

**И.Ю. Ищенко, С.В. Мичурина****ВОЗДЕЙСТВИЕ СОРБЕНТА «ЭНТЕРОСГЕЛЬ» НА ТКАНЕВОЙ МИКРОРАЙОН ПЕЧЕНИ И РЕГИОНАРНЫЕ ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ У КРЫС С ХРОНИЧЕСКИМ ТОКСИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ**

ГУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, Новосибирск

Комбинированное воздействие четыреххлористого углерода и этанола обуславливает смешанный характер патологических изменений в печени. В регионарных лимфатических узлах изменения являются результатом суммарного эффекта иммуносупрессивного действия четыреххлористого углерода и иммуностимулирующего влияния этанола. К концу восстановительного периода отмечается возрастание функциональной активности и интенсивности восстановительных процессов в паренхиматозных клетках печени. При этом напряженным остается состояние капилляро-соединительнотканного компартмента. Угнетение паракортекса, стимуляция В-зависимых зон и дренажной функции свидетельствуют о напряженном состоянии печеночных лимфатических узлов. Использование сорбента «Энтеросгель» в восстановительный период оказывает корригирующее воздействие на лимфатические узлы, что способствует скорейшему восстановлению печени. Однако регрессия фиброзного процесса в тканевом микрорайоне печени наблюдалась лишь у части экспериментальных животных, что свидетельствует о необходимости продолжения данного исследования.

**Ключевые слова:** гепатит, лимфатические узлы, сорбент

Загрязнение окружающей среды различными техногенными отходами, стремительное распространение вирусов гепатита приводит к росту числа хронических диффузных заболеваний печени различной этиологии. Одним из распространенных факторов поражения печени остается алкоголь. Синдром эндогенной интоксикации организма, обусловленный распадом клеток печеночной паренхимы и накоплением в околоклеточном пространстве токсических продуктов, приводит к нарушению клеточного метаболизма и ослаблению регуляторных и адаптационных функций органов и систем, очищающих внутреннюю среду организма, — печени и лимфатической системы. Поэтому при патологии печени различного генеза все более широкое распространение получают эфферентные методы, к которым относится и энтеросорбция. Идея использования энтеросорбции заключается в предупреждении попадания токсинов в лимфу и кровь, в фиксировании ауто- и экзотоксинов на поверхности сорбента с последующим их удалением из кишечника. Таким образом, принимая на себя отток токсических продуктов из тканей и снижая отравление организма высокотоксичной лимфой, сорбент тем самым прерывает формирование патогенетической схемы эндотоксикоза [2].

Очищение внутренней среды требует непрерывного многоуровневого контроля. В этой ситуации печень является первой барьерной системой,

осуществляющей детоксикацию на организменном уровне. При этом дренажно-детоксикационную функцию по отношению к печени выполняют регионарные лимфатические узлы.

Учитывая выше сказанное, целью данной работы явилось гистологическое и морфометрическое исследование (на светооптическом уровне) тканевого микрорайона печени и регионарных лимфатических узлов крыс с моделью экспериментального хронического токсического гепатита и при использовании сорбента «Энтеросгель» в восстановительный период.

Препарат «Энтеросгель» представляет собой полиорганосилоксановый кремнийорганический гелеобразный энтеросорбент. Он адсорбирует из кишечного содержимого и чрезмембранно из плазмы крови токсические вещества и продукты незавершенного метаболизма с молекулярным весом от 70 до 1000 дальтон [6].

**Методы**

В эксперименте были использованы половозрелые крысы-самцы Wistar весом 150-180 г. Животные были получены из вивария Института цитологии и генетики СО РАН. Модель экспериментального хронического токсического гепатита (ХТГ-28) создавали в течение 28 суток путем введения 25% масляного раствора четыреххлористого углерода через желудочный зонд в дозе 0,1 мл на 100 г веса тела два раза в неделю за 30 минут до кормления и 5% этанола в виде питья (вмес-

то воды) ежедневно ad libitum [5]. После прекращения токсического воздействия в течение 28 суток — восстановительный период — вводили энтеросгель (ЭГ) (ежедневно через зонд 1 г на 1 кг веса тела, за 1 час до приема корма) (группа ХТГ28+ЭГ28). Группой сравнения служили животные, не получавшие сорбент в восстановительный период (группа ХТГ28+28).

Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. №755). Животных декапитировали под эфирным наркозом. Для светооптического и морфометрического исследования забирали образцы печени и ее регионарные лимфатические узлы, располагающиеся в гепато-дуоденальной связке. Кусочки печени и лимфоузлы фиксировали в растворе Телесницкого. Гистологический материал проводили по общепринятой методике, окрашивали гематоксилином Майера и эозином, на соединительную ткань — по ван Гизону. Для морфометрического анализа тканевого микрорайона печени и структурно-функциональных зон лимфоузлов применен стереологический метод точечного счета с использованием морфометрической сетки [1]. Статистическую обработку данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Различия сравниваемых величин считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты

Морфологическое исследование тканевого микрорайона печени животных с моделью хронического токсического гепатита (ХТГ-28) выявило значительные нарушения, соответствующие комбинированному воздействию этанола и четыреххлористого углерода — изменение балочной структуры печеночных долек, выраженный полиморфизм паренхиматозных клеток, жировую и баллонную дистрофию гепатоцитов, кариорексис, кариолизис, некроз гепатоцитов, особенно в областях центроробулярных зон. У крыс с моделью ХТГ-28 обнаружены признаки нарушения кровотока и лимфообращения — исчезновение привычной сети синусоидов, расширение лимфатических щелей в областях порталных трактов, появление извилистости у центральных вен. Вокруг центральных вен отмечено разрастание фиброзной ткани. В областях порталных трактов мы обнаружили появление воспалительных инфильтратов с преимущественным содержанием лимфоцитов (Фото 1). Выше описанные нарушения не позволили провести морфометрический анализ, адекватно отражающий процессы, происходящие в тканевом микрорайоне печени при ХТГ-28. Для

повреждений характерна центроробулярная локализация. Отсутствие достоверных изменений в регионарных лимфатических узлах (Таблица 2), по-видимому, оказалось результатом суммарного эффекта иммуносупрессивного действия четыреххлористого углерода [7] и иммуностимулирующего влияния этанола [3, 8]. При этом усилилась дренажная функция лимфоузлов.

Через 28 суток после прекращения токсического воздействия (ХТГ28+28) в тканевом микрорайоне печени нами отмечено появление мощных соединительнотканых тяжей, формирующих ложные дольки; в областях порталных трактов выявлены инфильтраты с преимущественным содержанием лимфоцитов. Однако полиморфизм и дистрофия гепатоцитов практически не наблюдались (Фото 2). Паренхиматозные клетки были округлой формы, содержали слабо базофильную цитоплазму и ядра с четкими правильными контурами. В ядрах печеночных клеток обнаруживалось одно или два ядрышка; гетерохроматин располагался в виде глыбок около ядерной мембраны. Морфометрически установлено (Таблица 1) увеличение объемной плотности ядер и ядерно-цитоплазматического отношения в гепатоцитах, возрастание доли диплокариоцитов среди них, что свидетельствует об усилении функциональной активности и интенсивности восстановительных процессов в паренхиматозных клетках печени. По мнению В.П. Казначеева и М.Я. Субботина, развитие восстановительных процессов обычно сопровождается высоким функциональным напряжением капилляро-соединительнотканых структур [4]. Восстановление привычной сети синусоидов и увеличение почти в 2 раза их объемной

Таблица 1  
Результаты морфометрического анализа тканевого микрорайона печени животных ( $M \pm m$ )

Показатели	Контроль	Группа ХТГ28+28	Группа ХТГ28+ЭГ28
V цитоплазмы гепатоцитов	84,3±0,37	76,78±0,71*	75,09±0,47*
V ядер гепатоцитов	9,71±0,23	10,73±0,32*	11,18±0,38*
Ядерно-цитоплазматическое отношение	0,12±0,003	0,14±0,005*	0,15±0,006*
N гепатоцитов	30,08±0,8	24,1±0,59*	28,15±0,78**
N двуядерных гепатоцитов	0,84±0,16	3,25±0,2*	2,6±0,27*
V синусоидных клеток	1,78±0,13	4,42±0,28*	4,47±0,26*
N синусоидных клеток	7,32±0,42	15,15±0,73*	15,05±0,65*
V синусоидов	4,21±0,26	8,07±0,43*	9,27±0,36***

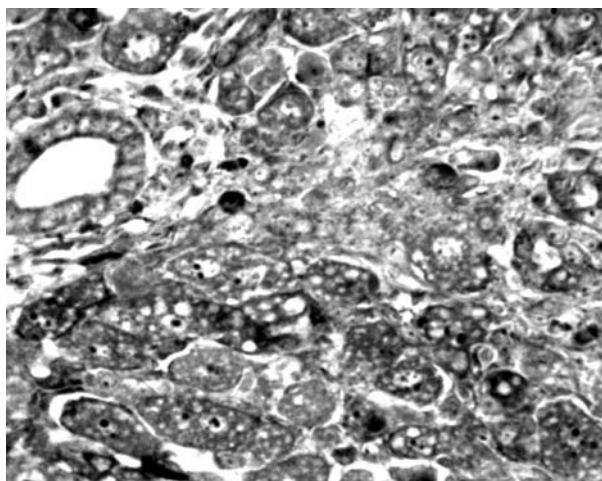
Примечание: объемные плотности — V, %; численные плотности — N, количество клеток на единицу площади; различия достоверны ( $p < 0,05$ ): \* — с контролем, \*\* — с группой ХТГ28+28.

плотности, возрастание численной и объемной плотности синусоидных клеток у животных группы ХТГ28+28 по сравнению с контролем, по-видимому, отражает напряженное состояние капилляро-соединительнотканного компартмента тканевого микрорайона печени.

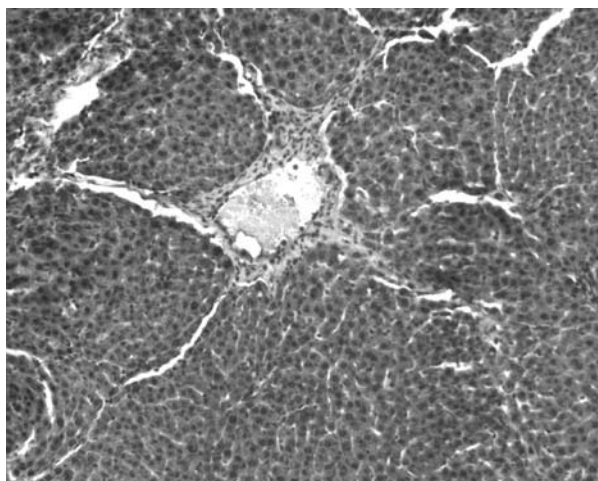
В регионарных лимфатических узлах печени мы наблюдали дальнейшее истощение Т-зависимой зоны и развитие В-зависимых зон (Таблица 2). В печеночных лимфоузлах у крыс группы ХТГ28+28 объемная плотность коркового вещества и паракортекса в нем (Т-зависимая зона)

оказались достоверно сниженными по сравнению с контролем. Объемные плотности лимфоидных узелков, герминативных центров и мозговых тяжей (В-зависимые зоны) оказались увеличенными. В мозговом веществе возросла объемная плотность синусов. Таким образом, структурные перестройки в лимфоузлах свидетельствуют о глубоких изменениях условий осуществления иммунных реакций по клеточному и гуморальному типу.

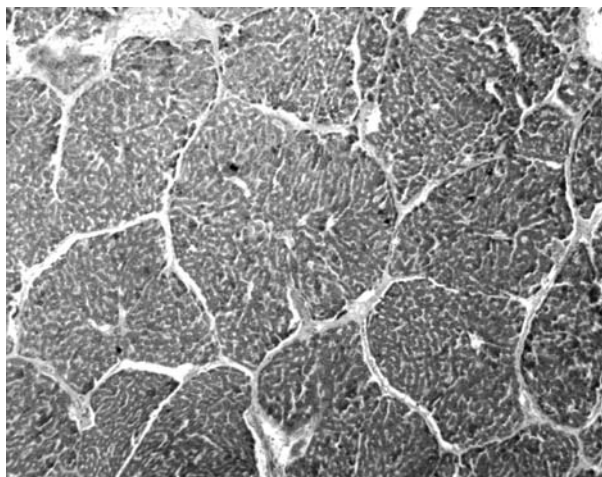
Морфологическое исследование тканевого микрорайона печени у крыс, получавших в вос-



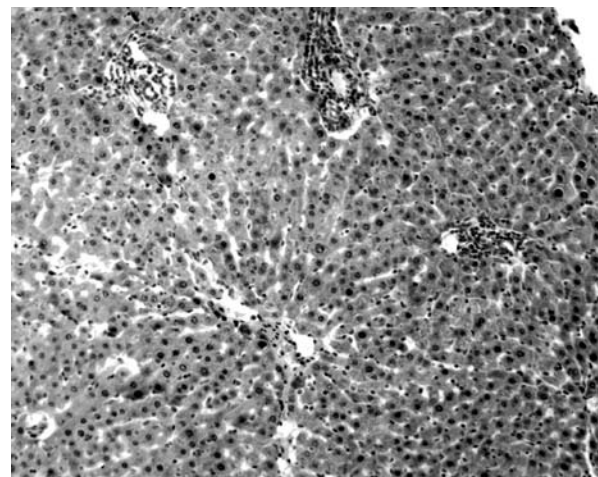
**Фото 1. Тканевой микрорайон печени крыс с ХТГ-28: жировая и баллонная дистрофия гепатоцитов; некроз паренхиматозных клеток; преимущественные повреждения печеночной паренхимы в областях около центральных вен. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив 20, окуляр 10.**



**Фото 3. Тканевой микрорайон печени крыс с ХТГ28+ЭГ28. Соединительнотканые прослойки, формирующие ложные дольки в паренхиме печени. Отсутствие полиморфизма паренхиматозных клеток, дистрофии гепатоцитов и картин некрозов. Окраска по ван Гизону. Объектив 10, окуляр 10.**



**Фото 2. Тканевой микрорайон печени крыс с ХТГ28+28. Мощные соединительнотканые прослойки формируют ложные дольки в паренхиме печени. Отсутствие полиморфизма паренхиматозных клеток, дистрофии гепатоцитов и выраженных картин некрозов. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив 4, окуляр 10.**



**Рисунок 4. Отсутствие соединительнотканых прослоек в печени некоторых животных из группы ХТГ28+ЭГ28. Формирование привычной сети синусоидов. Отсутствие полиморфизма паренхиматозных клеток, дистрофии гепатоцитов и картин некрозов. Клеточная инфильтрация с преобладанием лимфоцитов вокруг порталных трактов. Окраска гематоксилином и эозином. Объектив 10, окуляр 10.**

Таблица 2

**Объемные плотности структурно-функциональных зон регионарных лимфатических узлов печени животных ( $M \pm m$ )**

Показатели	Контроль	Группа ХТГ28	Группа ХТГ28+28	Группа ХТГ28+ЭГ28
Корково-мозговой индекс	2,65±0,57	2,8±1,56	0,91±0,11	1,52±0,23
V краевого синуса	2,83±0,41	4,3±1,54	3,41±0,84	3,0±0,8
V коры	71,04±4,52	62,35±13,19	46,52±3,92*	58,99±3,36
V паракортекса	53,95±3,3	45,2±6,96	26,67±2,8*	43,04±2,81*.*.*
V лимфоидных узелков	10,61±2,08	16,14±4,84	16,37±3,01	12,95±1,66
V герминативных центров	2,15±0,34	1,57±0,11	3,34±0,97	2,64±0,41**
V мозгового вещества	28,96±4,52	37,65±13,19	51,11±1,94*	41,01±3,36***
V мозговых тяжей	20,85±2,89	23,61±8,17	34,82±3,28*	28,31±1,92
V мозговых синусов	8,11±2,36	14,04±5,21	18,73±0,75	12,7±2,2***

Примечание: V — объемная плотность, %. Различия достоверны ( $p < 0,05$ ): \* — с контролем, \*\* — с группой ХТГ28, \*\*\* — с группой ХТГ28+28.

становительный период сорбент «Энтеросгель» (ХТГ28+ЭГ28), позволило выявить изменения, схожие с таковыми у животных в группе без лечения, — появление мощных соединительнотканых тяжей, формирующих ложные дольки; практически полное отсутствие дистрофии гепатоцитов (Фото 3); частичное восстановление сети синусоидов, при этом в них часто отмечался стаз эритроцитов; наличие в областях портальных трактов инфильтратов с преимущественным содержанием лимфоцитов. Однако у части животных этой группы отмечено отсутствие соединительнотканых прослоек в паренхиме печени.

Морфометрически обнаружено (Таблица 1) увеличение объемной плотности ядер гепатоцитов и ядерно-цитоплазматического отношения, рост численной плотности паренхиматозных клеток и диплокариоцитов среди них по сравнению с контролем, что свидетельствует об усилении функциональной активности и интенсивности восстановительных процессов в паренхиматозных клетках печени. При этом численная плотность всех гепатоцитов в группе с энтеросгелем превысила группу без лечения и достигла уровня интактных животных. Как и в группе ХТГ28+28, оставалось напряженным состояние капилляро-соединительнотканного компартмента — была увеличена объемная и численная плотность синусоидных клеток по сравнению с контролем, еще более высокой стала объемная плотность синусоидов.

Таким образом, использование сорбента «Энтеросгель» в восстановительный период имело протективный эффект, что проявилось в восстановлении численной плотности гепатоцитов в тканевом микрорайоне печени до контрольного уровня, а у части животных — еще и в регрессии фиброзного процесса.

Исследование регионарных лимфатических узлов печени (Таблица 2) выявило лимфокорригирующее действие энтеросгеля. Использование данного сорбента стимулировало рост объемной

плотности коркового вещества и, в частности, паракортекса (Т-зависимой зоны) по сравнению с группой ХТГ28+28, вызывало значительную тенденцию к уменьшению объемной плотности лимфоидных узелков, герминативных центров и мозговых тяжей (В-зависимых зон), восстанавливало объемную плотность мозговых синусов.

#### Заключение

Комбинированное воздействие четыреххлористого углерода и этанола приводит к развитию хронического токсического гепатита с проявлениями жировой и баллонной дистрофии гепатоцитов, некрозом печеночных клеток, нарушением крово- и лимфообращения, активацией фиброгенеза вокруг центральных вен, клеточной инфильтрацией с преимущественным содержанием лимфоцитов. При этом в регионарных лимфатических узлах, обеспечивающих лимфодетоксикацию самого органа, достоверных изменений не происходит. По-видимому, этот факт можно объяснить результатом суммарного эффекта иммуносупрессивного действия четыреххлористого углерода и иммуностимулирующего влияния этанола.

К концу восстановительного периода, после прекращения токсического воздействия отмечается усиление функциональной активности и интенсивности восстановительных процессов в паренхиматозных клетках печени. При этом напряженным остается состояние капилляро-соединительнотканного компартмента. Структурные перестройки в лимфоузлах свидетельствуют о глубоких изменениях условий осуществления иммунных реакций по клеточному и гуморальному типу.

Использование кремнийорганического сорбента «Энтеросгель» после прекращения интоксикации оказывает корригирующее действие на регионарные лимфатические узлы печени, практически приводя соотношение структурно-функциональных зон к контрольному уровню. Сорбционный материал, принимая на себя отток

токсических продуктов из тканей и снижая отравление организма высокотоксичной лимфой, играет роль лимфопротезирующего механизма [2]. Энтеросгель позволяет сформировать условия для нормализации микроанатомической организации печеночных лимфоузлов, что, в свою очередь, должно способствовать скорейшему восстановлению дренируемого органа — печени. Последнее подтверждается повышением функциональной активности паренхиматозных клеток печени, усилением регенераторной способности органа и регрессией фиброзного процесса в нем. Однако регрессия фиброзного процесса в тканевом микрорайоне печени наблюдалась лишь у части экспериментальных животных, что свидетельствует о необходимости продолжения данного исследования.

#### **SORBENT «ENTEROSGEL» INFLUENCE ON LIVER TISSUE MICROREGION AND ON REGIONAL LYMPH NODES IN RATS WITH CHRONIC TOXIC HEPATITIS**

I.Yu. Ischenko, S.V. Michurina

Combined carbon tetrachloride and ethanol action causes a mixed character of liver pathological changes. Changes in the regional lymph nodes are the result of total effect of immunosuppressional CCl<sub>4</sub> action and immunostimulational C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH influence. There is growth of functional activity and reconstruction processes intensity in liver parenchyma cells at the end of reconstruction period. The state of capillary-connective tissue compartment remains in strain. Paracortex suppression, B-dependent areas stimulation and drainage function strengthening are evidence of the strain state of hepatic lymph nodes. Application of the sorbent «Enterosgel» in reconstruction period exercises correctional influence on

the regional lymph liver nodes that is greatly conducive to more quickly rehabilitation of this organ. However, fibrosis process regression in the liver tissue microregion takes place only in the part of experimental animals that testifies to necessity to continue this investigation.

#### **Литература**

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. — М., 1990. — 384 с.
2. Бородин Ю.И. 50 лет в лимфологии / Ю.И. Бородин // Проблемы лимфологии и интерстициального массопереноса: Труды ГУ НИИКиЭЛ СО РАМН. — 2004. — Т. 10. — Ч. 1. — С. 5-9.
3. Быкова А.А. Иммунные и аутоиммунные эффекты этанола / А.А. Быкова, Н.С. Сединина // Эксперим. и клин. фармакол. — 2002. — Т. 65. — № 6. — С. 60-63.
4. Казначеев В.П., Субботин М.Я. Этюды к теории общей патологии. — Новосибирск, 1971.
5. Скакун Н.П. Эффективность витогепата и сирепара в сочетании с карсилом при хроническом поражении печени / Н.П. Скакун, И.П. Мосейчук, Я.Я. Гиль // Эксперим. и клин. фармакол. — 1992. — Т. 55. — № 1. — С. 61-63.
6. Шевченко Ю.Н. Препараты сорбционно-детоксикационного действия на основе пористых кремнийорганических матриц / Ю.Н. Шевченко, И.Б. Слинякова, О.А. Беляева // Энтеросгель, энтеросорбционные технологии в медицине. Сб. науч. работ. конференции (2 июня 1999 г., Новосибирск). — Новосибирск, 1999. — С. 3-13.
7. Carbon tetrachloride is immunosuppressive and decreases host resistance to *Listeria monocytogenes* and *Streptococcus pneumoniae* in female B6C3F<sub>1</sub> mice / T.L. Guo, J.A. McCay, R.D. Brown et al. // Toxicology. — 2000. — Vol. 154. — № 1-3. — P. 85-101.
8. Nagy L.E. Molecular aspects of alcohol metabolism: transcription factors involved in early ethanol-induced liver injury / L.E. Nagy // Annu. Rev. Nutr. — 2004. — № 24. — P. 55-78.