, укорочення мікроворсинок (Мв), просвіт жовчного каналця (ЖК). 12-годинна тонкокишкова непрохідність. Електронна мікрофотографія. 36.: x6400.

Електронномікроскопічно в гепатоцитах спостерігалися ядра з помірно маргінальною конденсацією хроматину. Зовнішня і внутрішня ядерні мембрани чіткі. На васкулярних полюсах гепатоцитів ідентифікувалися мікроворсинки. У цитоплазмі гепатоцитів мітохондрії з просвітленим матриксом і частково збереженими кристами. Інколи зовнішня мембрана мітохондрій локально зруйнована. Цитоплазма містила невелику кількість гранул глікогену і вакуолі різних розмірів (із них поодинокі ліпідні), дезорганізовані цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки. У просвіті жовчних каналців ідентифікувалися достатньо довгі мікроворсинки біліарної поверхні гепатоцита (рис. 2).

У просвіті синусоїдів деформовані еритроцити. Ендотеліоцити синусоїдів містили видовжені ядра

з периферійною конденсацією хроматину. У зоні органел ендотеліоцита спостерігалися великі мітохондрії зі скороченими кристами, вакуолі, мікропіноцитозні пухирці.

Через 24 год. кишкової непрохідності без лікування в частині гепатоцитів спостерігався некроз. У збережених гепатоцитах включення глікогену обмежені (рис. 3). У частині мітохондрій утворюються внутрішньомітохондріальні вакуолі. У порівнянні з попереднім терміном експерименту збільшується кількість мієліноподібних фігур і ліпідних вакуоль. У синусоїдах нерідко на фоні набряклих, дистрофічно пошкоджених ендотеліоцитів виявляються некротичні. У просвіті синусоїдів спостерігаються щільноупаковані еритроцити. Просвіти жовчних капілярів звужені, мікроворсинки на апікальних полюсах гепатоцитів укорочені.

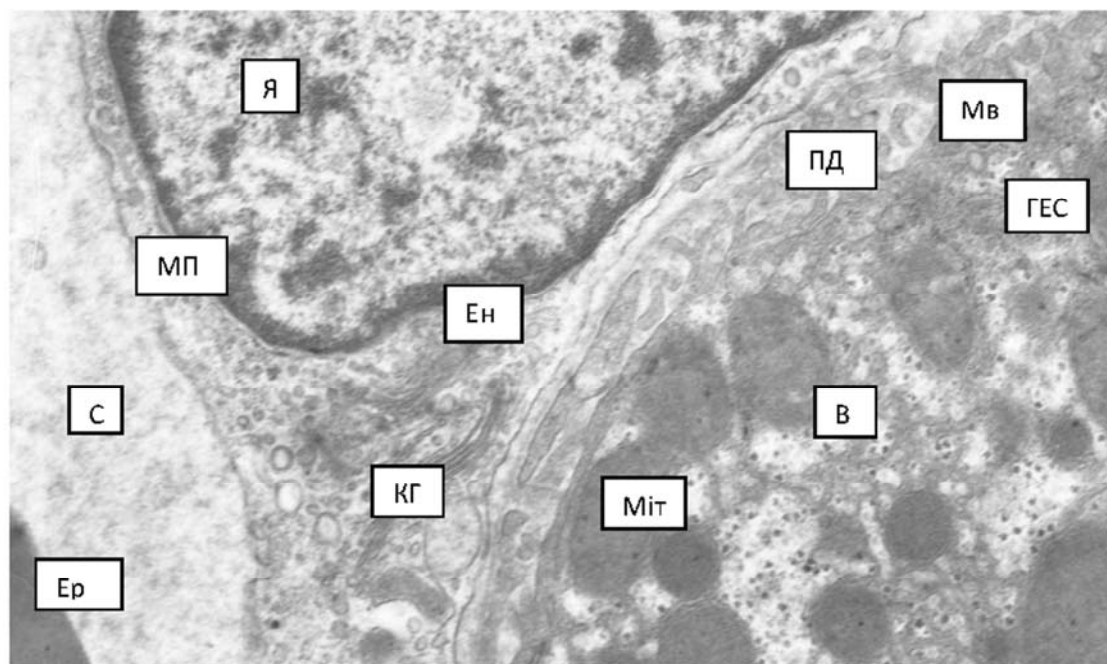


Рис. 2. Мітохондрії з просвітленим матриксом (Міт), цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС), мікроворсинки (Мв) у просторі Диссе (ПД), еритроцит (Ер) у просвіті синусоїда (С), комплекс Гольджі (КГ) в ендотеліоциті (Ен), ядро (Я). 12-годинна тонкокишкова непрохідність, загальноприйняте лікування. Електронна мікрофотографія. Зб.: x8000.

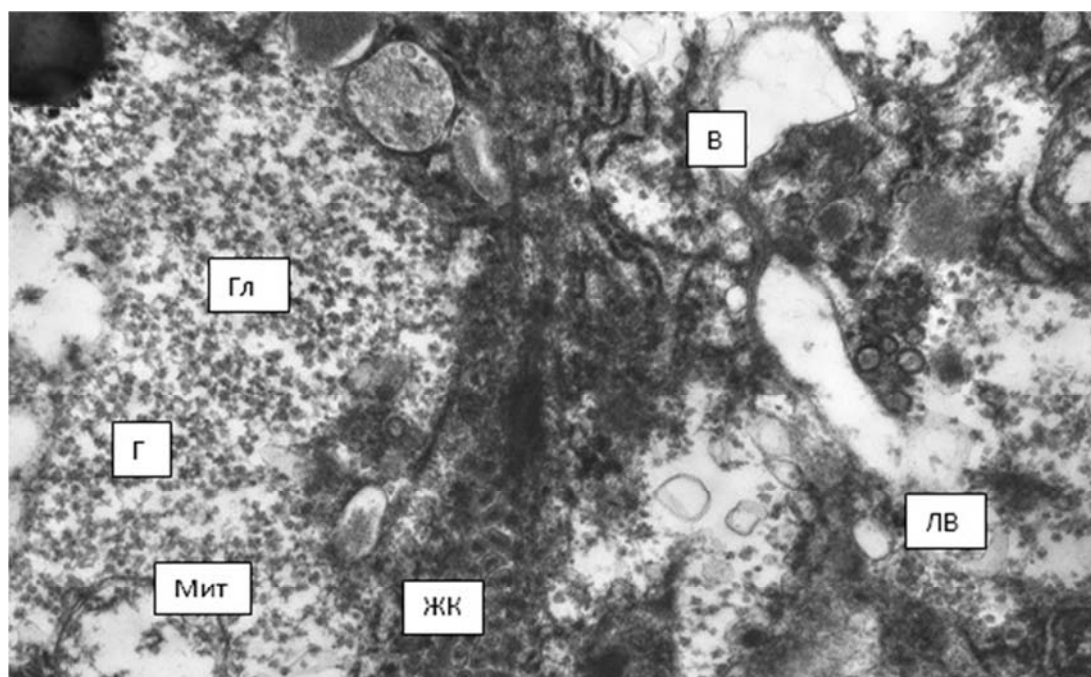


Рис. 3. Електронномікроскопічна картина біліарних полюсів гепатоцитів при 24-годинній тонкокишкової непрохідності. Позначення: В – вакуолі, Г – гепатоцит, Гл – глікоген, ЖК – жовчний каналець, ЛВ – ліпідні вакуолі, Міт – мітохондрія. Електронна мікрофотографія. Зб.: x 6000.

При включенні в лікувальний комплекс до загальноприйнятого лікування розчину реамберину відзначено, що гепатоцити не проявляють значних відхилень у розмірах, часто двоядерні. Повнокрів'я та поліморфноклітинна інфільтрація зменшуються. У цитоплазмі гепатоцитів периферійної зони зберігаються дрібні вакуолі, проміжної та центральної зон – спостерігаються групи мітохон-

дрій із чіткими контурами зовнішньої мітохондріальної мембрани і електроннопрозорим матриксом, гранули глікогену, плоскі цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки (рис. 4). Синусоїди не розширені. Ендотеліоцити їх стінки містять дрібні вакуолі і мікропіноцитозні везикули.

Більшість гепатоцитів знаходяться в некробіотичному і некротичному стані: набряк ядра, пери-

ферійна конденсація хроматину, часто каріопікноз. Цитоплазма гепатоцитів містить численні вакуолі різних розмірів. Наяві пошкоджені мітохондрії, часто простежувалися етапи перетворення мітохондрій у вакуолі і м'єліноподібні фігури. Спостерігалася збільшена кількість фагосом і ліпідних вакуоль. Зменшення площі гепатоцита є показни-

ком інтенсивності впливу гепатотоксичних факторів, які не дають можливості гепатоцитам стабілізувати внутрішні гемостатичні механізми за рахунок гіперплазії і гіпертрофії внутрішньоклітинних структур, тобто переважають процеси дисиміляції, посилюючи дезорганізацію саморегулюючих систем [9].

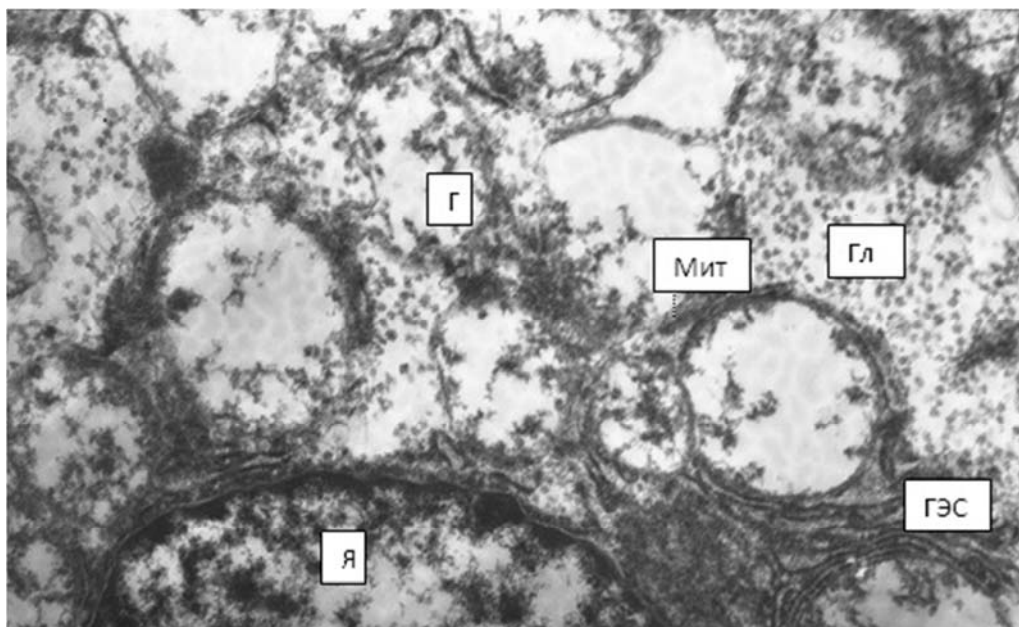


Рис. 4. Дрібні вакуолі в цитоплазмі гепатоцитів (Г) периферійної зони, групи мітохондрій (Мит), гранули глікогену (Гл), плоскі цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЭС). Я – ядро. 24 год. після курсу реамберина. Електронна мікрофотографія. Зб.: 10000.

У просторі Діссе між збереженими мікроросинками ідентифікуються колагенові волокна. Виявляється значна поліморфноклітинна інфільтрація всередині часточок і портальних трактах. Спостерігалася активація фібробластів на периферії часточок. У жовчних вивідних протоках частина епітеліоцитів некротично змінена.

При корекції розчином реамберину при цьому терміні кишкової непрохідності розміри часточок залишаються зменшеними внаслідок стоншення печінкових пластинок. У гепатоцитах наявні круглі ядра, їхня цитоплазма слабобазофільна, спостерігаються помірно виражені дистрофічні зміни. В окремих частках гепатоцити периферійної зони некротизовані. Навколо печінкових часточок спостерігається невелика кількість фібробластів і макрофагів.

У цитоплазмі гепатоцитів ідентифікуються ділянки ущільнення і групування органел, мітохондрії мають різний ступінь пошкодження. Кристи мітохондрій короткі та малочислені. Цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки плоскі, деякі розширені, у стані дегрануляції. Гранули глікогену розсіяні по всій цитоплазмі. Синусоїди розширені по всій цитоплазмі, але в їхньому про-світі стаз трапляється рідше, як без використання в комплексному лікуванні розчину реамберину. У

периферійній зоні ендотеліоцитів прослідковуються фенестри. В їхній цитоплазмі помірний набряк, конденсовані мітохондрії, вакуолі. Клітини Купфера виявляють підвищену активність (рис. 5). В ущільнених ділянках їхньої цитоплазми виявляються лізосоми, фагосоми і м'єліноподібні фігури.

Із тривалістю експерименту до 48 год. електронномікроскопічне дослідження виявило гепатоцити в стані деструкції і глибокого дистрофічного пошкодження. У більшості з них дезорганізація органел цитоплазми, деструкція мітохондрій із виходом вмісту в цитозоль. Цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки дегранульовані і фрагментовані. Багато мітохондрій мають конденсовану (дизенергізовану) конфігурацію. Комплекс Гольджи атрофований – його цистерни потовщені, везикулярний компонент відсутній. Погранична пластинка печінкової часточки локально зруйнована. Спостерігаються множинні внутрішньочасточкові інфільтрати невеликих розмірів із вмістом нейтрофілів. У синусоїдах повнокрів'я і стаз. В їх стінці периферійна зона ендотеліоцитів вузька, люмінальна і базальна плазмолемні контуруються нечітко, органели ідентифікуються важко (рис. 6а).

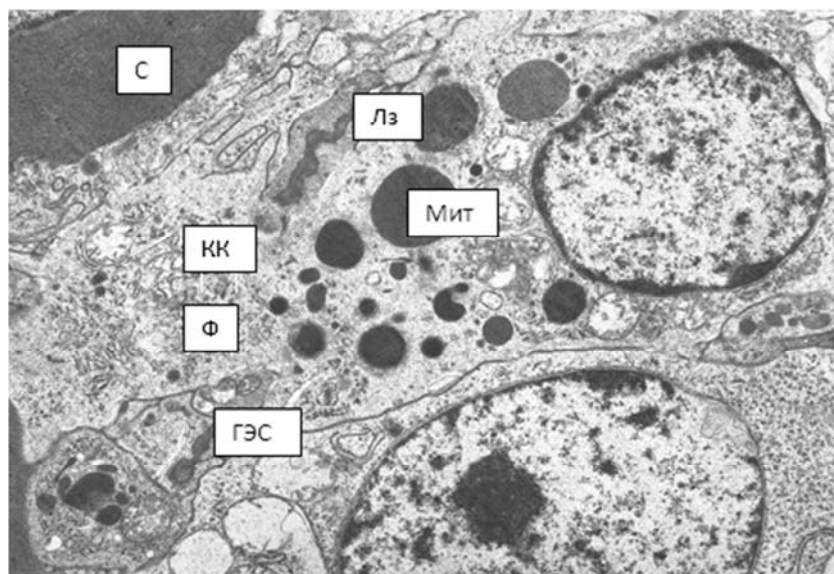


Рис. 5. Різний ступінь пошкодження мітохондрій (Мит), плоскі і розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЭС), розширення синусоїдів (С), помірний набряк цитоплазми ендотеліоцитів, підвищена активність клітин Купфера (КК), лізосоми (Лз), фагосоми (Ф). Лікування реамберином 36-годинної кишкової непрохідності. Електронна мікрофотографія. Зб.: x4000.

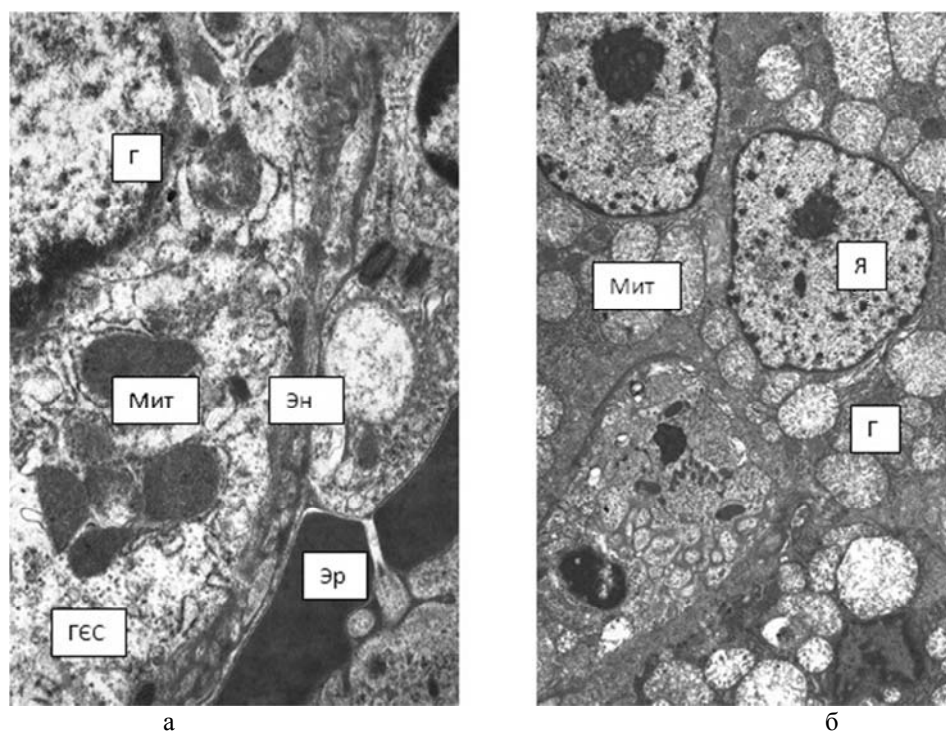


Рис. 6. Електронномікроскопічна картина гепатоцитів (Г) і стінки синусоїдів (С) до (а) і після проведенного курсу лікування (б) реамберином. Позначення: ГЭС – гранулярна ендоплазматична сітка, Мит – мітохондрії, Эн – ендотеліоцит, Эр – еритроцит, Я – ядро. Електронні мікрофотографії. Зб.: а, б – x6000.

Корекція реамберином покращила стан структур печінкової часточки. У печінкових пластинках спостерігалися збільшені гепатоцити. Ядра гепатоцитів округлі з маргіальною конденсацією хроматину. У цитоплазмі гепатоцитів переважали дрібні вакуолі. Між ними виявлялись групи мітохондрій, у деяких із них виражена деструкція мітохондріальної мембрани, інші знаходилися на етапах перетворення на вакуолі і мієліноподібні

фігури. У цитоплазмі також контурувалися розширені і дегранульовані цистерни ендоплазматичної сітки, лізосоми, ліпідні вакуолі і мієліноподібні фігури. На відміну від групи тварин, де не використовували розчин реамберину, спостерігали гіпертрофію комплексу Гольджі. На васкулярному полюсі гепатоцитів у розширеному просторі Діссе спостерігалися короткі і нечіткі мікрроворсинки і тонкі пучки колагенових волокон (рис. 6б).

Просвіти синусоїдів помірно звужені або нормального діаметра. В ендотеліоцитах та їхніх стінках наявні дистрофічні зміни: мітохондрії витягнутої форми, трапляються лізосоми, фагосоми, дрібні вакуолі. Люменальна поверхня плазмолемі характеризується наявністю вітрилоподібних відростків. Тут же спостерігаються Ріт-клітини, які фіксовані до стінки синусоїда за допомогою псевдоподій.

Тривалість кишкової непрохідності протягом 72 год. ставала важким випробуванням для тканини печінки. Цитоплазма гепатоцитів просвітлена з обмеженою кількістю поодиноких мітохондрій. Органели виявляють різні ступені деструкції аж до повного розпаду (рис. 7а). Ендотеліоцити стінки синусоїдів у стані деструкції.

Використання розчину реамберину значно змінювало морфологічну картину печінки, порівняно з таким же терміном без його використання. Однак печінкові пластинки залишалися тонкими, клітини

в них поліморфні і гетерогенні (рис. 7б). В їхній цитоплазмі мітохондрії з матриксом підвищеної електронної щільності (коденсована конфігурація), збереженою внутрішньою мітохондріальною мембраною і кристами різної величини. У цитоплазмі визначалася незначна кількість глікогену і вакуолі неправильної форми за рахунок розширення цистерн агранулярної ендоплазматичної сітки. У просторі Діссе контуруються довгі і світлі мікроросинки васкулярного полюсу гепатоцита. Поліморфноклітинна інфільтрація помірна. Синусоїди мають розширений просвіт, але без повнокрів'я і стазу. У цитоплазмі ендотеліоцитів синусоїдів трапляються поодинокі мітохондрії, вакуолі, лізосоми і невеликі автофагічні вакуолі. На люменальній поверхні плазмолемі визначаються довгі протоплазматичні відростки в просвіт капіляра, що можна охарактеризувати як реактивні зміни плазмолемі для покращення обмінних процесів.

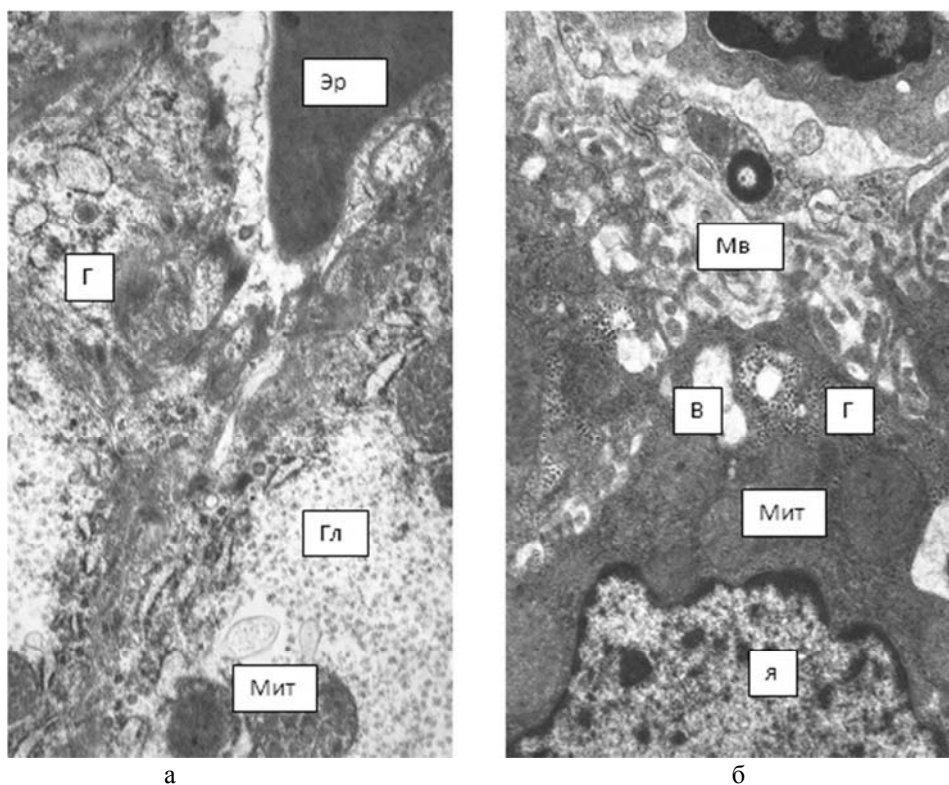


Рис. 7. Просвітлення цитоплазми гепатоцитів (Г), поодинокі мітохондрії (Мит), деструкція органел до лікування (а) і мітохондрії з матриксом підвищеної електронної щільності, незначна кількість глікогену (Гл) і вакуолі (В), у просторі Діссе мікроросинки (Мв) після лікування 72-годинної кишкової непрохідності реамберином (б). Я – ядро, Ер – еритроцит. Електронні мікрофотографії. Зб.: а,б – 6000.

Таким чином, дистрофічні зміни гепатоцитів при ГТКН поліморфні і вказують у ранні терміни дослідження на функціональне напруження і активацію компенсаторних механізмів. Із продовженням терміну дослідження прояви гідропічної дистрофії сигналізували про зрив адаптаційних можливостей гепатоцитів, які в частині клітин переходили в некротичні.

Повнокрів'я і стаз засвідчували порушення реологічних властивостей крові. Поліморф-

ноклітинна інфільтрація не тільки порталних трактів, але й внутрішньочасточкова, вказувала на запальний компонент у перебігу процесу. Окремо слід наголосити на збільшенні кількості двоядерних гепатоцитів, що, можливо, пов'язано з розгортанням регенераторних процесів у гепатоцитах. Зі зростанням тривалості непрохідності патоморфологічні і електронномікроскопічні відхилення в гепатоцитах часто ставали незворотними.

Вищеописані зміни гепатоцитів та ендотеліоцитів капілярів печінки в ранні терміни експерименту при лікуванні реамберином не є деструктивними, і в більшому ступені свідчать за зворотні дистрофічні відхилення в морфо-функціональному стані цих структур. Починаючи з 36-годинного терміну тонкокишкової непрохідності, дистрофічні та деструктивні зміни менш ефективно піддаються корекції.

Ми, як і В.Е. Милоков і соавт. [10], вважаємо, що пошкодження печінки є серйозною проблемою при ГТКН, і при лікуванні цього захворювання слід враховувати стан печінки і коригувати його відповідними лікарськими засобами, одним з яких є реамберин, що поєднує в собі вплив на багато патогенетичних сторін ГТКН і можливих наслідків.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Коломоєць О.М. Якісний та кількісний склад мікрофлори клубової кишки залежно від терміну гострої тонкокишкової непрохідності / О.М. Коломоєць // Український журнал екстремальної медицини імені Г.О. Можасва. — 2011. — Т.12, №1. — С. 48—53.
2. Дзюбановський І.Я. Роль синдрому ентєральної недостатності у розвитку абдоминального сепсису в хворих на гострий поширений перитоніт / І.Я. Дзюбановський, Б.О. Мігєнко // Шпитальна хірургія. — 2005. — №4. — С. 71—73.
3. Гусак І.В. Профилактика и лечение печеночной недостаточности у больных с абдоминальным сепсисом / И.В. Гусак, Ю.Р. Иванова // Труды крымского госуниверситета. — 2007. — Т.143. — Ч.5. — С. 89—92.
4. Оболенский С.В. Реамберин — новое средство для инфузионной терапии в практике медицины критических состояний: метод. реком / С.В. Оболенский. — С.-Пб., 2002. — 23 с.
5. Романцов М.Г. Реамберин 1,5% для инфузий — применение в клинической практике: руководство для врачей / М.Г. Романцов, Т.В. Сологуб, А.Л. Коваленко. — СПб.: Изд-во Минимакс, 2000. — 158 с.

O.I. DELTSOVA, V.D. SKRYPKO, M.G. GONCHAR

*Ivano-Frankivsk National Medical University, <sup>1</sup> Department of Histology, Cytology and Embryology, <sup>2</sup> Department of Surgery of Postgraduate Education, Ivano-Frankivsk*

#### CHANGES CHARACTERISTIC AND VIOLATIONS CORRECTION OF METABOLIC HOMEOSTASIS AND STATE OF LIVER PATHOLOGICAL CHANGES IN EXPERIMENTAL ACUTE INTESTINAL OBSTRUCTION

For 40 Vietnamese pigs breed with simulation of acute intestinal obstruction, studied parameters of endogenous intoxication and histopathological changes that occur in the liver, depending on the duration of the disease. It was established that the occurrence of the disease and surgical restoration of small intestine patency was accompanied by significant changes in parameters of endogenous intoxication in violation of the histological structure of the liver, because that is the appropriate appointment of antigipoksanant, antioxidant and hepatoprotective therapy.

**Key words:** intestinal obstruction, endogenous intoxication, pathomorphology

Стаття надійшла до редакції: 28.04.2014