

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕЖДОЛЬКОВЫХ АРТЕРИЙ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ

Лебедева Е.И.

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии, Витебский государственный медицинский университет,
lebedeva.ya-elenale2013@yandex.by

Abstract

MORPHOMETRIC PARAMETERS OF INTERLOBE ARTERIES IN RATS IN EXPERIMENTAL LIVER CIRROSIS

Lebedeva E.I.

Abstract. The research of this work was to study the morphometric parameters of interlobular arteries in rats with experimental liver cirrhosis. Liver cirrhosis in Wistar rats was induced with thioacetamide at a dose of 200 mg / kg of animal weight twice a week for 17 weeks. The studied rats were randomized into 9 groups of 12 animals each. The diameter of the lumen and the thickness of the media of the interlobular arteries in μm were measured on histological preparations using ImageScope Color, cellSens Standard image analysis software and an OLYMPUS BX51 microscope. The Kernogan index was calculated. The results were processed using Statistica 10.0 software from StatSoft, IBM SPSS Statistics 23.0, Microsoft Office Excel.

Based on the data obtained, it was found that in liver cirrhosis, changes in the lumen and thickness of the media of interlobular arteries do not have a definite pattern. Perhaps this is due to the compensatory-adaptive reactions of the organ and / or to the fact that the interlobular arteries of the rat liver during fibrogenesis are quite stable. An increase in the Kernogan index of interlobular arteries indicates a deterioration in vascular capacity at certain stages of the experiment (stages of fibrosis / cirrhosis), which must be taken into account when conducting pre-clinical studies.

Key words: Liver cirrhosis, rats, morphometric parameters of interlobular art.

Актуальность

Ежегодно во всем мире от заболеваний печени погибает около двух миллионов человек: из них один миллион – из-за осложнений цирроза и один миллион – из-за вирусных гепатитов и гепатоцеллюлярной карциномы [1, 2]. Помимо высокой заболеваемости и смертности, хронические заболевания печени приводят к существенным экономическим потерям, которые связаны с лечением и реабилитацией данной категории пациентов [3].

На протяжении многих лет фиброз печени является активной областью исследований и открытий, так как он один из ключевых патологических процессов в развитии многих хронических заболеваний органа. Анализ литературных источников позволяет утверждать, что скорость прогрессирования фиброза печени определяется рядом факторов: клеточных, молекулярно-генетических и эпигенетических. Между тем, методы лечения остаются недостаточно эффективными [4, 5, 6].

В условиях физиологической нормы архитектура печени и ее кровоснабжение тесно связаны между собой. Следовательно, при патологических условиях кровоснабжения печени имеет огромное значение в изменениях архитектоники органа.

По мнению ряда ученых, патологический ангиогенез и фиброгенез развиваются параллельно. Однако механизм ангиогенеза при фиброгенезе печени и взаимосвязь между двумя патологическими процессами остаются мало изученным [7, 8, 9].

В литературе имеются публикации о структурных преобразованиях сосудистого русла печени. В тоже время морфофункциональные изменения артерий сосудистого русла печени при фиброгенезе с трансформацией в цирроз к настоящему времени до конца не изучены [10].

Цель работы. Исследовать морфометрические показатели междольковых артерий крыс при экспериментальном циррозе печени.

Материал и методы. Протокол-дизайн эксперимента на животных был одобрен на заседании Комиссии по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными при

учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (протокол № 6 от 03.01.2019).

В эксперименте использовали 117 половозрелых крыс-самцов Wistar весом от 190-210 г. Животных рандомизировали на девять групп по 12 крыс в каждой. При этом одна группа была контрольной и восемь – экспериментальных групп. Цирроз печени вызывали путем длительной внутрижелудочной затравки животных тиаоацетамидом в дозе 200 мг/кг массы два раза в неделю. Для изучения морфометрических показателей междольковых артерий в динамике крыс выводили из эксперимента через 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 и 17 недель.

Гистологические препараты срезов печени окрашивали гематоксилином и эозином, а для выявления соединительной ткани – методом Маллори в автоматическом программируемом приборе для цитологических и гистологических методик.

Диаметр просвета междольковой артерии и толщину меди междольковой артерии в мкм измеряли с использованием компьютерных программ анализа изображений ImageScore Color, cellSens Standard и микроскопа OLYMPUS BX51 при увеличении $\times 200$ (не менее 3 полей зрения в каждом гистологическом срезе).

Вычисляли индекс Керногана (ИК), который представляет собой отношение толщины средней оболочки артерии к диаметру просвета и является важным показателем функционального состояния сосудов.

Результаты исследования обрабатывали с использованием программ Statistica 10.0 фирмы StatSoft, IBM SPSS Statistics 23.0, Microsoft Office Excel. В выборках по каждой неделе эксперимента определяли нормальность частотного распределения каждого признака по критерию Шапиро-Уилка.

О достоверности различий изучаемых в группах признаков с нормальным частотным распределением судили по t-критерию Стьюдента, выполняя дисперсионный анализ – по критерию Шеффе.

При отличии в выборке частотного распределения признака от нормального использовали U-критерий Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Изучение значимости влияния недели эксперимента (стадии фиброза) на исследуемые признаки проводили с помощью параметрического двухфакторного дисперсионного анализа или непараметрического дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса.

Результаты и обсуждение. Гистологическое исследование печени интактных крыс выявило, что морфологическая картина органа соответствовала критериям нормы.

Хорошо выражены балочное строение и рисунок из синусоидных капилляров.

В центре классической дольки четко визуализировались центральная вена, а по периферии – печеночные триады с междольковой артерией, междольковой веной и одним-двумя междольковыми желчными протоками (рисунок 1).

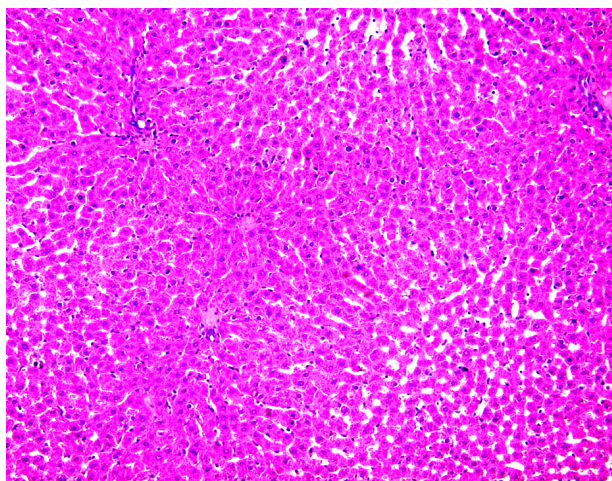


Рисунок 1. Печень крысы контрольной группы. Четко выраженное балочное строение. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$.

С третьей по девятую недели эксперимента в печени крыс отмечали плавное нарастание прогрессии патологических изменений: обширные поля вакуольной дистрофии гепатоцитов с ярко выраженными процессами плазмолизиса и кариолизиса, нарастание отека паренхимы, портальный и перипортальный фиброз с неполными и полными мостовидными порто-портальными соединительнотканными септами разной формы и толщины.

Процесс трансформации фиброза в цирроз происходил с девятой по тринадцатую недели (неполный цирроз).

К концу эксперимента (через семнадцать недель) в печени опытных животных наблюдался тотальный цирроз с формированием обширных полей из соединительной ткани, которые ограничивали ложные дольки, содержащие внутри себя вновь образованные венулы и мелкие вены (рисунок 2).

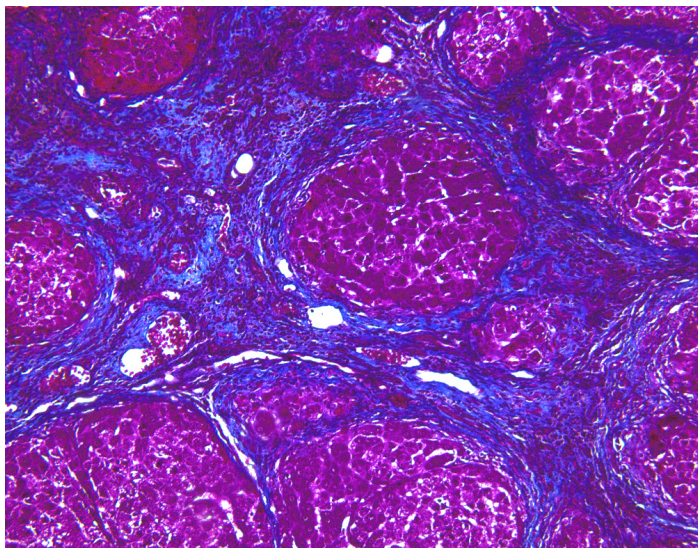


Рисунок 2. Печень опытной крысы через 17 недель эксперимента.

Широкие поля соединительной ткани, окружающие полностью сформированные ложные узелки. Окраска по методу Маллори. Ув.×200.

Через три недели эксперимента в междольковых артериях выявлялась агрегация тромбоцитов и сладж-феномен эритроцитов.

На последующих сроках сосуды были заполнены эритроцитарными массами и аморфным содержимым.

При морфометрическом исследовании толщины меди междольковых артерий установлено, что с третьей по тринадцатую недели эксперимента отмечалось постепенное статистически не значимое увеличение данного параметра (рисунок 3).

На пятнадцатой и семнадцатой неделях наблюдалось достоверное увеличение показателя ($p=0,039$), по сравнению с контролем.

Вероятно, это зависит от функционального состояния гладких миоцитов и/или процесса склеротизации сосудов.

Согласно литературным данным при фиброгенезе печени происходит нарушение структуры эндотелиальных клеток и в следствие этого уменьшение эндотелиоцитами синтеза оксида азота, который способствует релаксации гладких миоцитов средней оболочки сосудов и изменению диаметра просвета [9, 10].

В данной работе диаметр просвета междольковых артерий статистически значимо уменьшился на пятой неделе эксперимента ($p=0,001$, рисунок 3), на последующих сроках достоверных отличий выявлено не было.

Вероятно, при токсическом циррозе печени задействованы другие клетки и механизмы, препятствующие уменьшению диаметра просвета междольковых артерий.

Индекс функционального состояния Керногана в междольковых артериях увеличился

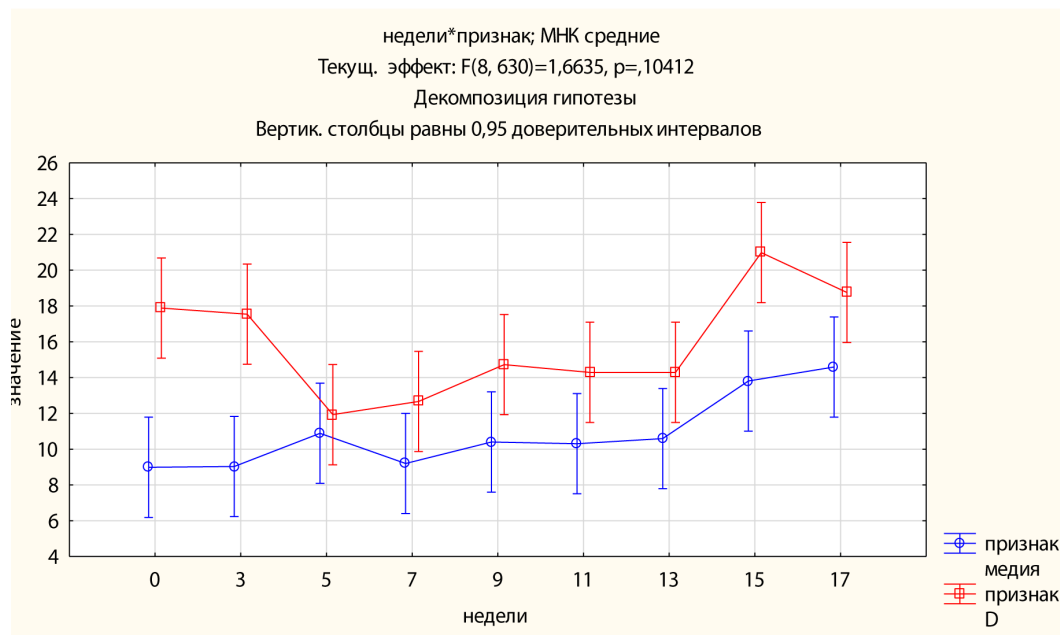


Рисунок 3. Динамика изменений просвета и толщины меди междольковых артерий

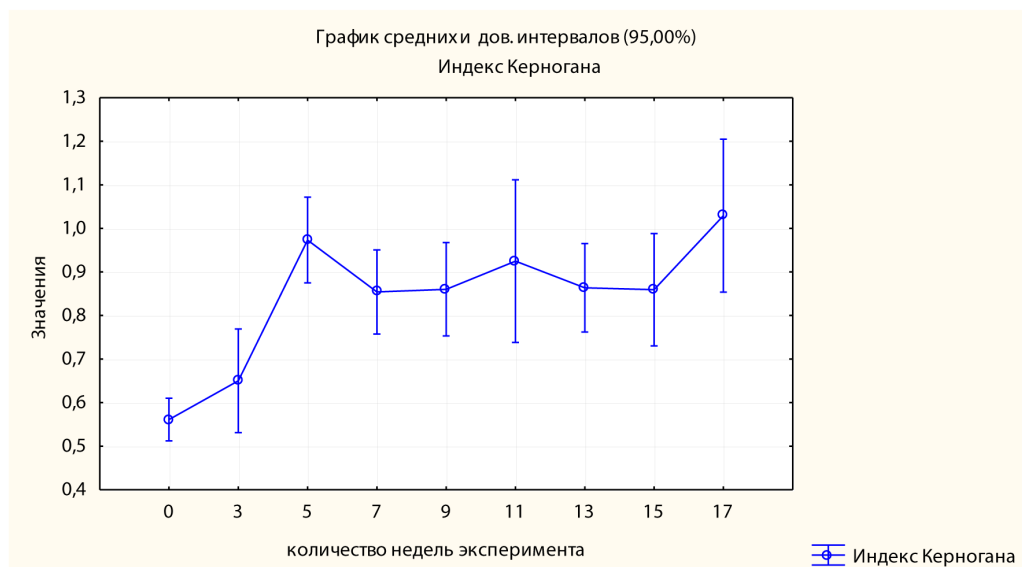


Рисунок 4. Динамика изменений индекса Керногана междольковых артерий

на пятой ($p=0,004$), одиннадцатой ($p=0,027$) и семнадцатой ($p=0,000$, рисунок 4) неделях эксперимента, по сравнению с контролем.

Это свидетельствует об ухудшении пропускной способности сосудов при мостовидном фиброзе печени (пятая неделя), трансформации фиброза в цирроз (одиннадцатая неделя), выраженной нодулярной перестройке паренхимы (семнадцатая неделя).

Выводы. На основании полученных данных установлено, что при циррозе печени изменения просвета и толщины меди междольковых артерий не имеют определенной закономерности. Возможно, это связано с компенсаторно-приспособительными реакциями печени и/или с тем, что междольковые артерии крыс при фиброгенезе являются достаточно стабильными. Увеличение индекса Керногана междольковых артерий свидетельствует об ухудшении пропускной способности сосудов на определенных сроках эксперимента (стадии фиброза и цирроза), что необходимо учитывать при проведении доклинических исследований.

Литература

1. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, Kamath PS. Burden of liver diseases in the world. *J. Hepatol.* 2019;70(1):151-171. doi: 10.1016/j.jhep.2018.09.014.
2. Mahmood A, Seetharaman R, Kshatriya P, Patel D, Srivastava AS. Stem cell transplant for advanced stage liver disorders: current scenario and future prospects. *Curr. Med. Chem.* 2019. doi:10.2174/0929867326666191004161802.
3. Roehlen N, Crouchet E, Baumert TF. Liver fibrosis: mechanistic concepts and therapeutic perspectives. *Cells.* 2020;9(4):875. doi: 10.3390/cells9040875.
4. Aydın MM, Akçal KC. Liver fibrosis. *Turk J. Gastroenterol.* 2018;29(1):14-21. doi: 10.5152/tjg.2018.17330.
5. Zhan Z, Chen , Duan Y, Li L, Mew K, Hu P, Ren H, Peng . Identification of key genes, pathways and potential therapeutic agents for liver fibrosis using an integrated bioinformatics analysis. *Peer J.* 2019;7:e6645. doi: 10.7717/peerj.6645.
6. Barcena-Varela M, Colyn L, Fernandez-Barrena MG. Epigenetic mechanisms in hepatic stellate cell activation during liver fibrosis and carcinogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(10).pii:E2507. doi: 10.3390/ijms20102507.
7. Elpek G O. Angiogenesis and liver fibrosis. *World J Hepatol.* 2015;7(3):377-91. doi: 10.4254/wjh.v7.i3.377.
8. Ramirez-Pedraza M, Fernandez M. Interplay between macrophages and angiogenesis: A double-edged sword in liver disease. *Front Immunol.* 2019;10:2882. doi: 10.3389/fimmu.2019.02882.
9. Wang L, Feng Y, Xie X, Wu H, Nan Su X, Qi J, Xin W, Gao L, Zhang Y, Shah V H, Zhu Q. Neuropilin-1 aggravates liver cirrhosis by promoting angiogenesis via VEGFR2-dependent PI3K/Akt pathway in hepatic sinusoidal endothelial cells. *BioMedicine.* 2019;43:525-536. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.04.050.
10. Lafoz E, Ruart M, Anton A, Oncins A, Hernandez-Gea V. The endothelium as a driver of liver fibrosis and regeneration. *Cells.* 2020;9(4):929. doi: 10.3390/cells9040929.

