

**Н.А.Рикало**

Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова

**Ключові слова:** хронічний токсичний гепатит, щури, лімфатичні судини.

Надійшла: 09.09.2015

Прийнята: 24.09.2015

УДК 591.436:591.442:599.323.4

## ПАТО- ТА МОРФОГЕНЕЗ ПОРУШЕННЯ МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ ПРИ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ У СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ

*Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи «Вікові особливості патогенезу гострої і хронічної патології внутрішніх органів. Патогенетичні підходи до лікування» (номер державної реєстрації 0111U008679).*

**Реферат.** Метою роботи було дослідження пато- та морфогенезу порушення крово- та лімфообігу при хронічному токсичному гепатиті у статевонезрілих щурів. Хронічний токсичний гепатит моделювали на білих статевонезрілих лабораторних щурах шляхом інтрагастрального введення  $CCl_4$  та етанолу впродовж шести тижнів. Порушення лімфообігу проявляється розширенням просвіту лімфатичних судин портальних шляхів та капсули печінки, наявністю анастомозів між поверхневими та глибокими лімфатичними судинами, новоутворенням лімфатичних судин під капсулою печінки, формуванням лімфатичних щілин, лакун, капілярів та посткапілярів з широким просвітом, які фрагментують і деформують часточки. На тлі лімфостазу відбувається розростання сполучної тканини.

**Morphologia.** – 2015. – Т. 9, № 3. – С. 67-73.

© Н.А.Рикало, 2015

✉ rikalonadia@gmail.com

**Rykalo N.A. Patho- and morphogenesis of microcirculation disturbances in toxic hepatitis in immature rats.**

**ABSTRACT. Background.** Chronic exogenous intoxication leads to the development of typical pathological processes. In this case the structural and functional disturbances of the liver frequently occur. **Objective:** to investigate the pathogenic and morphogenetic violations of blood and lymph circulation at chronic toxic hepatitis in immature rats. **Methods.** Experiment was conducted on white laboratory immature rats. The chronic toxic hepatitis was modelled by intragastric administration of 20% oil solution of  $CCl_4$  and 5% solution of ethanol during six weeks twice a week. Liver tissue was stained by hematoxylin and eosin and by Van Gieson for histological studies. **Results.** The liver is an important lymph producer in both normal and pathological conditions. At chronic toxic hepatitis in immature rats violation of lymph circulation leads to the dilation of lymph capillaries of the portal tracts and liver capsule, presence of anastomoses between superficial and deep lymphatic vessels, formation of new lymph vessels under the liver capsule, appearance of splits, lacunae, capillaries with a wide lumen, deforming the liver lobule. Connective tissue proliferation takes place on the background of lymphostasis. **Conclusion.** The accumulation of fluid in the space of Disse can lead to capillarisation of sinusoids with formation of blood and lymphatic capillaries with the central direction of the fluid flow.

**Key words:** chronic toxic hepatitis, immature rats, lymphatic vessels.

### Citation:

Rykalo NA. [Patho- and morphogenesis of microcirculation disturbances in toxic hepatitis in immature rats]. Morphologia. 2015;9(3):67-73. Ukrainian.

### Вступ

Виникнення і розвиток хронічної екзогенної інтоксикації призводить до розвитку типових патологічних процесів та стереотипних реакцій зі сторони організму: порушення гемодинаміки та проникності судин мікроциркуляторного русла, метаболічних процесів, ацидозу. У таких умовах найчастіше порушення функції і структури виникає у печінці – найважливішому органі детоксикації та підтримки гомеостазу, а також у її регіонарному лімфатичному апараті, через який відтікає до 70 % лимфи, що надходить до цистерни грудної лімфатичної протоки [1, 2]. Лімфатична система являє собою колатеральний

до вен спеціалізований дренажний відділ серцево-судинної системи і є однією із важкодоступних для вивчення систем, але відіграє надзвичайно важливу роль в життєдіяльності організму [3]. Лімфа – це рідина, що заповнює простір між кровоносними судинами та тканинними елементами, а також лімфатичні капілярні судини. Загальновізнано, що лімфатична система відіграє важливу роль в системі гуморального транспорту і забезпечення нормального гомеостазу рідин, чим сприяє досягненню фізіологічного оптимума внутрішнього середовища організму [3-6].

Основним джерелом інтерстиційної рідини є фільтрація її із плазми крові в кровоносних капі-

лярах тому вона вміщує всі компоненти плазми крові. Деякі автори [5], вказують, що до складу лімфи входять і компоненти цитоплазми паренхіматозних клітин, однак роль клітин в лімфоутворенні невідома.

Початкове накопичення токсинів: високомолекулярних речовин, надмолекулярних частинок, токсичних метаболітів та екзотоксинів – відбувається в інтерстиційному просторі. Існує думка [7], що лише лімфатична система розвантажує інтерстицій від накопичених при хворобах печінки продуктів з великою молекулярною масою, але компенсаторні резерви лімфатичного русла, в тому числі і інтерстиційного простору, досить обмежені як функціональними, так і структурними можливостями. Венозна система виконує лише емкісну, а не дренажну функцію.

Лімфатичні судини відрізняються тонкою неміцною структурою, легко піддаються внутрішнім розривам, що спричиняє порушення току лімфи і розвиток застою. Лімфатична рідина досить густа через значний вміст протеїнів. Варто потоку лімфи сповільнитись, як вона починає змінювати свої реологічні властивості. Білки відокремлюються від рідини і згортаються утворюючи товсті волокна. Інтерстицій рідина повинна видалятися по лімфатичній системі, щоб забезпечити нормальну життєдіяльність паренхіматозних клітин [6].

У науковій літературі останніх десятиріч зустрічаються лише поодинокі роботи, що стосуються ролі лімфатичних судин при патології печінки [8]. Щодо структури лімфатичної системи печінки, то побутує дискусійна думка, чи простори Діссе є початком лімфатичного русла. Загальновізвано, що лімфатичні судини не виявляються ні в печінкових балках, ні навколо них, ні навколо синусоїди. Вони визначаються лише під капсулою та в портальних трактах навколо портальної вени та печінкових вен. Таким чином, де і як відбувається лімфоутворення у печінці (а воно складає більше 1/3 всієї лімфи організму), на сьогоднішній день залишається відкритим питанням.

#### **Мета**

Дослідити пато- та морфогенез порушення крово- та лімфообігу при хронічному токсичному гепатиті (ХТГ) у статевонезрілих щурів.

#### **Матеріали та методи**

Експериментальні дослідження проведені на 60 білих лабораторних статевонезрілих щурах самцях, віком 1,5 місяці, з початковою масою тіла 60-70 г. Утримання тварин проводилось у віварії ВНМУ ім. М. І. Пирогова та відповідно до “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.) та вимог додатку 4 до “Правил проведення робіт з вико-

ристанням експериментальних тварин”, затверджених наказом Міністерства охорони здоров'я № 755 від 12 серпня 1977 р. “Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин”, що узгоджується з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

Хронічний токсичний гепатит моделювали (n=48) за власною методикою, шляхом інтрагастрального введення 20 % олійного розчину  $CCl_4$  у дозі 0,1 мл/100 г маси в комбінації з 5 % розчином етанолу в якості пиття впродовж шести тижнів двічі на тиждень [9]. До контрольної групи увійшло 12 інтактних щурів.

Після виведення тварин з експерименту під наркозом здійснювали забір тканини печінки для гістологічних досліджень. Шматочки тканини вказаного органу фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну і проводили через батарею спиртів з наступним заключенням в парафін за загальноприйнятою методикою. Парафінові зрізи тканини печінки фарбували гематоксиліном та еозином, а також за Ван Гізон для виявлення колагенових волокон.

#### **Результати та їх обговорення**

При оглядовому мікроскопічному дослідженні печінки статевонезрілих щурів групи контролю ми виявили особливості будови, які властиві статевонезрілим щурам в нормі. Такими є нечітка вираженість часточкової будови органу через незрілість портальних трактів. Пограничну пластинку часто не можна було визначити. Капсула органу тонка, під нею нечисленні просвіти поверхневих лімфатичних судин, що утворюють сплетіння (рис. 1А).

У статевонезрілих щурів із експериментальним ХТГ при гістологічному дослідженні печінки, найбільш характерною була велика кількість безладно розташованих щілин різної форми, ширини, довжини, заповнених прозорою рідиною. Вони нагадували «порожні» септи, які фрагментували часточки, часто сліпо закінчувались всередині і не досягали центральних вен. Іноді вони нагадували розширені синусоїди без еритроцитів, у їх просвіті виявлялась в основному прозора тканинна рідина (лімфа). Впадали вони в значно розширені лімфатичні судини портальних шляхів (рис. 1Б).

Оцінюючи причини такого нерівномірного набряку печінки, ми звертаємо увагу на морфологічний стан розгалужень портальної вени, стінка крупних гілок якої не напружена а, навпаки, помірно звивиста. Натомість вздовж структур портального шляху визначались значно розширені прозорою рідиною лімфатичні судини, в які впадали «порожні» септи (рис. 2).

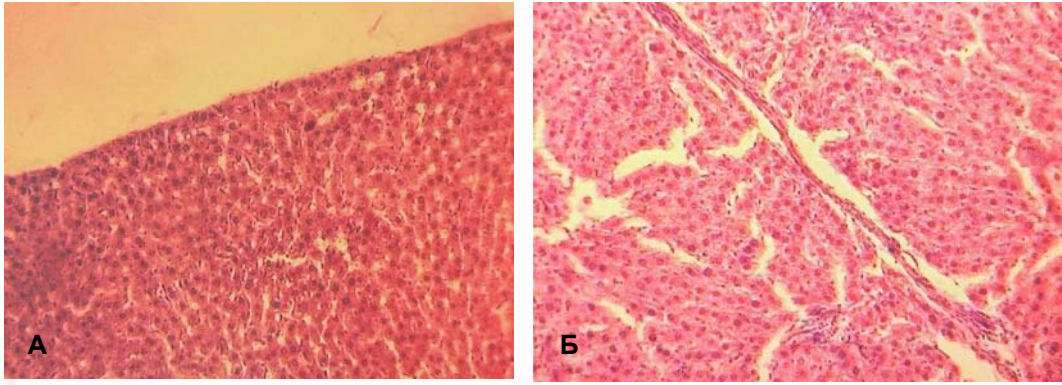


Рис. 1. А. Структура печінки інтактного статевонезрілого щура: капсула печінки ніжна, випрямлена. Часточкова будова паренхіми означена нечіткою. Б. Структура печінки статевонезрілого щура з ХТГ: набряк печінки з розширенням просвіту лімфатичних судин портального шляху та утворенням лімфатичних щілин, капілярів та посткапілярів з широким просвітом в середині часточок, які їх фрагментують і деформують. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$ .

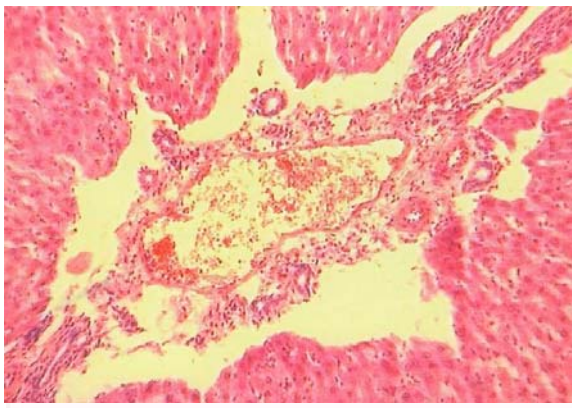


Рис. 2. Структура печінки статевонезрілого щура з ХТГ. Значне розширення просвіту лімфатичних судин портального шляху із звуженням та деформацією просвіту гілки портальної вени. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$ .

Рідко траплялись венуліти звужених центральних вен, що підтверджена наявністю в інтимі невеликих лімфоїдних скупчень. На наш погляд, джерелом надмірного лімфоутворення стала гігантоклітинна білкова балонна дистрофія паренхіматозних клітин досліджуваного органу, яка постійно виявлялась у печінці всіх піддослідних тварин даної групи, що підтверджувало розвиток гепатиту. Місцями вона мала дисемінований моноцелюлярний характер, але часто траплялись багатоклітинні вогнища у центрі часточок та перипортально (рис. 3). За нашими спостереженнями, наслідком такої дистрофії є коліквацийний некроз з утворенням чітко обмежених лакун тканинної рідини великих розмірів без ендотеліального вистелення. Аутогенним шляхом навколо таких лакун регенерує ендотелій і утворюються лімфатичні капіляри та посткапіляри із сегментарно-клапанною будовою (рис. 4).

Відповідно до літературних даних [4, 6, 10-11], та сучасних патогенетичних механізмів розвитку, утворення набряку в печінці може бути

пов'язано з підвищенням гідродинамічного тиску та проникності судинної стінки, особливо венозної частини капілярів та венул, і виходу рідких компонентів плазми крові у просвіт інтерстицію.

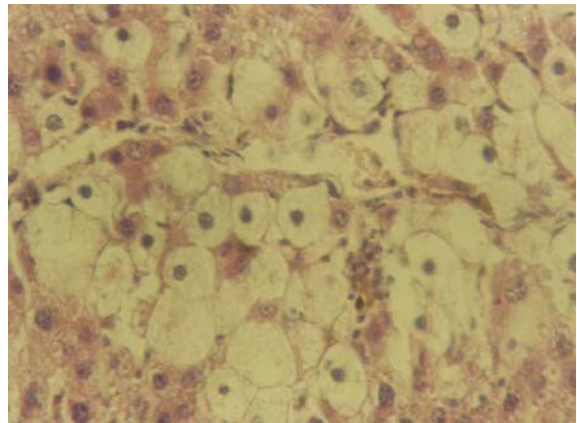


Рис. 3. ХТГ. Гігантоклітинна гідропічна дистрофія гепатоцитів перипортальних ділянок часточок. Забарвлення за Ван Гізоном.  $\times 100$ .

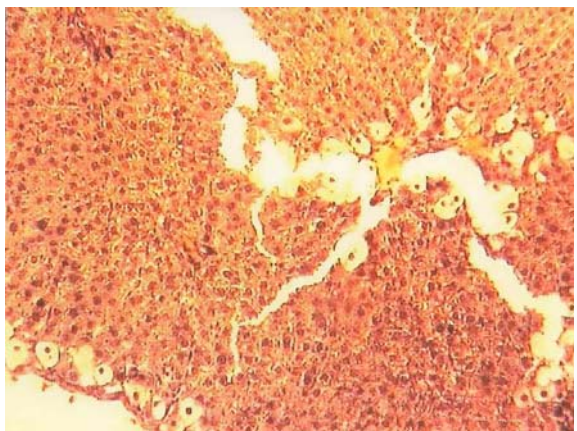


Рис. 4. ХТГ. Коліквацийний некроз дистрофічно змінених гепатоцитів з формуванням лімфатичних судин. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$ .

Погоджуючись із цією точкою зору, нами визначена динаміка балонної дистрофії, яка трансформується у коліквацийний некроз, тому, на нашу думку, названі процеси без сумніву мають велике значення в лімфоутворенні, особливо при високій активності лізосомальних ферментів. Лімфа, як тканинна рідина, створює сприятливі умови для переміщення клітин: лімфоцитів, макрофагів та камбіальних і спеціалізованих гепатоцитів, як джерела регенерації. Унаслідок коліквацийного некрозу гепатоцитів у позаклітинному матриксі іноді утворюються лакуни, які заповнені мутною рідиною, що вміщує щільні еозинофільні глибки, або нитки, що свідчить про її згущення, а, отже, про можливе сповільнення лім-

фовідтоку.

Як відомо, в умовах лімфостазу посилюється гіпоксія, яка активізує диференціювання мононуклеарів у продуценти колагенових волокон - фіброblastи (рис. 5А). Навколо дистрофічно і некротично змінених гепатоцитів місцями скупчуються імунокомпетентні клітини: макрофаги, лімфоцити, еозинофіли, утворюючи непоширені інфільтрати. Необхідно підкреслити, що у статевонезрілих щурів із ХТГ, біля фокусів коліквацийного некрозу спостерігається значна поліплоїдія ядер гепатоцитів, як компенсаторно-приспосувальний процес, спрямований на збереження органу (рис. 5Б).

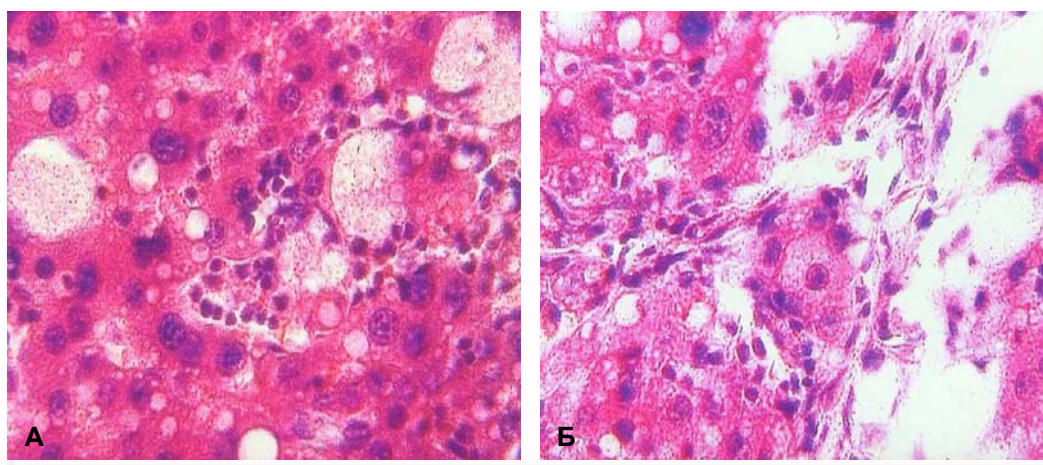


Рис. 5. А. ХТГ. Скупчення лімфоцитів і макрофагів навколо некротизованих гепатоцитів. Поліплоїдія ядер гепатоцитів. Б. Диференціювання макрофагів у фіброblastи у ділянці некрозів і набряку. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 400$ .

Таким чином, «порожні» септи - це не лише розширені синусоїди, а, скоріш за все, лімфатичні судини з можливим центральним напрямком (проти току крові) рухом рідини. Останні, на нашу думку, і є предиктором формування справжніх сполучнотканинних септ. Мононуклеарні інфільтрати без чітких меж на тлі набряку трапляються як всередині часточок, так і в портальних трактах. У просвіті «порожніх» септ визначаються «ланцюжки» лімфоцитів (рис. 6). Даний факт потребує додаткового вивчення. Яку функцію виконують указані ланцюжки, чи не блокують вони відтік крові синусоїдами, чи не створюють умови для формування лімфоїдних щілин за рахунок просторів Діссе, роль яких всередині органу недооцінена. Рідко трапляються інфільтрати, які нагадують лімфоїдні фолікули (рис. 7). Їх поява, можливо, ініційована необхідністю активної елімінації токсичних продуктів уже на місці, в самій печінці, а не тільки в екстраорганих лімфангіонах (регіональних лімфатичних вузлах). Як відомо [3, 12-13] саме в лімфатичних вузлах відбувається найбільший структурно-

функціональний контакт між судинами МЦР кровоносної та лімфатичної систем, що забезпечує максимальне знешкодження патогенів різного генезу та одночасну регуляцію як складу, так і об'єму лімфи.

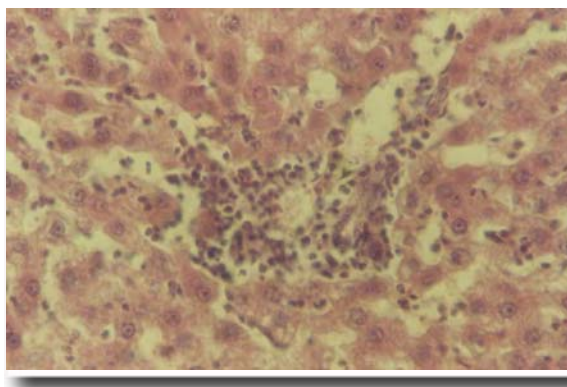


Рис. 6. ХТГ. Лімфогістіоцитарний інфільтрат без чіткої межі з кілінгом гепатоцитів у середині часточки. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 400$ .

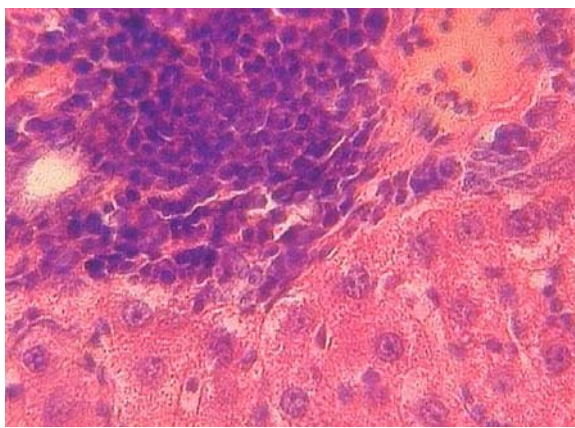


Рис. 7. ХТГ. Формування лімфоїдного фолікула в паренхімі печінки. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 400$ .

У доступній нам науковій літературі ми не знайшли відповіді на наступні запитання: «порожні» септи - це розширені синусоїди, чи лімфатичні капіляри? Відрізнити їх при оглядовому

мікроскопічному дослідженні досить важко, тому що їх стінка представлена одним шаром ендотеліоцитів, а клітини Купфера, як макрофаги, можуть десквамувати і мігрувати, клітини Іто, синтезуючи collagen, теж можуть зникати, що ще більше уподібнює структуру синусоїдів до лімфатичних капілярів. На нашу думку, ланцюжки мононуклеарів, частіше лімфоцитів, що визначаються в порожніх септах, можуть блокувати потік крові до центральної вени, а при посиленому лімфоутворенні сприяти зустрічному потоку лімфи проти току крові. Ці гіпотетичні висловлювання безумовно потребують подальшого дослідження та уточнення, адже кореневі лімфатичні структури і джерела остаточно не встановлені. Розширені синусоїди чи «порожні» септи, навіть при відсутності під ендотелієм collagenових волокон, називають септами, тому що практично загально визнано, що вони є предикторами справжніх сполучно-тканинних септ (рис. 8А), і свідчать про небезпеку прогресуючого фіброзу і швидкого розвитку цирозу печінки (рис. 8Б).

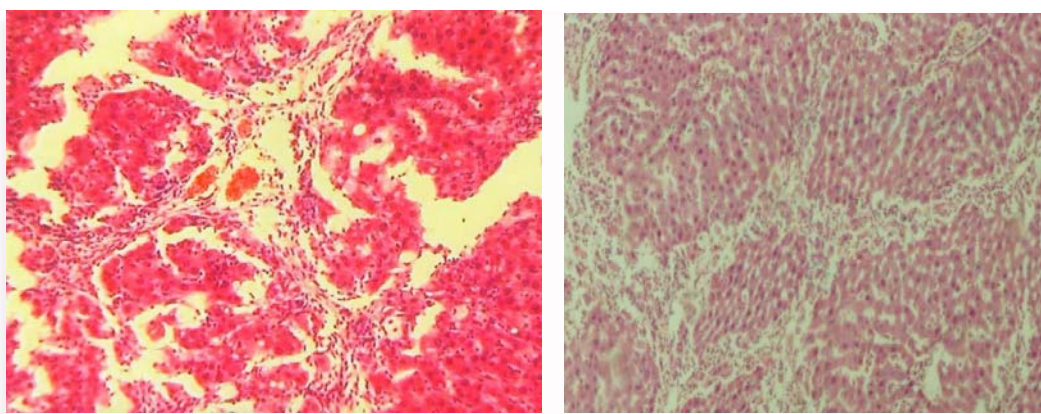


Рис. 8. А. Розростання сполучної тканини внаслідок лімфостазу при ХТГ. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 400$ . Б. Розвиток цирозу печінки. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$ .

Представлені морфологічні зміни глибоких лімфатичних судин поєднуються із аналогічними змінами поверхневих лімфатичних судин. Так, гігантоклітинна білкова «балонна» дистрофія гепатоцитів, локалізованих під капсулою (рис. 9 А) завершується утворенням лакун тканинної рідини, в яких ендотелій відсутній (рис. 9 Б).

Дрібні лакуни рідини можуть зливатись між собою і утворювати великі неоформленні кістоподібні утворення без чіткої стінки, що спричиняють нерівномірне витончення капсули з можливим відшаруванням капсули від паренхіми. Поверхневі лімфатичні судини капсули, які локалізовані між collagenовими волокнами і вистелені ендотелієм, теж значно переповнені прозорою рідиною і нагадують кісти (рис. 10А). Місцями

новоутворені поверхневі лімфатичні судини розширені незначно, але в їх просвіті визначається непрозора помірно еозинофільна рідина, в якій виявляються нитчасті або глибокі еозинофільні включення, що слугують морфологічним проявом згущення лімфи, а значить і сповільнення її току (рис. 10Б).

Капсула печінки в місцях особливо виразного набряку може розриватись, а рідина, вивільнюючи лакуни і лімфатичні судини, ініціює колапс строми, запалення і потенційний розвиток сполучно-тканинних септ. Вона набуває хвилястої структури. На рисунку 11 можна простежити вказані зміни глибоких і поверхневих лімфатичних судин, їх анастомозів з розривом капсули печінки та її зморщуванням.

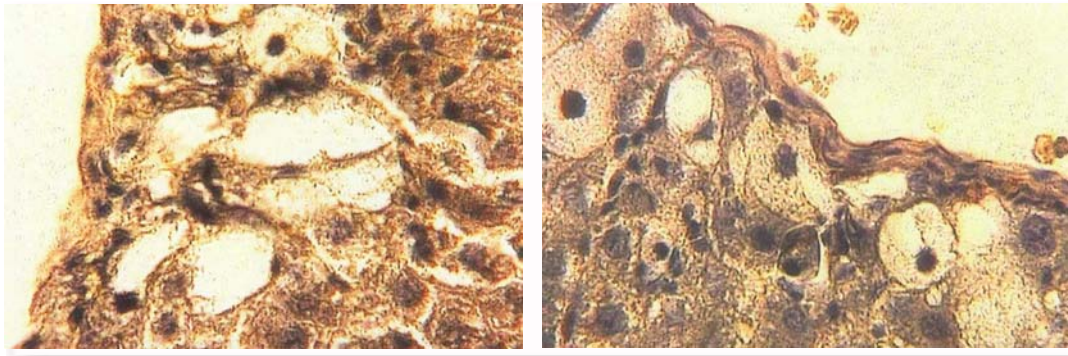


Рис. 9. А. ХТГ. Гігантоклітинна трансформація гепатоцитів зморщеною капсулою. Б. Лакуни лімфи на місці коліквацийного некрозу гігантських клітин. Забарвлення за Ван Гізоном.  $\times 400$ .

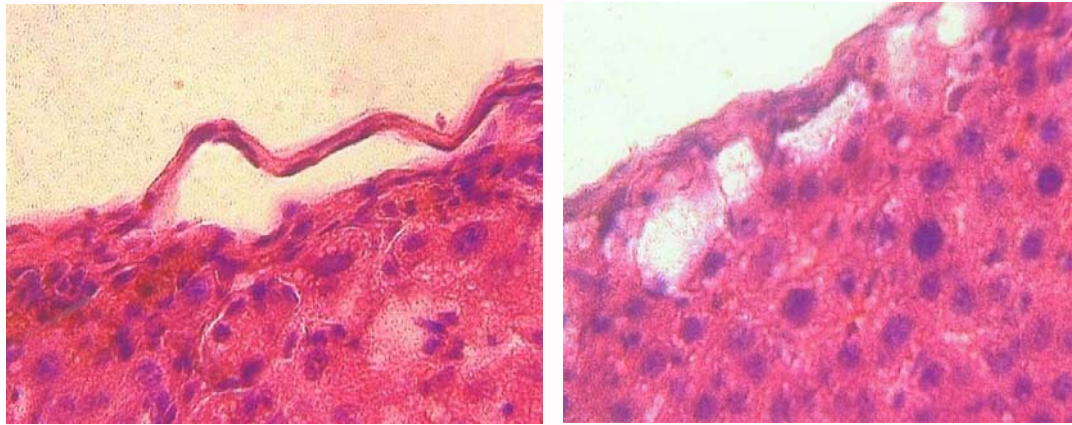


Рис. 10. А. ХТГ. Розширення просвіту лімфатичних судин капсули печінки. Б. Новоутворення лімфатичних судин під капсулою печінки. Поліплоїдизація ядер гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 400$ .

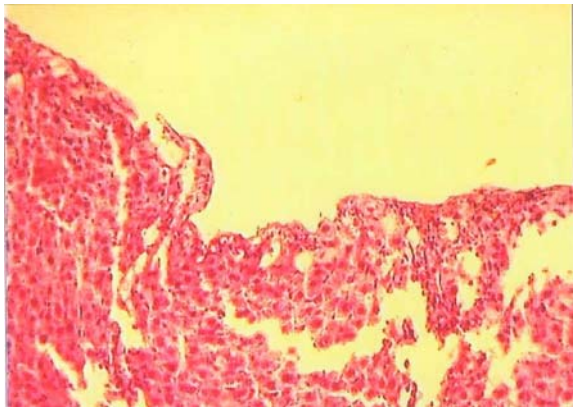


Рис. 11. ХТГ. Капсула печінки звивиста, зморщена. Наявні анастомози між поверхневими та глибокими лімфатичними судинами. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 100$ .

### Висновки

1. Печінка є важливим продуцентом органічної лімфи як у нормі, так і при патології. При хронічному токсичному гепатиті у статевонезрі-

лих штурів порушення лімфообігу проявляється розширенням просвіту лімфатичних судин портальних шляхів з наявністю анастомозів між поверхневими та глибокими лімфатичними судинами, розширенням просвіту лімфатичних судин капсули печінки, новоутворенням лімфатичних судин під капсулою печінки, формуванням лімфатичних щілин, лакун, капілярів та посткапілярів з широким просвітом всередині часточок, які їх фрагментують і деформують. На тлі лімфостазу відбувається розростання сполучної тканини.

2. Накопичення тканинної рідини у просторах Діссе може сприяти капіляризації синусоїдів з розвитком не лише кровоносних, але й лімфатичних капілярів з центральним напрямком руху рідини.

### Перспективи подальших досліджень

Уточнення джерел лімфоутворення, механізмів динаміки внутрішньоорганної лімфи у печінці дозволить глибше розуміти патогенез багатьох патологічних процесів, зокрема, фіброзу печінки та портальної гіпертензії.

## Літературні джерела References

1. BorodinYuI, MichurinaSV. [Lymphatic region of liver as a marker of environmental pressures on organism]. *Morfologiya*. 1998;113(3):27. Russian.
2. Kolesnikov SI, Michurin SV, SemeniukAA, VakulinGM. [Liver and its regional lymph nodes under the influence of 3,4-benzopyrene]. Novosibirsk; 1995. 218 p. Russian.
3. PetrenkoVM. [Lymphatic system: anatomy and development]. SPb: DEAN; 2010. 112 p.
4. Banin BB. [Structural variations in the changing internal environment]. *Bulletin of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences*; 2011;(4):11-3. Russian.
5. Borodin YuI, AstashovaTA, AstashovVV. [Role of lymphatic system in oxidative homeostasis in norm, at experimental atherosclerosis and its enteral correction by sorbent sial]. *Bulletin of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences*; 2006;(2):73-9. Russian.
6. Petrov IM, PetrovMN. [Informational analysis of lymphatic fluid]. *Fundamental research*. 2007;(10):69-70. Russian.
7. ErofeevaNP, OrlovMS. [Lymphatic system as essential element of human body fluid homeostasis. new view on old problems. (literature review)]. *Vestnik SPbGU; Series 11: Medicine*. 2008;(4):78-85. Russian.
8. Yaroshenko IF. [The role of lymphatic system in the process of lymphohaemocoagulation] [dissertation]. Moscow; 1987. 400 p. Russian.
9. Rykalo NA, Nezhoda II, Ratsukis VA, inventors; Pyrohov Vinnytsia National Medical University, assignee. Method for modeling chronic toxic hepatitis and cirrhosis in immature rats. Ukrainian patent UA 43704. 2009 Apr 10. Int. Cl. G09V23/00. Ukrainian.
10. Petrenko VM. [Segmental organization of the lymph flow]. *Fundamental research*. 2008;(12):13-6. Russian.
11. Petrenko VM. [Functional Morphology of lymph vessels]. SPb: DEAN; 2008. 406 p. Russian.
12. Grigorenko DE, Sapin MR Khrebtovsky AM. [Morphofunctional state of hepatic lymph nodes in experimental hepatitis]. *Bulletin of new medical technologies*. 2006;13(1):30-3. Russian.
13. Baymatov HB, Kayumov FA, Nartaylakov MA, Baymatov BN. [Morphological and functional changes in rats with chestnut-tetrachloride toxicosis]. *Morfologiya*. 2004;126(4):15-7. Russian.

### **Рыкало Н.А. Пато- и морфогенез нарушений микроциркуляции при токсическом гепатите у неполовозрелых крыс.**

**Реферат.** Цель: исследовать пато- и морфогенез нарушения крово- и лимфотока при хроническом токсическом гепатите у неполовозрелых крыс. Хронический токсический гепатит моделировали на белых неполовозрелых лабораторных крысах путем интрагастрального введения СС14 и этанола в течение шести недель. Результаты и выводы: нарушение лимфоотока проявляется расширением просвета лимфатических сосудов портальных путей и капсулы печени, наличием анастомозов между поверхностными и глубокими лимфатическими сосудами, новообразованием лимфатических сосудов под капсулой печени, формированием лимфатических щелей, лакун, капилляров и посткапилляров с широким просветом, которые фрагментируют и деформируют дольки. На фоне лимфостаза происходит разрастание соединительной ткани.

**Ключевые слова:** хронический токсический гепатит, крысы, лимфатические сосуды.