

## АННОТАЦИЯ

диссертационной работы Танабаевой Шынар Баймахановны на тему  
**«Морфофункциональные изменения печени на фоне портальной  
гипертензии и после ее коррекции (экспериментальное исследование)»**  
представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по  
специальности 8D10103 –«Медицина»

### **Актуальность темы исследования.**

Портальная гипертензия является серьезным осложнением цирроза, и ее последствия, включая асцит, варикозное расширение вен пищевода, печеночную энцефалопатию и гепаторенальный синдром, приводят к значительной заболеваемости и смертности [Turco L, et al., 2019]. Портальная гипертензия определяется как устойчивое повышение внутрипросветного давления в воротной вене и ее коллатералях со средним давлением более 12 мм рт. ст. Повышенный градиент портального давления может быть результатом увеличения портального кровотока, увеличения сосудистого сопротивления или сочетания того и другого [Bosch J, et al., 1992].

Этиология повышенного портального сопротивления обычно классифицируется в зависимости от анатомического расположения на препеченочные, внутripеченочные и постпеченочные причины [Bloom S, et al., 2015].

Лечение портальной гипертензии применяется в трех клинических сценариях: профилактика первого варикозного кровотечения (первичная профилактика), лечение эпизода острого кровотечения и профилактика варикозного кровотечения (вторичная профилактика) [de Franchis R, et al., 2004].

Портальное давление можно снизить с помощью сосудосуживающих средств, которые уменьшают приток портальной вены и вазодилататоров, которые снижают внутripеченочное сопротивление [Garcia-Pagan JC, et al., 1990].

Хотя фармакологическая терапия имеет ограниченную эффективность при портальной гипертензии, процедуры портосистемного шунтирования весьма эффективны в снижении портального давления. Выбор оптимального варианта портокавального шунтирования остается предметом не прекращающихся дискуссий, что связано со сложностью проблемы, в частности особенностями патогенеза и клинического течения портальной гипертензии [Третьяков АА, и др., 2016].

Процедуры шунтирования, хотя и не являются лечебными, обеспечивают более длительное и эффективное лечение, чем медикаментозная или эндоскопическая терапия, в предотвращении повторного варикозного кровотечения [Rosemurgy AS, et al., 2003].

Хирургические или радиологические шунтирующие вмешательства, которые направляют портальную кровь в системный кровоток, могут добиться еще большего снижения портального давления [de Franchis R, et al., 2004]. В

целях лечения портальной гипертензии было разработано большое количество хирургических методик (шунты и процедуры деваскуляризации), и многие публикации поддерживают или отвергают их применение [Mercado MA., et al., 2015].

Существует 2 типа оперативных шунтов: центральные (неселективные) и нецентральные (селективные) [Rosemurgy AS, et al., 2005]. Центральные шунты декомпрессируют портальную систему, снижая портальное давление и, таким образом, косвенно декомпрессируя варикозные узлы, направляя их портальный поток.

Общим для всех неселективных портосистемных шунтов является то, что они устраняют портальную перфузию печени. Это означает, что всасываемые в кишечнике мозговые токсины не могут быть выведены из организма. Как следствие, в проспективных рандомизированных исследованиях, сравнивающих селективные и неселективные шунты, наблюдалась повышенная частота послеоперационной энцефалопатии [Langer, B, et al., 1985].

Нецентральные шунты избирательно декомпрессируют варикозно расширенные вены желудка-пищевода, не влияя непосредственно на портальное давление, путем декомпрессии варикозно расширенных вен через короткие сосуды желудка или коронарную вену. Также, у селективных шунтов риск послеоперационной печеночной недостаточности ниже по сравнению с неселективными шунтами, поскольку портальная перфузия печени остается неизменной [Klempnaue J, et al., 2001].

Существуют потенциальные отдаленные осложнения, наиболее значимые из этих осложнений включают тромбоз шунта, повышенный хирургический риск при последующей трансплантации печени, развитие портосистемной энцефалопатии [Закарян НВ, и др., 2018].

Печеночная энцефалопатия - это особый вид дисфункции головного мозга, вызванный печеночной недостаточностью и/или портально-системным шунтированием [Amodio P., 2018]. Энцефалопатия является частой проблемой после традиционной операции по шунтированию у пациентов с циррозом печени, но встречается нечасто у пациентов без заболеваний паренхимы печени [Valayer J, et al., 1998]. Энцефалопатия после наложения шунтов может возникать из-за уменьшения гепатопетального кровотока, что приводит к функциональному нарушению органа и к увеличению поступления токсических веществ в системный кровоток через печень [Sachdev A, et al., 2003].

Хроническая портосистемная энцефалопатия, которая может развиваться после операции по шунтированию и может быть невосприимчивой к медикаментозному лечению, является разрушительной клинической проблемой, которая ухудшает жизнь и приводит к постоянному неврологическому дефициту [Uflacker R, et al., 1987].

В этой связи, тканевая инженерия показала перспективность выращивания тканей *in vitro* для замены дисфункциональных органов *in vivo*

[Griffith LG, et al., 2002]. Однако его применение для регенерации крупных функциональных органов достигло незначительного клинического успеха [Dimmeler S, et al., 2014]. Одна из основных причин заключается в том, что эти органы имеют обильную, хорошо организованную кровеносную сеть, которая слишком сложна для того, чтобы современные методы могли воспроизвести ее в инженерных тканях [Dorrello NV, et al., 2017].

Плохая васкуляризация стала критическим ограничением, объясняющим неудовлетворительную эффективность искусственных трансплантатов тканей в организме [Jain RK, et al., 2005].

В этой связи, по причине трудности выполнения трансплантации органов, “трансформация” вместо “пересадки” органа может послужить оптимальным решением. Данная трансформация может быть основана на реконструкции существующего органа в организме, чтобы развить функцию другого, дисфункционального.

Согласно результатам проведенного ранее исследования, исследователи в эксперименте превратили селезенку в орган, который функционирует как печень [Wang L, et al., 2020], однако в данном исследовании «функция» печени внедренная в селезенку выполнялась вне кровотока, что показывает некую не совершенность данной модели трансформации селезенки в печень.

Трансплантация изолированных гепатоцитов представляет интерес из-за ее потенциальной роли в лечении тяжелых заболеваний печени [Bumgardner GL, et al., 1988].

Селезенка считается наиболее привилегированным анатомическим участком для трансплантации гепатоцитов [Hillan KJ, et al., 1989], так как селезенка может захватывать ограниченное, но достаточное количество гепатоцитов внутри своих синусоид, обеспечивая условия, очень похожие на естественное клеточное микроокружение.

В этой связи, трансплантация внутрипеченочных гепатоцитов может быть полезной, демонстрируя потенциальную терапевтическую ценность при лечении заболеваний печени [Bumgardner GL, et al., 1988].

Таким образом, наше исследование было направлено на оценку результатов лечения осложненной портальной гипертензии на фоне перенесенных портосистемных шунтирующих вмешательств путем использования интракорпорального аутоорганического биофильтра в эксперименте.

**Цель диссертационного исследования** - Дать морфофункциональную оценку изменениям печени на фоне портальной гипертензии и после ее коррекции.

**Задачи исследования.**

1. Изучить факторы и патогенетические механизмы, способствующие развитию осложнений на фоне портальной гипертензии, включая постшунтовые осложнения.

2. Разработать модель портальной гипертензии и изучить

морфологические и морфометрические изменения печени, биохимические показатели, уровень портального давления, когнитивные функции и выживаемость в зависимости от степени сужения каудальной полой вены в эксперименте.

3. Разработать методику формирования интракорпорального аутоорганического биофильтра путем трансплантации живых клеток печени в паренхиму селезенки, для обеспечения функциональной трансформации селезенки и развития функции печени в экспериментальных условиях.

4. Дать сравнительную оценку интегральных показателей применения портокавального шунта, интракорпорального аутоорганического биофильтра и их комбинированного применения на фоне моделированной портальной гипертензией разной степени сужения каудальной полой вены в условиях эксперимента.

#### **Объект и предмет исследования:**

Исследование проводилось в Лаборатории экспериментальной медицины научно-исследовательского института фундаментальной и прикладной медицины им. Б. Атчабарова, НАО Казахского национального медицинского университета им. С.Д. Асфендиярова (г. Алматы, Казахстан).

В исследовании использовались 502 крысы, полученные из вивария Научно-исследовательского института фундаментальной и прикладной медицины им. Б. Атчабарова (Алматы, Казахстан) со стандартным рационом питания и ухода.

Дизайн исследования включает 3 блока:

I блок – создание осложненной модели ПГ методом сужения просвета каудальной полой вены, (n - 160);

II блок- создание модели интракорпорального аутоорганического биофильтра (n - 18);

III блок – применение портосистемных шунтирующих вмешательств на фоне модели осложненной ПГ и модели интракорпорального аутоорганического биофильтра (n - 324);

*I блок. Моделирование осложненной портальной гипертензии методом сужения просвета каудальной полой вены.*

Лабораторных животных (n = 160) разделили (рандомизация) на пять групп.

Группа I: контрольная группа (CG): вмешательства не было (n = 20);

Группа II: вторая группа контроля (SG): грудная полость вскрывалась правосторонним боковым доступом, сужение каудальной полой вены не производилось (n = 20);

Группа III: интервенционная группа (IG-1): просвет каудальной полой вены сужен пластиковым кольцом на 25% в области, расположенной над диафрагмой (n = 40);

Группа IV: интервенционная группа (IG-2): просвет каудальной полой вены сужен пластиковым кольцом на 50% в области, расположенной над диафрагмой (n = 40);

Группа V: интервенционная группа (IG-3): просвет каудальной поллой вены сужен на 75% в области, расположенной над диафрагмой (n = 40).

*Модель осложненной портальной гипертензии методом сужения просвета каудальной поллой вены в эксперименте.*

Моделирование окклюзии каудальной поллой вены в эксперименте проводили по ранее изложенной методике («Способ моделирования окклюзии поллой вены в эксперименте»/№ патента РК на модель: 5796). В зависимости от планируемой модели 25%, 50% и 75% степени сужения каудальной поллой вены изготавливали пластиковые полукруглые кольца необходимого размера.

*II блок. Создание модели интракорпорального аутоорганического биофильтра*

Моделирование интракорпорального аутоорганического биофильтра проводили по ранее изложенной методике (патент РК на изобретение и Евразийский предпатент на изобретение «Способ преобразования паренхимы селезенки в ткань, функционирующую в качестве паренхимы печени в эксперименте»).

*III блок. Применение портосистемных шунтирующих вмешательств на фоне модели осложненной ПГ и модели интракорпорального аутоорганического биофильтра.*

Животные рандомизировано были распределены на 3 группы:

Группа I: В этой группе животным производилось моделирование ПГ с сужением поллой вены + применялся портокавальный шунт (PCG) (n = 108).  
Группа I была разделена на 3 серии:

Серия 1: производилось моделирование ПГ с сужением поллой вены на 25% + применялся портокавальный шунт (n=36), (PCG25).

Серия 2: производилось моделирование ПГ с сужением поллой вены на 50% + применялся портокавальный шунт (n=36), (PCG50).

Серия 3: производилось моделирование ПГ с сужением поллой вены на 75% + применялся портокавальный шунт (n=36), (PCG75).

Группа II: В этой группе животным производилось моделирование ПГ с сужением каудальной поллой вены + применялся интракорпоральный аутоорганический биофильтр (n = 108), (IAB).

Серия 1: Моделирование ПГ с сужением каудальной поллой вены на 25% + применение интракорпорального аутоорганического биофильтра (n=36), (IAB25).

Серия 2: Моделирование ПГ с сужением каудальной поллой вены на 50% + применение интракорпорального аутоорганического биофильтра (n=36), (IAB50).

Серия 3: Моделирование ПГ с сужением каудальной поллой вены на 75% + применение интракорпорального аутоорганического биофильтра (n=36), (IAB75).

Группа III: В этой группе животным производилось моделирование ПГ с сужением каудальной поллой вены + применялся портокавальный шунт +

применялся интракорпоральный аутоорганический биофильтр (n = 108), (PCG+IAB).

Серия 1: Моделирование ПГ с сужением каудальной полой вены на 25% + применение портокавального шунта + применение интракорпорального аутоорганического биофильтра (n=36), (PCG+IAB25).

Серия 2: Моделирование ПГ с сужением каудальной полой вены на 50% + применение портокавального шунта + применение интракорпорального аутоорганического биофильтра (n=36), (PCG+IAB50).

Серия 3: Моделирование ПГ с сужением каудальной полой вены на 75% + применение портокавального шунта + применение интракорпорального аутоорганического биофильтра (n=36), (PCG+IAB75).

#### **Методы исследования:**

В данной работе были применены следующие методы исследования (в зависимости от сроков наблюдения): измерение массы тела лабораторных животных, измерение температуры тела, оценка боли по шкале Гримас, макроскопия органов брюшной полости (печени, селезенки), измерение массы печени, поведенческий тест, гистологическая оценка, морфометрия органов брюшной полости, измерение портального давления, оценка выживаемости животных.

Для оценки изменений функций печени проводили определение в образцах крови уровня трансаминаз - АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы. На основании результатов данных АЛТ и АСТ крови, был рассчитан коэффициент АСТ/АЛТ.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Разработана и валидизирована экспериментальная модель портальной гипертензии, которая воспроизводит морфофункциональные изменения печени, обусловленные портальной гипертензией.

2. Выявлены механизмы структурной перестройки печени при портальной гипертензии, включая эндотелиальную дисфункцию и капилляризацию синусоид, что способствует пониманию причин неэффективной перфузии органа и усугубления заболевания

3. Разработан инновационный метод формирования интракорпорального аутоорганического биофильтра путем трансплантации живых клеток печени в паренхиму селезенки который способствовал функциональной трансформации селезенки и развития функции печени, предоставляя альтернативу традиционным методам лечения портальной гипертензии.

4. Проведено сравнение эффективности портокавального шунтирования и интракорпорального аутоорганического биофильтра, включая их комбинированное применение, в условиях экспериментальной портальной гипертензии.

5. Разработан алгоритм определения когнитивных функций крыс в

условиях портальной гипертензии, для оценки влияния заболевания и эффективности новых терапевтических подходов на когнитивные способности.

### **Результаты:**

Экспериментальная модель портальной гипертензии приводит к паренхиматозной дистрофии, расширению центральных вен, уменьшению митотического индекса и функциональной клеточной массы печени ( $p \leq 0.05$ ), снижению коэффициента АСТ/АЛТ в крови ( $p \leq 0.001$ ), увеличению портального давления ( $p \leq 0.001$ ), снижению когнитивных функций ( $p \leq 0.05$ ) и выживаемости ( $p \leq 0.01$ ) лабораторных животных в сравнении с контрольной группой в зависимости от степени сужения каудальной полой вены. Трансплантация живых клеток печени в паренхиму селезенки при модели формирования интракорпорального аутоорганического биофильтра продемонстрировала увеличение массы селезенки ( $p=0.001$ ), уменьшение объема лимфоидных областей, капилляров и увеличение объема плотных клеточных скоплений за счет формирования кластеров гепатоцитов на 60 сутки в условиях эксперимента. Комбинированное использование портокавального шунта и интракорпорального аутоорганического биофильтра не привело к повышению времени задержки реакции при оценке когнитивных функций по сравнению с контрольной группой ( $p \leq 0,05$ ), способствовало снижению портального давления в группах PCG 25 и PCG 50 соответственно ( $p \leq 0.05$ ) и увеличило показатели выживаемости в группах PCG 25 и PCG 50 соответственно ( $p \leq 0.05$ ), а на 60 сутки показатели коэффициента АСТ/АЛТ в этих группах ( $p=0,782$  и  $p=0,823$ ) не имеют значимых различий с контрольной группой, в сравнении с возникшими отклонениями в группах PCG 50 и PCG 75 ( $p \leq 0,001$ ).

### **Научная новизна.**

1. Разработан способ моделирования надпеченочной гипертензии в условиях эксперимента (Патент РК на полезную модель № 5796 от 18.11.2020. Способ моделирования надпеченочной гипертензии в эксперименте.// Танабаева Ш.Б., Фахрадиев И.Р., Алмабаев Ы.А., Танабаев Б.Д.).

2. Разработан способ преобразования паренхимы селезенки в ткань, функционирующую в качестве паренхимы печени в условиях эксперимента (Патент РК на изобретение №36697 от 12.04.2024г. Способ преобразования паренхимы селезенки в ткань, функционирующую в качестве паренхимы печени в эксперименте// Танабаева Ш.Б., Алмабаев Ы.А., Фазылов Т.Р., Фахрадиев И.Р.; Заявка на Евразийский патент на изобретение № 230396 от 15.08.2023. Способ преобразования паренхимы селезенки в ткань, функционирующую в качестве паренхимы печени в эксперименте.).

3. Разработан алгоритм определения когнитивных функций крыс путем отслеживания положения крыс в режиме реального времени в тестах радиального лабиринта (Предпатент РК на полезную модель № 2024/0054.2 от 15.01.2024. Алгоритм определения когнитивных функций крыс путем отслеживания положения крыс в режиме реального времени в тестах

радиального лабиринта// Танабаева Ш.Б., Алмабаев Ы.А., Фахрадиев И.Р., Күлімбет М.Б., Жұмағалиұлы А., Фазылов Т.Р.).

4. Полученные новые данные, в ходе экспериментального исследования о морфологических изменений печени и оценки показателей выживаемости в зависимости от степени сужения каудальной полой вены, обеспечивают новое понимание механизмов адаптации печеночной ткани к изменённым условиям кровообращения, что открывает перспективы для разработки новых методов диагностики и лечения портальной гипертензии.

5. Идентифицированы и систематизированы ключевые факторы, влияющие на развитие постшунтовых осложнений при осложнённой портальной гипертензии в эксперименте.

#### **Практическое значение полученных результатов.**

1. Исследования способствуют продвижению науки в области гепатологии за счет получения данных о механизмах развития портальной гипертензии и способах ее коррекции, улучшая текущие методы диагностики и лечения на основе новых патофизиологических данных.

2. Создание экспериментальной модели портальной гипертензии вносит вклад в совершенствование методов тестирования новых хирургических и терапевтических подходов, позволяя более точно оценивать их эффективность и безопасность перед клиническими испытаниями.

3. Разработанный в рамках экспериментального исследования метод формирования интракорпорального аутоорганического биофильтра открывает новую страницу в клеточной трансплантологии, предоставляя фундаментальные знания для разработки новых хирургических и терапевтических подходов лечения.

4. Разработанный алгоритм для измерения когнитивных функций может быть использован для оценки эффективности новых хирургических и терапевтических подходов в доклинических исследованиях, способствуя разработке и оценке новых видов лечения.

#### **Личный вклад докторанта.**

Лично диссертантом под руководством научных консультантов проведена экспериментальная часть исследования, был выполнен тщательный анализ, статистическая обработка данных и интерпретация результатов полученных в ходе исследования, сделаны обоснованные выводы.

#### **Выводы.**

1. Эндотелиальная дисфункция, паракринные нарушения между активированными гепатоцитами и синусоидальными эндотелиоцитами, а также процессы капилляризации и синусоидального ремоделирования способствуют структурной перестройке печени при портальной гипертензии, усугубляя заболевание за счет неэффективной перфузии органа, тогда как портосистемное шунтирование, несмотря на свою эффективность в лечении портальной гипертензии, приводит к значительным осложнениям, включая печеночную энцефалопатию.

2. Разработанная модель портальной гипертензии приводит к



паренхиматозной дистрофии, расширению центральных вен, уменьшению митотического индекса и функциональной клеточной массы ( $p \leq 0.05$ ) печени, снижению коэффициента АСТ/АЛТ в крови ( $p \leq 0.001$ ), увеличению портального давления ( $p \leq 0.001$ ), снижению когнитивных функций ( $p \leq 0.05$ ) и выживаемости ( $p \leq 0.01$ ) в сравнении с контрольной группой в зависимости от степени сужения каудальной полой вены в эксперименте.

3. Разработанная методика формирования интракорпорального аутоорганического биофильтра показала, что, трансплантации живых клеток печени в паренхиму селезенки приводит к увеличению массы селезенки ( $p=0.001$ ), уменьшению объема лимфоидных областей, капилляров и увеличению объема плотных клеточных скоплений за счет формирования кластеров гепатоцитов на 60 сутки в условиях эксперимента.

4. Комбинированное использование портокавального шунта и интракорпорального аутоорганического биофильтра не привело к повышению времени задержки реакции по сравнению с контрольной группой ( $149 \pm 15$  и  $157 \pm 27$  против  $150 \pm 19$  соответственно,  $p \leq 0,05$ ), обеспечило снижение портального давления ( $6,5 \pm 1,2$  и  $10,3 \pm 3,1$  против  $7,2 \pm 1,9$  и  $11,6 \pm 1,5$  в группах PCG 25 и PCG 50 соответственно,  $p \leq 0,05$ ) и повысило выживаемость (95%ДИ 28,8-30,1 и 95%ДИ 29,0-29,9 против 95%ДИ 27,9-29,8 и 95%ДИ 26,7-29,5 в группах PCG 25 и PCG 50 соответственно,  $p \leq 0,05$ ), а показатели коэффициента АСТ/АЛТ на 60 сутки в этих группах ( $p=0,782$  и  $p=0,823$ ) не имеют значимых различий с контрольной группой, что контрастирует с значительными отклонениями в группах PCG 50 и PCG 75 ( $p \leq 0,001$ ).

#### **Апробация результатов диссертации.**

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на международной научно-практической конференции ТГМУ им. Абуали ибни Сино «Достижения и проблемы фундаментальной науки и клинической медицины», Душанбе, 2020; XIV международной научно-практической конференции памяти академика Ю.И. Бородин «Лимфология: от фундаментальных исследований к медицинским технологиям», Новосибирск, 2021; На международной научно-практической конференции «Экологическая генетика и здоровье населения: достижения и перспективы», Алматы, 2023 г.

Апробация диссертационной работы состоялась на расширенном заседании кафедры анатомии КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова, на заседании Научного комитета по направлению «Хирургические заболевания» (2024г).

#### **Внедрение результатов исследования в практику.**

Разработаны 4 охранных документа из них:

1 патент РК на полезную модель № 5796 от 18.11.2020. Способ моделирования надпеченочной гипертензии в эксперименте.

1 патент РК на изобретение №36697 от 12.04.2024. Способ преобразования паренхимы селезенки в ткань, функционирующую в качестве паренхимы печени в эксперименте.

1 Евразийский предпатент на изобретение № 230396 от 15.08.2023. Способ преобразования паренхимы селезенки в ткань, функционирующую в качестве паренхимы печени в эксперименте.

1 предпатент РК на полезную модель № 2024/0054.2 от 15.01.2024 от 15.01.2024. Алгоритм определения когнитивных функций крыс путем отслеживания положения крыс в режиме реального времени в тестах радиального лабиринта.

#### **Публикации.**

По результатам исследования опубликовано 7 научных работ: 3 – в журналах, рекомендуемых Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки Министерства образования и науки Республики Казахстан; 1 – в журнале, входящем в международную базу данных Scopus и Web of Science Core Collection (Clarivate Analytics)- Q2; 3 – в материалах международных конференций; Разработаны 4 охранных документа из них: получен 1 патент РК на изобретение, 1 патент РК на полезную модель, 1 предпатент РК на полезную модель, и 1 Евразийский предпатент на изобретение.

#### **Объем и структура диссертации.**

Диссертация изложена на 150 страницах машинописного текста и состоит из списка сокращений и обозначений, введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, включающего выводы и список литературы. Работа иллюстрирована 46 рисунками, 26 таблицами. Библиографический указатель включает 222 источников.