ток при экспериментальном канцерогенезе // Тез. докл. VII съезда онкологов УССР.— Киев, 1985.— С. 320—322.
6. *Никольский И. С., Мазуренко В. А., Гриневич Ю. А. и др.* Мастоцитаффинные лимфоциты как индикаторные клетки некоторых форм гемобластозов // Эксперим. онкология.— 1986.— 8, № 1.— С. 25—26.
7. *Шабалова Н. Н., Самовик С. А.* Нейромедиаторы и тучные клетки в регуляции функции тимоцитов // Нейрогуморальная регуляция гомеостаза: Тез. докл. IV Всесоюз. симп. «Регуляция иммунного гомеостаза».— Л., 1986.— С. 124.
8. *Bach J. F.* Evaluation of T-cells and Thymic Serum Factors in Man using the rosette technique // Transplant. Rev.— 1973.— 16.— P. 196—217.
9. *Pokorna Z., Viklicki V. A.* Study on the conditions of antibody-induced redistribution of membrane antigens in lymphoid cells // Folia biol. (CSSR.) — 1978.— 25, N 6.— P. 407—408.

Киев. науч.-исслед. ин-т онкологии
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил
в редакцию 28.07.89

УДК 612.017+611.018+612.1+612.3

С. И. Павлович, И. Н. Алексеева

Изменение гистоструктуры функциональной активности иммунокомпетентных органов в условиях нарушенного воротного кровоснабжения печени

Нарушение воротного кровоснабжения печени, встречающееся при ряде заболеваний (флебосклерозе, опухолях, остром панкреатите, острой непроходимости кишечника и других болезнях, сопровождающихся тромбозом воротной вены), а также при наложении порто-кавального анастомоза, приводит к изменению структуры и функций печени [1—5]. Возникшая патология печени и застой лимфы могут привести к изменению общей иммунологической реактивности организма. Данных по этому вопросу в литературе крайне мало. В связи с этим целью нашей работы было изучение гистоструктуры печени и иммунокомпетентных органов (тимуса, селезенки, брыжеечных лимфоузлов), а также содержания плюрипотентных стволовых кроветворных клеток (ПСКК) в костном мозгу и антителообразующих клеток (АОК) в селезенке у мышей в условиях дозированного сужения воротной вены печени.

Методика

Исследования проведены на 357 мышах-самках линии СВА массой 18—20 г. Сужение воротной вены печени проводили под нембуталовым наркозом перевязкой вены с использованием мандренов различного диаметра и последующим их удалением. В первой серии опытов воротная вена была сужена в среднем на 45 %, во второй серии — на 58 %. В качестве контроля использовали интактных животных, а также ложнооперированных, которым производили лапаротомию и подведение лигатуры под воротную вену. В различные сроки после операции (от 5 до 27 сут) животных забивали. Печень, тимус, селезенку и брыжеечные лимфоузлы фиксировали 10 %-ным нейтральным формалином. Исследуемый материал обрабатывали общегистологическими методами (окраска гематоксилином и эозином, по Ван Гизон), а также гистохимическими методами с целью выявления РНК, ДНК (по Браше, Фельгену), гликозоаминогликанов (по Хейлу и Мак-Манусу), гликогена (по Шабадашу), липидов (по Гольдману). Проводили следующие гистоэнзимологические исследования: определение сукцинатдегидрогеназы (СДГ) по Нахласу, Валькеру и Зелигману, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) по Гессу, Скарпелли и Пирсу, кислой фосфатазы (КФ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) по Гомори. Определяли также количество ПСКК в костном мозгу методом экзогенного колониеобразования [8] и содержание АОК в селезенке [7]. Результаты обрабатывали статистически с применением критерия t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Морфогистохимическая картина печени после частичного сужения воротной вены зависела от сроков исследования после операции. На 5—7-е сутки не отмечалось существенных различий при частичной перевязке воротной вены и у ложнооперированных животных. Расширение и полнокровие сосудов, лимфогистиоцитарная инфильтрация, усиленные регенераторные процессы являлись отражением реакции организма на послеоперационную травму. Различия морфологических изменений стали отчетливо проявляться, начиная с 11—12-х суток исследования. В опытах с ложнооперированными животными на 11—12-е сутки в большей части препаратов значительных отклонений от гистоструктуры печени контрольных животных не наблюдалось, а к 16—17-м суткам гистоструктура печени у ложнооперированных животных полностью нормализовалась.

При дозированном сужении воротной вены на 45 % (1-я серия опытов) на 11—12-е сутки в печени наблюдалось неравномерное кровенаполнение, разрыхление стенок сосудов и набухание эндотелиоцитов как в перипортальных зонах, так и в периферических зонах печеночных ацинусов. Местами в препаратах обнаруживалась зернистая и вакуольная дистрофия, отдельные гепатоциты были в состоянии некробиоза. Наиболее выраженные морфологические изменения в печени отмечались на 16—17-е сутки. Микроциркуляторные нарушения портальных зон (рис. 1, *а*) сопровождались дистрофическими изменениями эндотелиоцитов. Локусы некротически измененных гепатоцитов располагались в основном в периферических зонах печеночных ацинусов. Звездчатые ретикулоэндотелиоциты встречались реже, чем на 11—12-е сутки. Регенераторные процессы в печени были снижены. На 25—27-е сутки гистологические и гистохимические показатели в печени имели тенденцию к нормализации, однако не достигали показателей, регистрируемых у ложнооперированных животных.

При сужении воротной вены печени на 58 % (2-я серия опытов) гистоструктурные изменения на 11—12-е сутки были более выражены, чем в аналогичные сроки 1-й серии. Отмечались дисциркуляторные расстройства в виде венозного полнокровия с неравномерным расширением синусов и вокругсинусоидальных пространств. На фоне паренхиматозной дистрофии и значительного снижения содержания гликогена встречались гепатоциты с вакуолизированной цитоплазмой, признаками жирового перерождения и некробиозом (см. рис. 1, *б*). Регенераторные процессы были сниженными. К 16—17-м суткам выраженность морфологических проявлений нарастала. Дисциркуляторные расстройства наблюдались во всех звеньях отводящей системы и характеризовались полнокровием и расширением центральных и собирательных вен, очаговой десквамацией эндотелиоцитов. В центральных отделах некоторых долей отмечались дискомплексация печеночных балок, мелкие очаги некроза, значительные лимфоцитарные инфильтраты. Число звездчатых ретикулоэндотелиоцитов было увеличенным. Показатели регенераторных процессов были наиболее низкими среди всех серий и сроков исследований. На 25—27-е сутки изменения гистоструктуры печени были менее выраженными по сравнению с максимальными нарушениями, которые регистрировались на 16—17-е сутки. Нарастали регенеративные процессы.

Динамика морфологических изменений печени после сужения воротной вены (постепенное нарастание дистрофических и деструктивных изменений до определенного максимума с последующим восстановлением гистоструктуры органа) обусловлена первоначальным нарушением кровоснабжения печени с дальнейшим компенсаторным расширением печеночной артерии, открытием предшествующих и прокладыванием новых коллатералей в портальной системе [6], в связи с чем в той или иной мере нормализуется структура и функции печени.

В условиях дозированного сужения воротной вены на фоне гистоструктурных изменений в печени отмечены нарушения и в иммунокомпетентных органах. Так, при сужении воротной вены на 45 % на 11—12-е сутки в тимусе отмечалось изменение клеточного состава с увеличением числа малодифференцированных тимоцитов и появлением плазмоцитов. При этом повышалось содержание пиронинофильных и гипертрофированных ШИК-положительных клеток. Активность КФ и ЛДГ была увеличена при сравнении с активностью этих ферментов у ложнооперированных животных. В селезенке и лимфоузлах наблюдались изменения в тимуснезависимой зоне с образованием лимфобластов и в ти-

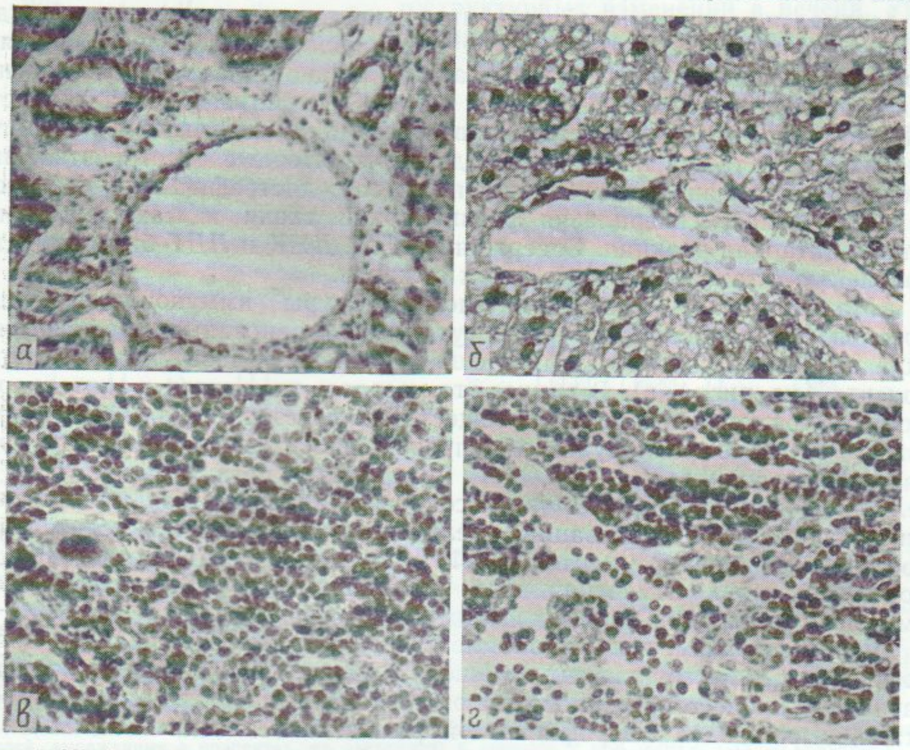


Рис. 1. Морфологические изменения в печени и иммунокомпетентных органах при дозированном сужении воротной вены печени:

а — отек ткани и выраженные периваскулярные отеки в портальной зоне печени на 17-е сутки после сужения воротной вены на 45 % (окраска гемотоксилином и эозином; об. 20, ок. 10); *б* — дисциркуляторные расстройства на фоне крупнокапельной жировой дистрофии гепатоцитов в периферической зоне печеночного ацинуса на 17-е сутки после сужения воротной вены на 58% (окраска гематоксилином и эозином; об. 40, ок. 15); *в* — дистрофические и деструктивные изменения в ткани тимуса с увеличением относительного числа эпителиоретикулоцитов на 17-е сутки после сужения воротной вены печени на 58 % (окраска гематоксилином и эозином; об. 40, ок. 10); *г* — отек и делимфатизация селезенки на 17-е сутки после сужения воротной вены печени на 58 % (окраска гекатоксилином и эозином; об. 40, ок. 10).

муснезависимой зоне с пролиферацией лимфоцитов, увеличением числа, макрофагоцитов и плазмоцитов. Гистохимическое изучение показало очаговое увеличение содержания ЛДГ в Т-зависимых зонах и активности КФ. Наряду с этим четко обозначались очаги снижения активности СДГ и ЩФ. На 16—17-е сутки морфологические изменения в иммунокомпетентных органах, как и в печени, были наиболее выраженными. В тимусе отмечалось усиление митотической активности во внешней зоне коры, что подтверждалось повышенным содержанием ДНК и РНК, а также обнаруживалось увеличение числа малых тимоцитов, бластных форм и плазмоцитов. В периферических органах иммунитета наблюдались гиперплазия ретикулярной ткани, выраженная макрофагальная реакция и плазматизация тимуснезависимых зон.

Активация пролиферативных процессов выражалась повышением содержания РНК и ДНК, увеличением активности ЛДГ и КФ. Описанные морфологические изменения в органах иммунитета сохранялись до 20-х суток исследования, к 25—27-суткам шел постепенный спад интенсивности морфологических изменений во всех изучаемых органах.

При сужении воротной вены печени на 58 % нарушения гистоструктуры иммунокомпетентных органов носили более выраженный характер. На 11—12-е сутки в тимусе клеточное соотношение изменялось в сторону уменьшения числа малых тимоцитов и увеличения — малодифференцированных. Усиливались дистрофические изменения лимфоцитов (появлялись клетки с перераспределенным ядерным хроматином, плохо окрашенной цитоплазмой). Относительное число эпителиоретикулоцитов возрастало. В мозговом веществе наблюдалось увеличение числа тимических телец с ШИК-положительными клетками внутри них. В дольках и междольковой соединительной ткани кровеносные сосуды были расширены, в отдельных отмечались явления стаза, периваскулярно — накопление кислых гликозоаминогликанов. Изменялась активность гидролитических ферментов: наряду со снижением активности ЩФ активность КФ существенно возрастала. В селезенке и лимфатических узлах также наблюдались дисциркуляторные расстройства, выраженная активация тимуснезависимых зон, дистрофические процессы в обеих зонах, гиперплазия ретикулярной ткани и макрофагально-плазмоцитарная реакция. Содержание РНК, ДНК и ЛДГ было ниже по сравнению с таковым при 45 %-ном сужении,

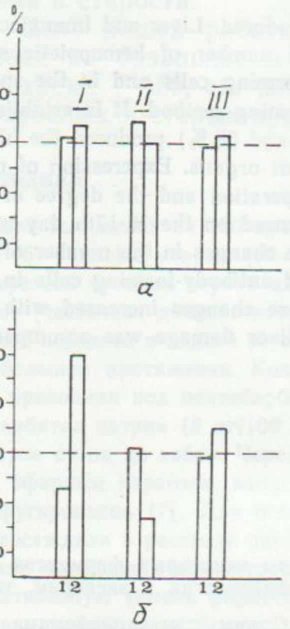
Максимальные изменения гистоструктуры иммунокомпетентных органов отмечались на 16—17-е сутки. Вышеописанные морфологические изменения сопровождались еще и усилением деструктивного компонента (см. рис. 1, в). В тимусе это касалось тимоцитов и эпителиоретикулоцитов коры и мозгового вещества, в селезенке и лимфатических узлах — центров фолликулов, и сопровождалось выраженной макрофагальной реакцией (см. рис. 1, *г*). Гиперплазия ретикулярной ткани в селезенке и лимфатических узлах сопровождалась гистоэнзиматическими признаками ее активации: увеличением активности окислительно-восстановительных ферментов и КФ. К 25—27-м суткам интенсивность морфологических изменений шла на убыль, что соответствовало и уменьшению морфологических изменений в печени.

Таким образом, в иммунокомпетентных органах при наличии дистрофических и деструктивных изменений отмечалось развитие пролиферативных процессов, сопровождающихся гиперплазией ретикулярной ткани, выраженной макрофагальной реакцией и плазматизацией лимфоидных органов, свидетельствующих об интенсификации иммунных реакций, что параллельно сопровождалось активацией основных обменных реакций и изменением активности гидролитических ферментов.

Сужение воротной вены печени приводило также к изменению содержания общего числа костномозговых клеток в бедренной кости и числа ПСКК в ней (рис. 2). При этом меньшее сужение воротной вены (на 45 % — 1-я серия) мало меняло картину изменений в костном мозгу, вызванных ложной операцией. Значительно более выраженными эти изменения были при сужении воротной вены на 58 % (2-я серия опытов). На 11-е сутки число костномозговых клеток снизилось на 33 %. Содержание колониеобразующих единиц в селезенке ($КОЕ_с$), соответствующее числу ПСКК в костном мозгу, возросло на 78 % (сужение вены — $32{,}0\pm7{,}2$; ложная операция — $18{,}0\pm6{,}0$; $P<0{,}05$). На 16-е сутки (в период максимальных изменений гистоструктуры печени) изменения в костном мозге носили противоположный характер. Число клеток в бедренной кости увеличивалось на 26 % ($P<0{,}05$), содержание $КОЕ_с$ снизилось на 55 % ($P<0{,}005$). На 26-е сутки после перевязки воротной вены, когда повреждения печени уменьшилось, изменения в костном мозгу имели такую же направленность, как и в более ранние сроки (11-е сутки), но выражены были меньше.

Нарушение воротного кровоснабжения печени отразилось и на иммунном ответе организма на эритроциты барана по результатам определения содержания АОК в селезенке, а также на ее массе и на общем числе клеток в ней (рис. 3). На 11-е сутки после сужения воротной вены на 45 % существенно увеличилась масса селезенки (сужение вены — 222 мг$\pm$31 мг, ложная операция — 106 мг$\pm$9 мг; $P<0{,}05$). Наблюдалась тенденция к увеличению числа клеток в ней: сужение вены —

$(160\pm16)\cdot10^6$, ложная операция — $(104\pm8)\cdot10^6$; $P>0{,}05$. Значительно увеличивалось содержание АОК в расчете на селезенку (сужение вены — $47{,}755\pm12{,}874$, ложная операция — $19{,}137\pm5{,}446$; $P<0{,}05$), наблюдалась тенденция к увеличению числа АОК в расчете на $1\cdot10^6$ клеток селезенки (сужение вены — 285 ± 125, ложная операция — 252 ± 24; $P>0{,}05$). Содержание АОК в селезенке оставалось повышенным и на 16-е сутки — период наиболее выраженных гистоструктурных изменений в печени. Увеличенными были масса селезенки и число клеток в ней. На 26-е сутки, как на



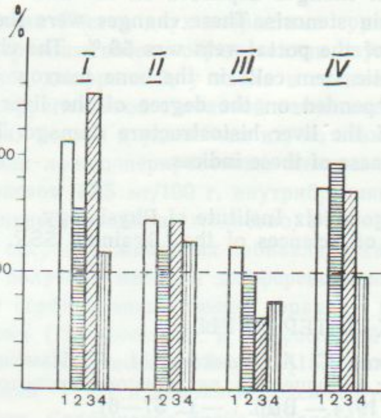


Рис. 2. Изменение общего числа костномозговых клеток (*1*) в бедренной кости и КОЕс (*2*) у мышей после сужения воротной вены печени на 45 % (*а*) и на 58 % (*б*):
I — 11 сут, *II* — 16 сут, *III* — 26 сут после сужения. По вертикали — значения показателей, выраженные в процентах по отношению к ложнооперированным животным.

Рис. 3. Изменение массы селезенки (*1*), общего количества клеток (*2*) в ней и АОК в расчете на селезенку (*3*) и АОК в расчете на $1\cdot10^6$ клеток селезенки (*4*) после сужения воротной вены на 45 %:
I — 11сут., *II* — 16 сут., *III* — 20 сут., *IV* — 22 сут после сужения. По вертикали — значения показателей, выраженные в процентах, по отношению к таковым у ложнооперированных животных.

11-е, при слабо выраженных гистоструктурных изменениях в печени отмечалось увеличение массы селезенки, общего числа клеток в ней и содержания АОК.

Таким образом, изменение содержания АОК в селезенке, так же как и изменения содержания ПСКК в костном мозгу, находится в зависимости от морфофункциональных изменений печени. При меньшем повреждении печени отмечалось увеличение содержания ПСКК и АОК, при большем — уменьшение. При принципиально сходном характере изменений в двух крайних звеньях иммунной реакции отмечаются и определенные различия. Существенные изменения содержания АОК в селезенке обнаруживаются при меньшем повреждении печени (при сужении воротной вены уже на 45 % ее диаметра), когда содержание ПСКК в костном мозгу еще не меняется. Различаются и сроки смены активации иммунной системы на ее угнетение. В костном мозгу эта инверсия наступает раньше, чем в селезенке. Изменение содержания ПСКК в костном мозгу при нарушении функций печени лишь в небольшой мере определяет изменение имунного ответа в целом. К изменениям в костном мозгу присоединяются нарушения в других иммунокомпетентных органах (тимусе, селезенке, брыжеечных лимфоузлах), определяющие характер изменения различных звеньев иммунного ответа и его конечного звена.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что повреждение печени при нарушении ее воротного кровоснабжения приводит к морфологическим и функциональным изменениям в иммунокомпетентных органах.

S. I. Pavlovich, I. N. Alekseyeva

CHANGES IN THE HISTOSTRUCTURE AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE IMMUNOCOMPETENT ORGANS UNDER CONDITIONS OF DAMAGED PORTAL BLOOD SUPPLY OF THE LIVER

In CBA mice calibrated stenosis of the portal vein was produced. Liver and immunocompetent organs were morphologically analyzed. The total number of hemopoietic stem cells in the bone marrow was estimated by the colony-forming cells and in the spleen after immunization with sheep red cells by the plaque forming method. It is established that stenosis of the portal vein (on the average by 45 % and 58 %) produced the histostructural changes in the liver and in the immunocompetent organs. Expression of morphological changes depended on the time elapsed after operation and the degree of the portal vein stenosis. These changes were the most pronounced on the 16-17th day when stenosis of the portal vein was 58 %. The character of the changes in the number of the hemopoietic stem cells in the bone marrow and in that of antibody-forming cells in the spleen depended on the degree of the liver damage. These changes increased with the degree of the liver histostructure damage. The maximal liver damage was accompanied by a decrease of these indices.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Боровков С. А., Волкова М. И.* Изменение активности некоторых ферментов при острых нарушениях печеночного кровотока // Патол. физиология и эксперим. терапия.— 1974.— Вып. 1.— С. 57—61.
2. *Клейда В., Асеев В.* Нарушение портального кровотока в экспериментальном моделировании патологии некоторых органов пищеварения // Актуальные проблемы лечения недостаточности почек : Тез. докл.— Тарту, 1986.— С. 53—54.
3. *Леонтьев А. Ф., Чистова Л. В., Марков Б. А. и др.* Диагностика редких форм блокады портального кровообращения у детей // VI Всероссийский съезд детских врачей : Краткие тезисы.— Горький, 1987.— С. 277—2787.
4. *Мухамеджанов И. А.* О реакции печени кроликов на выключение воротного или артериального кровообращения // Изв. АН, отд. биол. наук АН Тадж ССР.— 1970.— 1 (58).— С. 74—76.
5. *Салий М. Е., Юрченко И. И., Ультан Г. А.* Случай первичного склероза воротной вены // Врачеб. дело.— 1987.— № 7.— С. 27—28.
6. *Фишер А.* Физиология и экспериментальная патология печени.— Будапешт : Изд-во АН Венгрии, 1961.— 216 с.
7. *Jerne N. K., Nordin A. A.* Plaque formation in agar by single antibody — producing cells // Science.— 1963.— 140, N 2.— P. 405.
8. *Till J. E., Mc Culloch E. A.* A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bohe marrow cells // Rad. Res.— 1961.— 14.— P. 213—222.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР,
Киев

Материал поступил
в редакцию 02.04.90

УДК 612.351.110.12:612.67

Г. И. Парамонова

Влияние денервации печени на систему микросомального окисления взрослых и старых крыс

Для выяснения роли возрастных изменений активности ферментов микросомального окисления печени в развитии старения важным является изучение механизмов регуляции этой системы на уровне целостного организма. Одним из подходов к выявлению нервного контроля над детоксикацией служит изучение сдвигов активности ферментов микросомального окисления при денервации печени [2, 5]. Комплексом работ Фролькиса и соавт. [12] показано, что при старении нервный контроль