



МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГЕПАТОЦИТОВ И ХОЛАНГИОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ

Сафронова Г.М.

Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: safronova_73@bk.ru

Для цитирования:

Сафронова Г.М. Морфофункциональные изменения гепатоцитов и холангиоцитов при экспериментальном перитоните // Морфологические ведомости. – 2021;29(4):548. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29\(4\):548](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29(4):548)

Резюме. Гнойный перитонит вызывает изменения структуры и функции органов нейроэндокринной, кроветворной, сердечно-сосудистой и других функциональных систем. Выраженные структурные изменения наблюдаются в печени и органах желудочно-кишечного тракта. Проблема лечения острого перитонита и вопрос о компенсаторно-приспособительных реакциях органов брюшной полости остаются в настоящее время актуальными. Целью исследования было изучение морфофункциональных изменений гепатоцитов и холангиоцитов междольковых выводных желчных протоков в условиях развития экспериментального перитонита, который воспроизводился путем создания очага некротического повреждения в вентральной брюшной стенке и разлитого септического воспаления в брюшной полости. В эксперименте на белых мышах (n=35) создавали модель острого серозно-гнояного перитонита. Животным под эфирным наркозом производили лапаротомию и контаминировали брюшную полость смесью, содержащей 10 мл аутопунктата терминального отдела тонкой кишки и крови из расчета 10 мл на 1 кг массы тела. Перитонит воспроизводили путем создания очага некротического повреждения в вентральной брюшной стенке и разлитого септического воспаления в брюшной полости, такая модель перитонита чаще всего используется в экспериментальной гастроэнтерологии. Использован комплекс морфологических методов исследования, включая гистохимические и электронно-микроскопические. Полученные данные показали, что в ходе развития экспериментального перитонита вначале наблюдается клеточно-ядерный полиморфизм гепатоцитов и усиление их белоксинтезирующей функции, затем гепатоциты подвергаются дистрофии, сопровождающейся изменениями биохимических показателей (нуклеопротеидов, активности фосфатаз, нейтрального жира, гликозаминогликанов, гликогена), появлением мелкоочаговых некрозов, в дальнейшем, по мере затухания процесса, ткань печени восстанавливается. Изменения желчных протоков были менее выражены, в них наблюдались лейкоцитарная инфильтрация, гиперсекреция слизи, холангиофиброз. Полученные данные расширяют диапазон представлений об органоспецифических изменениях гепатоцитов, холангиоцитов, соединительной ткани портальных трактов и междольковых прослоек, клеточной выстилки печеночных синусоидов, элементов перисинусоидного пространства и мезотелия висцеральной брюшины при экспериментальном гнойном перитоните.

Ключевые слова: печень; гепатоциты; холангиоциты; мышья; перитонит

Статья поступила в редакцию 01 апреля 2021
Статья принята к публикации 22 декабря 2021

THE MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL CHANGES IN HEPATOCYTES AND CHOLANGIOCYTES AT THE EXPERIMENTAL PERITONITIS

Safronova GM

Mechnikov North-Western State Medical University, Saint-Petersburg, Russia, e-mail: safronova_73@bk.ru

For the citation:

Safronova GM. The morphological and functional changes in hepatocytes and cholangiocytes at the experimental peritonitis. *Morphologicheskie Vedomosti – Morphological Newsletter*. 2021;29(4):548. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29\(4\):548](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2021.29(4):548)

Summary. Purulent peritonitis causes changes in the structure and function of the organs of the neuroendocrine, hematopoietic, cardiovascular and other functional systems. Pronounced structural changes are observed in the liver and organs of the gastrointestinal tract. The problem of treatment of acute peritonitis and the issue of compensatory-adaptive reactions of the abdominal organs remain relevant at the present time. The aim of the study was to study the morphological and functional changes in hepatocytes and cholangiocytes of the interlobular excretory bile ducts in the conditions of the development of experimental peritonitis, which was reproduced by creating a focus of necrotic damage in the ventral abdominal wall and diffuse septic inflammation in the abdominal cavity. In an experiment on white mice (n=35), a model of acute serous-purulent peritonitis was created. Animals under ether anesthesia were subjected to laparotomy and the abdominal cavity was contaminated with a mixture containing 10 ml of auto-puncture of the terminal part of the small intestine and blood at the rate of 10 ml per 1 kg of body weight. Peritonitis was reproduced by creating a focus of necrotic damage in the ventral abdominal wall and diffuse septic inflammation in the abdominal cavity, this model of peritonitis is most often used in experimental gastroenterology. A complex of morphological research methods was used, including histochemical and electron microscopy. The data obtained showed that during the development of experimental peritonitis, at first, cellular-nuclear polymorphism of hepatocytes and an increase in their protein-synthesizing function are observed,

then hepatocytes undergo dystrophy, accompanied by changes in biochemical parameters (nucleoproteins, phosphatase activity, neutral fat, glycosaminoglycan, glycogen), the appearance of small-focal necrosis, in the future, as the process fades, the liver tissue is restored. Changes in the bile ducts were less pronounced, they were observed leukocyte infiltration, hypersecretion of mucus, cholangio-fibrosis. The data obtained expand the representations about of organ-specific changes in hepatocytes, cholangiocytes, connective tissue of the portal tracts and interlobular layers, cell lining of the hepatic sinusoids, elements of the peri-sinusoid space and mesothelium of the visceral peritoneum in experimental purulent peritonitis.

Key words: *liver; hepatocytes; cholangiocytes; mouse; peritonitis*

Article received 01 April 2021

Article accepted 22 December 2021

Введение. Несмотря на то, что методы лечения перитонита совершенствуются, летальность при этой патологии не уменьшается. Исключительно важно выяснить морфофункциональные изменения печени, как основного органа, обеспечивающего гомеостазис организма и содержащего большинство компонентов иммунной системы – натуральные киллеры, дендритные клетки, макрофаги и другие, а также определенную часть эффекторов специфического иммунитета в патогенезе перитонита, изучить реактивность клеток печени, их компенсаторно-приспособительные реакции, ибо они во многом определяют течение и исход этого процесса.

Цель исследования: изучить морфологические, реактивные изменения гепатоцитов и холангиоцитов в динамике развития острого экспериментального перитонита.

Материалы и методы исследования. В эксперименте на белых мышах (n=35) создавали модель острого серозно-гнойного перитонита. Животным под эфирным наркозом производили лапаротомию и контаминировали брюшную полость смесью, содержащей 10 мл аутопунктата терминального отдела тонкой кишки и крови из расчета 10 мл на 1 кг массы тела. После контаминации брюшной полости рану послойно зашивали. Перитонит воспроизводили путем создания очага некротического повреждения в вентральной брюшной стенке и разлитого септического воспаления в брюшной полости. Эта модель перитонита чаще всего используется в экспериментальной гастроэнтерологии. Опытные животные были разделены на 7 групп (по 5 мышей в каждой). Контрольной группой служили 15 мышей, которым под эфирным наркозом с соблюдением правил асептики и антисептики инсулиновым шприцем в

брюшную полость вводили физиологический раствор. Животных по группам выводили из опыта в соответствии с «Методическими рекомендациями по эвтаназии экспериментальных животных» [1] через 3, 6, 12, 24 часов, 3 суток, 1, 2, 3 и 4 недели после введения смеси (опыт) и физиологического раствора (контроль). Материалом исследования служила печень мышей опытных и контрольной групп. Использован комплекс морфологических методов исследования.

Для гистологического исследования, кусочки печени фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине. Использовали обзорную окраску депарафинированных гистологических срезов гематоксилин-эозином, а также элективную методику изготовления пленочных препаратов глиссоновой капсулы. Для этого капсулу препарировали, расправляли и закрепляли на парафиновых пластинах. При этом мезотелий смачивали 5% раствором сахарозы для предотвращения его высыхания. Затем фиксировали в 12% нейтральном формалине и изготавливали пленочные препараты. Для выявления клеточных границ мезотелиоцитов пленку перед фиксацией импрегнировали 0,2% раствором азотнокислого серебра в течение одной минуты и облучали ультрафиолетовыми лучами. Для окраски ядер мезотелиоцитов применяли гематоксилин по Гейденгайну. В полученных гистологических препаратах проведены морфометрические исследования. Определяли ядерно-цитоплазматические отношения (по величине объемов и площадей поперечного сечения) гепатоцитов. Для вычисления ядерно-цитоплазматического отношения гепатоцитов сначала измеряли линейные размеры клеток и их ядер. В каждом случае было измерено не менее 100 клеток. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием ме-

тодов параметрической и непараметрической статистики. Для оценки межгрупповых различий применяли при сравнении 2 групп – t-критерий Стьюдента, в случаях множественных сопоставлений групп – критерии Стьюдента-Ньюмена-Коулза. Парафиновые срезы использовали также для гистохимических реакций (окраски нуклеопротеидов по Унна-Паппенгейму; выявления гликогена, гликозаминогликанов и гликопротеидов с помощью ШИК – реакции; окраски нейтрального жира суданом-III и фосфолипидов – суданом черным), на замороженных срезах выявляли активность гидролитических ферментов – щелочной и кислой фосфатаз.

Для электронно-микроскопического изучения кусочки печени фиксировали в 2% глютаральдегиде, далее в 1% растворе четыре окиси осмия по методу Колфильда и заливали в смесь эпон812-аралдит. Ультратонкие срезы получены на ультратоме ЛКБ-3, контрастировали цитратом свинца и просматривали на электронном микроскопе УЕМ-100. Электронно-микроскопические исследования проведены в лаборатории электронной микроскопии (заведующая – доктор медицин-

ских наук, профессор В.Ф. Иванова ЦНИЛ СЗГМУ имени И.И. Мечникова).

Результаты исследования и обсуждение. На всех стадиях развития экспериментального перитонита возникают морфофункциональные и реактивные изменения тканей и клеток печени, однако в разные сроки опыта они выражены неодинаково. В ранние сроки эксперимента (1-3 сутки наблюдения) преобладают морфофункциональные изменения и компенсаторно-приспособительные реакции тканей печени, но на 7-е сутки опыта, когда интоксикация организма становится максимальной, развиваются дистрофические и деструктивные процессы, интенсивность которых затем через 2-3 недели постепенно снижается так, что через 4 недели ткани печени опытных мышей мало отличаются от таковых у контрольных intactных мышей. Нами установлено, что выраженность развития отмеченных выше изменений разных тканей и клеток печени различна. Гепатоциты печеночных балок более чувствительны к интоксикации, чем холангиоциты междольковых выводных желчных протоков, фибробласты соединительной ткани и мезотелиоциты капсулы железы.

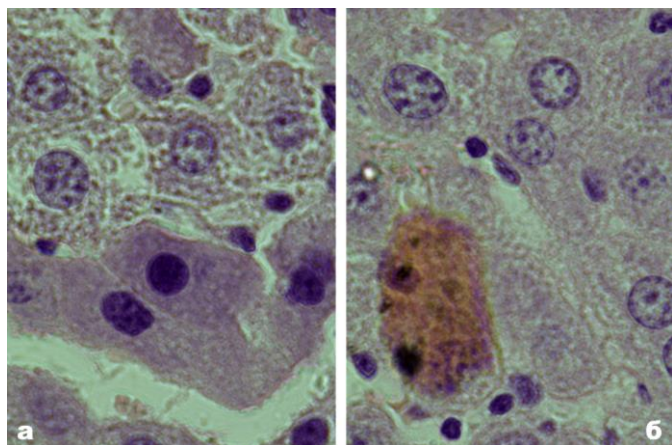


Рис. 1. Микрофото гистологического препарата печени. Дистрофические изменения гепатоцитов и холангиоцитов мышей на 7-е сутки эксперимента. Обозначения: а – микроочаг базофильной дистрофии, состоящий из 3-х гепатоцитов; б – эозинофильная дистрофия гепатоцитов. Окр. гематоксилином-эозином. Ув.: x1000.

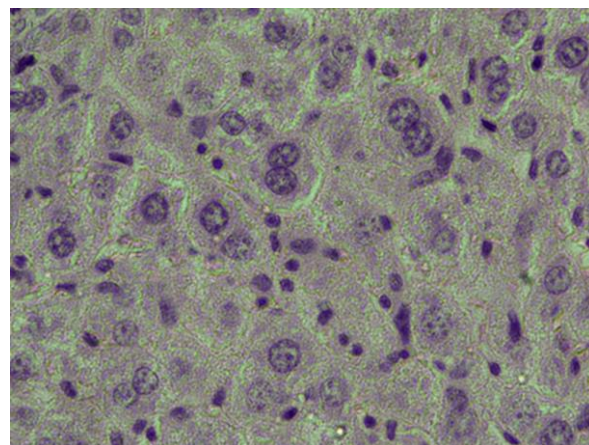


Рис. 2. Микрофото гистологического препарата печени. Множественные двоядерные гепатоциты печени мышей через 4 недели после введения микробной взвеси. Окр. гематоксилином-эозином. Ув.: x400.

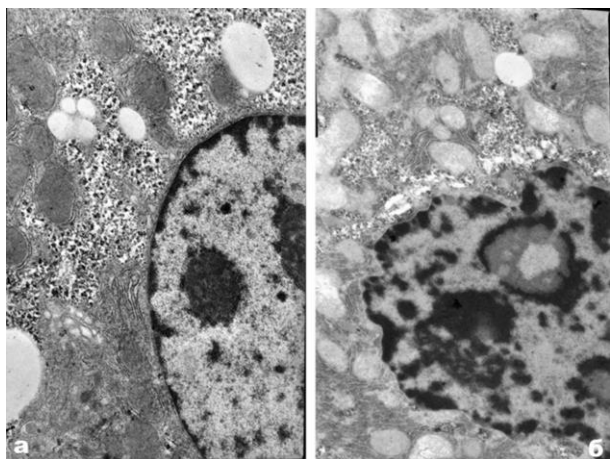


Рис. 3. Электронное микрофото реактивных изменений гепатоцитов мыши; а – функциональная гипертрофия гепатоцита на 1-3 сутки (ув. X11000); б – дистрофически измененный гепатоцит на 5-7 сутки (ув.: x10000).

Морфофункциональные и реактивные изменения гепатоцитов при экспериментальном перитоните через 1-3 сутки опыта характеризуются полиморфизмом по размерам, гипер- и гипохроматозу их ядер и цитоплазмы, базо- и эозинофилии клеток. На 5-7 сутки эксперимента появляются дистрофически измененные гепатоциты, претерпевающие преимущественно базофильную и эозинофильную белковые дистрофии (рис. 1-а, 1-б). Реже встречаются гепатоциты в со-

стоянии водянистой и жировой дистрофий. По мере затухания перитонита интенсивность дистрофических изменений гепатоцитов, экссудация и лейкоцитарная инфильтрация печеночных балок снижаются. Одновременно увеличивается количество двухядерных и многоядерных гепатоцитов как результат незавершенных митозов (рис. 2). Гистохимические исследования гепатоцитов в разные стадии перитонита показали существенные изменения содержания нуклеопротеидов, гликогена, гликозаминогликанов, нейтрального жира, а также активности щелочной и кислой фосфатаз. Электронно-микроскопические исследования гепатоцитов в 1-3 сутки эксперимента выявили разнообразные изменения их структуры: гипертрофию канальцев шероховатой и гладкой эндоплазматической сети, накопление включений гликогена и жира (рис. 3). На 5-7 сутки опыта электроннограммы печени показывают дистрофически измененные гепатоциты с нарушением ядерного аппарата, органелл и включений цитоплазмы, повреждением межклеточных контактов (рис. 3). Данные морфометрического анализа динамики изменения объемов ядер, цитоплазмы и ядерно-цитоплазматического отношения гепатоцитов в разные сроки эксперимента отражены на рис. 4.

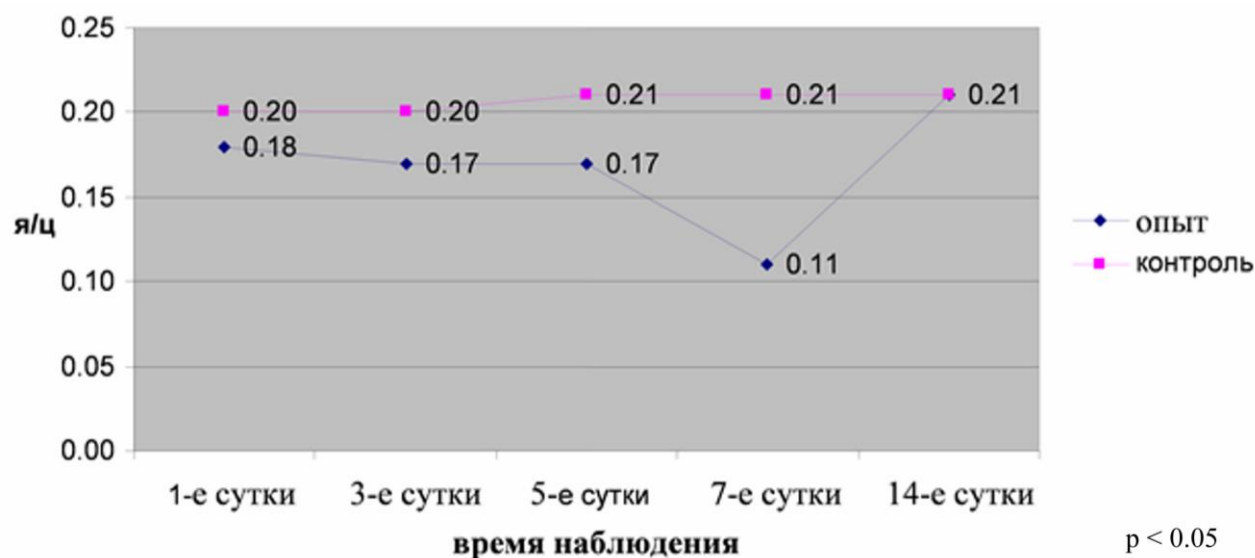


Рис. 4. Изменения ядерно-цитоплазматического отношения (я/ц) гепатоцитов в условных единицах опытных и контрольных животных в разные сроки наблюдения.

При экспериментальном перитоните в ранние сроки опыта холангиоциты

междольковых желчных протоков секретируют слизь. В последующие сроки экс-

перимента отмечается лейкоцитарная инфильтрация эпителия протоков и пониженное муцино-образование. Характерные изменения претерпевает люменальная и контактная поверхности холангиоцитов. Межклеточные контакты холангиоцитов подвергаются дезинтеграции (рис. 5). В поздние сроки опыта гистохимические реакции ультрамикроскопическая структура холангиоцитов и их межклеточные контакты восстанавливаются.

Гнойный перитонит вызывает изменения структуры и функции органов нейроэндокринной, кроветворной, сердечно-сосудистой и других функциональных систем организма. Выраженные структурные изменения наблюдаются также в печени и органах желудочно-кишечного тракта [2-3]. Исследованиями последних лет установлено, что уже через 6 часов после инициации перитонита наблюдаются системные нарушения структуры и гемодинамики брюшины, тонкой и толстой кишки, а также печени, характеризующиеся выраженными дистрофическими и некробиотическими изменениями, гиперемией сосудов, интерстициальным отеком, воспалительной лейкоцитарной инфильтрацией, агрегацией эритроцитов, феноменом «сладжа» форменных элементов крови и гемостаза в сосудах гемомикроциркуляторного русла, а также геморрагическим пропитыванием параваскулярной соединительной ткани [4]. Используемая нами модель экспериментального перитонита воспроизводит серозно-гнойное воспаление брюшины, вызванное микробной взвесью аэробных и анаэробных бактерий из расчета 0,6 миллиардов микроорганизмов на 100 грамм массы тела мыши с характерной фазностью процесса и различной интенсивностью его течения на ранних и последующих сроках эксперимента.

В цитоплазме гепатоцитов увеличивается содержание включений гликогена, гликозаминогликанов и других ШИК-положительных веществ. Вышеотмеченные данные согласуются с результатами авторов, отмечавших структурно-функциональный полиморфизм гепатоцитов, сопровождающийся активацией синтетических процессов, как инициаль-

ную компенсаторную реакцию печеночных клеток при воздействии на организм различных экзо- и эндогенных факторов [5-6].

Однако через неделю опыта, когда общая интоксикация организма при перитоните становится выраженной, гепатоциты претерпевают дистрофические изменения, выражающиеся появлением в жизнеспособной паренхиме одиночных или собранных в островки клеток, подвер-

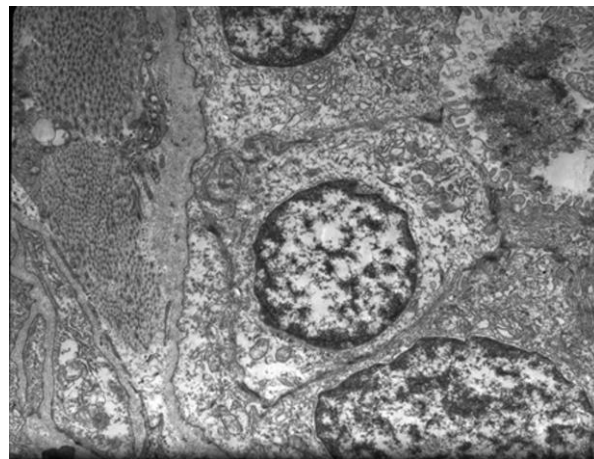


Рис. 5. Электронное микрофото желчного капилляра мыши через 4 недели после введения микробной взвеси. Ув.: x10000.

гающихся дистрофии. Чаше отмечается белковая дистрофия («мутное» зернистое набухание гепатоцитов и эозинофильная дистрофия), нежели чем жировая и водяночная дистрофии или сочетанные их варианты.

Морфофункциональные изменения холангиоцитов выводных желчных протоков на ранних сроках эксперимента сопровождаются незначительным увеличением содержания нуклеопротеидов, усилением ШИК – реакции на гликоген и гликозаминогликаны на фоне слабовыраженного полиморфизма холангиоцитов [7-8]. С нарастанием общей интоксикации на 5-7-е сутки опыта эпителий междольковых протоков претерпевает дистрофические изменения, в его составе обнаруживаются очаги холангиоцитов с мутным набуханием их цитоплазмы и лейкоцитарной инфильтрацией. Однако в дальнейшем по мере затухания перитонита через 2-4 недели опыта дистрофические

процессы эпителия желчных протоков ослабевают и постепенно их структура восстанавливается, что подтверждается также электронно-микроскопическими исследованиями холангиоцитов.

Заключение. Таким образом, морфофункциональные изменения гепатоцитов в динамике развития экспериментального перитонита в разные сроки опыта выражены неодинаково. В ранние сроки преобладают экссудативные реакции, а морфофункциональные изменения гепатоцитов носят компенсаторно-приспособительный характер, выражающийся развитием ядерного и клеточного полиморфизма, гипер- и гипохроматозом ядер и

цитоплазмы клеток. По мере снижения интоксикации электронно-микроскопическая структура функциональных аппаратов гепатоцитов постепенно восстанавливается. Морфофункциональные изменения эпителия междольковых желчных протоков в динамике экспериментального перитонита в сравнении с изменениями гепатоцитов выражены слабее. На ранних стадиях воспаления отмечается гиперсекреция холангиоцитами слизи и незначительная диффузная лейкоцитарная инфильтрация. Затем лейкоцитарная инфильтрация становится мелкоочаговой и постепенно затухает.

Литература

References

1. Metodicheskie rekomendatsii po evtanazii eksperimental'nykh zhivotnykh. M.: Nauka, 1985.- 32s. In Russian
2. Verin VK, Gamzatov HA, Safronova GM. Morfofunkcional'nye izmeneniya pecheni zhivotnykh v dinamike razvitiya eksperimental'nogo peritonita/ V kn.: Mater. conf. «Mediko-social'nye problemy profilaktiki, diagnostiki i lecheniya zabolevanij» 12-14 maya 2003 g.- S-Pb.: S-PbGMA, 2003.- 152s. In Russian
3. Verin VK, Gamzatov HA, Safronova GM. Reaktivnye izmeneniya tkani pecheni zhivotnykh v dinamike razvitiya i nikh peritonita/ V kn.: Mater. conf. «Fundamental'nye i prikladnye problemy gistologii: gistogenez i regeneratsiya tkanej» 20-21 maya 2004 g. S-Pb.: VMA, 2004.- S. 95-96. In Russian
4. Safronova GM. Morfofunkcional'nye izmeneniya pechenochnykh sinusoidov v raznye sroki eksperimental'nogo peritonita/ V kn.: Mater. conf. «Aktual'nye voprosy sovremennoj morfologii» 17-19 maya 2011 g. S-Pb.: S-PbGMA, 2011.- S. 11-12. In Russian
5. Burnstock G, Vaughn B, Robson SC. Purinergic signaling in the liver in health and disease. *Purinergic Signal.* 2014;10(1):51-70. DOI: 10.1007/s11302-013-9398-8
6. Singh R. Autophagy and regulation of lipid metabolism. *Results and Probl. Cell Differ.* 2010;52:35-46. DOI: 10.1007/978-3-642-14426-4_4
7. Verin VK, Gamzatov HA, Safronova GM. Adaptacionno-kompensatornye reaktsii tkanej pecheni zhivotnykh v dinamike razvitiya eksperimental'nogo peritonita. *Morfologiya.* 2005;2:63. In Russian
8. Verin VK, Safronova GM. Reaktivnye izmeneniya tkanej pecheni v usloviyakh eksperimental'nogo peritonita/ V kn.: Mater. conf. «Aktual'nye voprosy sovremennoj morfologii», 17-19 maya 2008 g. S-Pb.: S-PbGMA, 2008.- S. 180-183. In Russian

Автор заявляет об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

The author declares that she did not have any conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Сафронова Галина Михайловна, ассистент кафедры морфологии человека, Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия;
e-mail: safronova_73@bk.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Galina M. Safronova, Assistant of the Department of Human Morphology of the Mechnikov North-Western State Medical University, Saint-Petersburg, Russia;
e-mail: safronova_73@bk.ru