

© Криницька І. Я., Орел Ю. М.

УДК: 616.36-004:616.24-06:616.24-071.3]-092.9

*Криницька І. Я., Орел Ю. М.*

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України", кафедра клініко-лабораторної діагностики, кафедра патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною (вул. Руська 12, м. Тернопіль, Україна, 46000)

## МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕГЕНЬ У ЩУРІВ З МОДЕЛЬОВАНИМ ГЕПАТОПУЛЬМОНАЛЬНИМ СИНДРОМОМ

**Резюме.** В експерименті на щурах із двома моделями гепатопульмонального синдрому проведено дослідження морфометричних показників легень. Результати проведеного дослідження вказують на глибокі морфофункціональні зміни легень, які проявилися ушкодженням паренхіми та строми легень, розладами гемокроциркуляції, в першу чергу на рівні артерій і капілярів.

**Ключові слова:** морфометрія, легені, гепатопульмональний синдром.

### Вступ

На сучасному етапі розвитку суспільства проблема патології печінки займає одне з провідних місць [Денисюк, Бичков, 2009]. За даними різних авторів кількість інфікованих вірусом гепатиту С у світі становить від 200 млн до 1 млрд осіб, із яких не менше ніж у 350 млн відзначаються ознаки хронічного ураження печінки [Вовк та ін., 2006]. В Україні в етіологічній структурі цирозів печінки на частку вірусів парентеральних гепатитів В, С і D припадає до 90-95 %. Захворюваність цирозами протягом 10 років зростає майже в 2 рази, а їх поширеність - на 40 % [Андрейчин і др., 2010].

Відомо, що гепатоцити метаболізують велику кількість ендогенних та екзогенних речовин, що визначає печінку як орган, що виконує функцію особливого біологічного бар'єру організму. Окрім цього, печінка бере участь у всіх видах обміну та синтезує енергетичний та пластичний субстрат, необхідний для діяльності та процесів регенерації інших органів і тканин. Цим можна пояснити той факт, усі захворювання печінки супроводжуються порушеннями метаболізму, а, отже, і ураженням інших органів та систем [Степанов, Залевський, 2007; Абрагамович та ін., 2011], в тому числі і з боку дихальної системи - "гепатопульмональний синдром" (ГПС). Під ГПС сьогодні розуміють дефект артеріальної оксигенації, спричинений розширенням внутрішньолегеневих судин, що асоційоване із захворюванням печінки [Rodriguez-Roisin, 2008].

Оскільки на сучасному етапі, патогенез ГПС залишається до кінця не в'яснений, то ортотопічна трансплантація печінки є єдиним успішним методом лікування пацієнтів з даною проблемою. Тим не менше, післяопераційна смертність та проміжок між трансплантацією та покращенням артеріальної оксигенації збільшуються у хворих з гострою передтрансплантаційною гіпоксемією внаслідок ГПС [Taille et al., 2003; Zhang et al., 2007]. Найсильнішим предиктором смерті є передопераційне  $PaO_2$  50 мм рт.ст. або менше і перфузійна сцинтиграфія легень і мозку з мозковим поглинанням 20 % і більше [Fukushima et al., 2007]. Летальність після проведення трансплантації печінки у пацієнтів з  $PaO_2 < 50$  мм.рт.ст. протягом року перевищує 40 %

[Roberts et al., 2010]. Регресування симптомів ГПС після трансплантації печінки не завжди буває повним (повне лише у 80 % пацієнтів) і може тривати 6 місяців і більше [Ильченко, 2009].

Залишаються суперечливими дані про залежність рівня респіраторних змін від ступеня ураження гепатоцитів при хронічних дифузних захворюваннях печінки. За результатами наших попередніх досліджень у щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом було встановлено виражений дисбаланс газового складу артеріальної крові та наявність ознак гіпоксемії [Криницька, Кліщ, 2012], що зробило актуальним вивчення морфометричних показників легень у тварин з вищевказаною патологією.

Метою нашої роботи було проаналізувати морфометричні показники легень у щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом.

### Матеріали та методи

Досліди проводили на 58 безпородних щурах-самцях масою 180-220 г. В процесі моделювання патології 10 тварин загинуло.

Першу експериментальну модель гепатопульмонального синдрому ми створювали шляхом накладання подвійної лігатури на загальну жовчеву протоку і подальшого її пересічення скальпелем [Fallon et al., 1997]. Тварин анестезували внутрішньоочеревинним введенням тіопенталу натрію в дозі 40 мг/кг маси тварини. Виконавши розріз під мечовидним відростком, загальну жовчеву протоку відділяли від розташованих поруч тканин, накладали подвійну лігатуру, вище і нижче місця планованого перетину. Потім загальну жовчеву протоку пересікали скальпелем. В контрольній групі № 1 тварин загальна жовчна протока була відділена від тканин, але не пересікалася. Післяопераційна рана поширено, наглухо зашивалася. На 31 добу після операції тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом.

Друга експериментальна модель ГПС була створена шляхом 8-тижневого внутрішньошлункового введення олійного розчину  $CCl_4$  (400 г на 1 л) в дозі 0,5 мл на

100 г маси тіла тварини в перший день експерименту, 0,3 мл на 100 г на третій день експерименту і далі кожного третього дня до закінчення експерименту 0,3 мл на 100 г. Додатково в раціон щурів було введено суміш кукурудзяної муки, смальцю та розчин алкоголю. Контрольна група тварин №2 перебувала на стандартному раціоні віварію і отримувала внутрішньошлунково оливкову олію в еквівалентній кількості [Zhang et al. 2007].

Утримання тварин та експерименти проводилися у відповідності до положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" [European convention, 1986].

Для гістологічних досліджень шматочки легень фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну та заливали в парафінові блоки. Готували гістологічні зрізи завтовшки 5-6 мкм та фарбували їх гематоксиліном та еозином. Вивчаючи тканину легень визначали наступні морфометричні параметри: ширина міжальвеолярної перегородки (ШМП), об'ємна частка пневматизованого простору (ОЧПП), відносна площа кровоносних судин (ВПКС), відносна товщина стінки дрібних бронхів (ВТСБ), відносна товщина судинної стінки дрібних артерій (ВТСС), відносний об'єм легеневої тканини з незмінною архітектурою, зони емфіземи, ателектазів, дистелектазів. Внутрішній діаметр артеріол, гемокапілярів, венул визначали на гістологічних препаратах, фарбованих за ван-Гізон [Автандилов, 2002].

Результати оброблено параметричними методами варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента.

### Результати. Обговорення

Динаміку змін досліджуваних нами морфометричних параметрів елементів паренхіми і строми легень у піддослідних тварин ілюструють дані, представлені в таблиці 1.

Змодельований гепатопульмональний синдром супроводжувався суттєвою структурною перебудовою легеневої паренхіми, при цьому зростав обсяг патологічно змінених ділянок при одночасному зменшенні відносної частки легеневої тканини із збереженою архітектурою. Величина останнього показника у щурів першої експериментальної групи (на 31 добу після перев'язки загальної жовчної протоки) зменшувалася на 29,3 % відносно контрольної групи щурів №1, у щурів другої експериментальної групи (після 8-тижневого введення тетрахлорметану) - на 51,0 %. В обох випадках різниця між значеннями морфометричного показника у контрольних і досліджуваних групах була статистично достовірною -  $p < 0,001$ . Відносна частка емфізематозно зміненої легеневої тканини у тварин на 31 добу після перев'язки загальної жовчної протоки більша на 8,7 %. При введенні тетрахлорметану цей параметр зростав на 15,3 %. Одночасно інтенсифікувалася і відносна частка ателектазів та дистелектазів - відповідно на

**Таблиця 1.** Гістоморфометрична характеристика легень щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом ( $M \pm m$ ).

Морфометричні показники	Досліджувані групи			
	Контрольна група №1 (n=12)	Експериментальна група №1 (n=12)	Контрольна група №2 (n=12)	Експериментальна група №2 (n=12)
Відносна частка легеневої тканини з незміненою архітектурою, %	80,00±1,45	50,70±1,01 $p_1 < 0,001$	79,60±1,82	28,60±1,35 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Відносна частка емфізематозно зміненої легеневої тканини, %	5,70±0,21	14,40±0,19 $p_1 < 0,001$	5,20±0,16	20,50±0,35 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Відносна частка ателектазів, %	4,25±0,11	15,0±0,23 $p_1 < 0,001$	5,35±0,18	26,73±0,89 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Відносна частка дистелектазів, %	10,05±0,15	19,90±0,35 $p_1 < 0,001$	9,85±0,11	24,10±0,54 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Відносна площа кровоносних судин, %	9,83±0,37	21,40±0,76 $p_1 < 0,001$	9,90±0,40	14,82±0,54 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Відносна товщина стінки дрібних бронхів, %	14,40±0,31	18,60±0,71 $p_1 < 0,001$	14,60±0,22	21,50±0,82 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
Ширина міжальвеолярної перегородки, мкм	23,40±0,54	35,33±1,06 $p_1 < 0,001$	23,50±0,68	29,80±0,89 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$

**Примітки:** 1.  $p_1$  - різниця достовірна у порівнянні з контрольними тваринами; 2.  $p_2$  - різниця достовірна у порівнянні з ураженими тваринами.

**Таблиця 2.** Морфометричні показники гемомікроциркуляторного русла легень щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом ( $M \pm m$ ).

Морфометричні показники	Досліджувані групи			
	Контрольна група №1 (n=12)	Експериментальна група №1 (n=12)	Контрольна група №2 (n=12)	Експериментальна група №2 (n=12)
Внутрішній діаметр артеріол, мкм	20,50±0,46	53,32±1,04 $p_1 < 0,001$	20,83±0,35	40,85±1,14 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Внутрішній діаметр гемокапілярів, мкм	7,80±0,12	26,52 ±0,61 $p_1 < 0,001$	7,62±0,16	16,80±0,54 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Внутрішній діаметр венул, мкм	28,02±1,08	47,93±1,71 $p_1 < 0,001$	29,22±1,15	40,15±1,39 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$

**Примітки:**  $p_1$  - різниця достовірна у порівнянні з контрольними тваринами;  $p_2$  - різниця достовірна у порівнянні з ураженими тваринами.

10,7 % та 9,8 % у експериментальній групі № 1 і на 21,4 % та 14,2 % у групі № 2. Слід зазначити, що різниця між величинами відносних часток патологічно зміненої легеневої тканини (емфізема, ателектази, дистелектази) була достовірна у порівнянні з контрольними тваринами в обох досліджуваних групах ( $p < 0,001$ ).

Істотні зміни відзначалися і з боку елементів строми легень. Зокрема зростала відносна площа кровоносних судин - на 11,6 % у щурів експериментальної групи № 1 і на 4,9 % у тварин експериментальної групи № 2, при цьому відмінність була статистично достовірною у групах контролю та експериментальних групах ( $p < 0,001$ ). Такі пертурбації є, ймовірно, відображенням гемодинамічних розладів та явищ ангиогенезу, які супроводжували гепатопульмональний синдром.

Набряк сполучнотканинних елементів, їх клітинна інфільтрація, а також процеси фіброзу в інтерстиції легень обумовили зростання відносної товщини стінок дрібних бронхів (на 3,3 % у щурів експериментальної групи № 1 і на 6,9 % у щурів експериментальної групи № 2) і ширини міжальвеолярних перегородок (на 51 % і на 26,8 % відповідно).

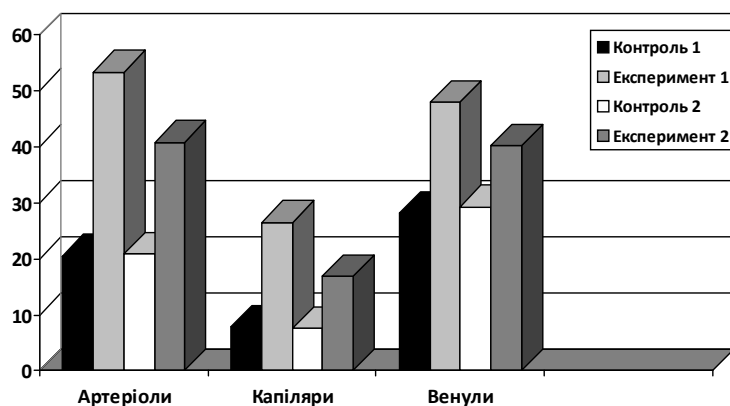
Порушення легеневого кровотоку, які спостеріга-

лися при гепатопульмональному синдромі, найбільш активно проявлялися на рівні гемомікроциркуляторного русла, що об'єктивно підтверджують результати морфометричного дослідження, відображені у таблиці 2.

В обох досліджуваних групах відмічалася збільшення ємності гемомікроциркуляторного русла легень, індикатором цього було зростання внутрішніх діаметрів усіх вивчених нами судин. Однак більш інтенсивно це зростання виражалося у щурів на 31 добу після перев'язки загальної жовчевої протоки (рис. 1).

Встановлено, що у піддослідних тварин експериментальної групи № 1 внутрішній діаметр артеріол збільшувався в 2,6 раза, у гемокапілярах він зростав у 3,4 раза, а у венулах - в 1,7 раза. У експериментальній групі № 2 числові величини перелічених вище морфометричних параметрів змінювалися відносно контролю аналогічним чином. При цьому внутрішній діаметр артеріол інтенсифікувався у 2 рази, у гемокапілярах прогресія складала 2,2 раза, внутрішній діаметр венул збільшився в 1,4 раза. Відмінність між діаметрами усіх вивчених судин була достовірна у порівнянні з контрольними тваринами в обох досліджуваних групах ( $p < 0,001$ ).

Співставляючи значення проаналізованих морфометричних показників легеневої тканини і судин гемомікроциркуляторного русла легень в обох експериментальних групах, встановлено, що всі вони статистично достовірно відрізняються між собою ( $p < 0,05 \dots 0,001$ ). Порівняння також свідчить про більш значне ураження паренхіми легень при моделюванні гепатопульмонального синдрому шляхом введення  $CCl_4$ , в той час як судинні реакції були інтенсивніші при відтворенні моделі, яка передбачає механічне пересічення жовчної протоки.



**Рис. 1.** Зміни показників гемомікроциркуляторного русла легень експериментальних тварин у мкм.

## Висновки та перспективи подальших розробок

1. Модельований ГПС супроводжується суттєвими змінами гістоморфометричних параметрів легеневої тканини, що вказує на її глибокі морфофункціональні зміни. Якісний характер цих змін проявляється ушкодженням паренхіми, при цьому інтенсивність ураження є більш вираженою при моделюванні ГПС шляхом вве-

дення тетрахлорметану. Одночасно мають місце розлади гемомікроциркуляції, в першу чергу на рівні артеріол і капілярів, при цьому більш виражені гемодинамічні розлади спостерігалися при моделюванні ГПС шляхом пересікання жовчної протоки. У перспективі планується вивчення ультраструктурних змін респіраторного відділу легень для більш глибокого вивчення механізмів розвитку гепатопульмонального синдрому.

## Список літератури

- Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Г. Г. Автандилов - М.: Медицина, 2002. - 240 с.
- Вірусні гепатити і рак печінки / [Андрейчин М. А., Дрижак В. І., Рябонь О. В., Копча В. С.] // ТДМУ, Укрмедкнига, 2010. - 187 с.
- Гепатопульмональный синдром: состояние проблемы / [Ельченко Л. Ю., Федоров И. Г., Карабиненко А. А. и др.] // СТМ. - 2009. - №1. - С. 84 - 88.
- Денисюк Я. С. Сучасні погляди на проблему алкогольної хвороби печінки (етіологія, патогенетичні механізми, клінічні прояви, принципи діагностики) / Я. С. Денисюк, М. А. Бичков // Гепатологія. - 2009. - №4. - С. 4 - 15.
- Криницька І. Я. Зміни газового складу артеріальної крові у щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом / І. Я. Криницька, І. М. Кліш // Вісник наукових досліджень. - 2012. - № 4 (69). - С. 72 - 75.
- Лікування хворих на хронічний гепатит С / [Вовк А. Д., Соляник І. В., Янченко В. І., Дьяченко П. А.] // Сімейна медицина. - 2006. - № 1. - С. 17 - 19.
- Стан системи кровообігу у хворих на дифузні ураження печінки: огляд сучасної літератури та опис власного клінічного випадку / [Абрагамович О. О., Котовська М. Л., Абрагамович М. О., Абрагамович У. О.] // Львівський медичний часопис. - 2011. - Т. XVII, № 3. - С. 114 - 125.
- Степанов Ю. М. Легалон в терапії хронічних захворювань печінки / Ю. М. Степанов, В. И. Залевский // Сучасна гастроентерологія. - 2007. - № 6(38). - С. 14 - 21.
- Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome / M. B. Fallon, G. A. Abrams, J. W. McGrath [et al.] // Am. J. Physiol. - 1997. - Vol. 272. - P. 779 - 784.
- European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. - Council of Europe. Strasbourg. - 1986. - № 123. - 52 p.
- Liver transplantation for hepatopulmonary syndrome: a ten-year experience in Paris, France / C. Taille, J. Cadranel, A. Bellocq [et al.] // Transplantation. - 2003. - Vol. 75. - P. 1482 - 1489.
- Multiple pathogenic factor-induced complications of cirrhosis in rats: A new model of hepatopulmonary syndrome with intestinal endotoxemia / Hui-Ying Zhang, De-Wu Han, Zhong-Fu Zhao [et al.] // World J. Gastroenterology. - 2007. - Vol. 13(25). - P. 3500 - 3507.
- Roberts K. E. Genetic risk factors for hepatopulmonary syndrome in patients with advanced liver disease / K. E. Roberts, S. M. Kawut, M. J. Krowka // Gastroenterology. - 2010. - Vol. 139. - P. 130 - 139.
- Rodriguez-Roisin R. Hepatopulmonary syndrome - a liver-induced lung vascular disorder / R. Rodriguez-Roisin, M. J. Krowka // The New England Journal of Medicine. - 2008. - Vol. 358, № 22. - P. 2378 - 2387.
- Two cases of hepatopulmonary syndrome with improved liver function following long-term oxygen therapy / K. Y. Fukushima, H. Yatsushashi, A. Kinoshita [et al.] // J. Gastroenterology. - 2007. - Vol. 42 - P. 176 - 180.

*Криницька І. Я., Орел Ю. Н.*

## МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛЕГКИХ У КРЫС С МОДЕЛИРОВАННЫМ ГЕПАТОПУЛЬМОНАЛЬНЫМ СИНДРОМОМ

**Резюме.** В эксперименте на крысах с двумя моделями гепатопульмонального синдрома проведено исследование морфометрических показателей легких. Результаты проведенного исследования указывают на глубокие морфофункциональные изменения легких, которые проявились повреждением паренхимы и стромы легких, расстройствами гемомикроциркуляции, в первую очередь на уровне артериол и капилляров.

**Ключевые слова:** морфометрия, легкие, гепатопульмональный синдром.

*Krynytska I. Ya., Orel Y. M.*

## MORPHOMETRIC PARAMETERS OF THE LUNGS IN RATS WITH MODULATED HEPATOPULMONARY SYNDROME

**Summary.** In experiments on rats with two models of hepatopulmonary syndrome the morphometric parameters of the lungs were studied. Results of the investigation indicate a pronounced morphofunctional changes of the lungs: damage of parenchyma and stroma, disorders of hemomicrocirculation, primarily at the level of arterioles and capillaries.

**Key words:** morphometry, lungs, hepatopulmonary syndrome.

Стаття надійшла до редакції 20.09.2012 р.