

УДК 616.36-002.12-067.2-017

Экспериментальные методы изучения портальной гипертензии

Д.В. Гарбузенко

(Челябинская государственная медицинская академия)

Experimental methods of portal hypertension studying

D.V. Garbuzenko

Цель обзора. Представить методы изучения портальной гипертензии и способы ее медикаментозной коррекции в эксперименте.

Основные положения. Для изучения сложных патофизиологических нарушений, свойственных портальной гипертензии, используются различные экспериментальные модели, которые позволяют дать им комплексную оценку и разработать способы адекватной коррекции. В настоящее время на лабораторных животных детализированы механизмы развития гипердинамического циркуляторного статуса, исследования *ex vivo* дали физиологическую характеристику медиаторам, вызывающим спланхическую вазодилатацию и увеличение сосудистого тонуса в цирротически измененной печени, а методы молекулярной биологии идентифицировали дефекты в сигнализирующих путях, ответственных за нарушение метаболизма этих веществ.

Заключение. В последние годы применение различных экспериментальных моделей портальной гипертензии способствовало прогрессу не только в понимании лежащих в ее основе патофизиологических механизмов, но и разработке новых перспективных методов лечения. Дальнейшие рандомизированные контролируемые клинические испытания дадут возможность определить их безопасность и эффективность при сравнении с традиционными способами терапии.

Ключевые слова: портальная гипертензия, моделирование, патогенез, терапия.

The aim of review. To present methods of studying of portal hypertension and means of its pharmacological treatment in experiment settings.

Original positions. To study complex pathophysiological disorders, innate to portal hypertension, various pilot models providing complex evaluation and development of adequate treatment methods are used. Nowadays mechanisms of hyperdynamic circulatory status development are detailed on laboratory animals. *Ex vivo* studies gave physiological characteristic to the mediators causing splanchnic vasodilation and increasing of vascular tension in cirrhotic liver, and methods of molecular biology identified defects in signalling routes responsible for disorders of metabolism of these substances.

Conclusion. In the last years application of various pilot models of portal hypertension promoted progress not only in understanding of pathophysiological mechanisms laying in its basis, but also development of new perspective methods of treatment. The further randomized controlled clinical studies will help to determine their safety and efficacy comparing to traditional treatment methods.

Key words: portal hypertension, modeling, pathogenesis, treatment.

Гарбузенко Дмитрий Викторович – доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургических болезней и урологии ГОУ ВПО Челябинская государственная медицинская академия Росздрава. Контактная информация для переписки: garb@inbox.ru; 454080, г. Челябинск, а/я 12317

Для изучения сложных патофизиологических нарушений, свойственных *портальной гипертензии* (ПГ), используются различные экспериментальные модели, которые позволяют дать им комплексную оценку и разработать методы адекватной коррекции, что не всегда возможно в клинических исследованиях. В настоящее время доказано, что этот синдром является результатом не только повышения печеночного сосудистого сопротивления, но и увеличения портального венозного притока. Важным шагом в понимании этой концепции, еще не признававшейся до 80-х годов прошлого столетия, послужило создание модели ПГ, при которой описанная более полувека назад клиническая картина гипердинамической циркуляции была полностью детализирована на лабораторных животных. Последующие исследования *ex vivo* дали физиологическую характеристику медиаторам, вызывающим развитие спланхической вазодилатации и увеличение сосудистого тонуса в цирротически измененной печени, а применение методов молекулярной биологии позволило идентифицировать дефекты в сигнализирующих путях, ответственных за нарушение метаболизма этих веществ.

Моделирование портальной гипертензии

Выбор вида экспериментальных животных и методики моделирования ПГ во многом зависит от цели исследования.

Модель внепеченочной портальной гипертензии

Наиболее распространенной моделью внепеченочной ПГ является частичное лигирование воротной вены. Она широко используется для изучения гемодинамических нарушений, характерных для ПГ, и главным образом применяется на крысах, реже — на мышах, кроликах, собаках. Воротную вену, выделенную из окружающих тканей, перевязывают шелковой лигатурой (3–0) на тупоконечной игле 16, 18 или 20 калибра (соответственно $\varnothing 1,651$, $1,270$ и $0,889$ мм), лежащей вдоль ее поверхности. Для повышения эффективности метода предлагается перевязывать воротную вену на протяжении трех равноудаленных участков. После извлечения иглы степень стеноза соответствует ее калибру [15].

Патогенетические механизмы, способствующие возникновению, а затем сохранению ПГ, при этой модели изменяются в разные сроки после операции. В 1-й день рост портального давления обусловлен резким увеличением резистентности току по воротной вене из-за ее стеноза. Однако через 4 дня формирование портосистемных коллатералей приводит к уменьшению портального

венозного сопротивления, а в поддержании ПГ главную роль начинает играть увеличенный портальный венозный приток вследствие развития спланхической гипердинамической циркуляции (теория «forward flow»), которая окончательно устанавливается с 8-го дня. Портальное давление к этому времени составляет около 15 мм рт. ст., что на 50% превышает нормальные значения, и остается повышенным весь период наблюдения (до 6 мес) [54]. По портосистемным шунтам поступает до 99% крови, портальный венозный приток увеличивается на 50%, при этом спланхическая сосудистая резистентность снижается [61]. В результате возникших гемодинамических нарушений возможно развитие варикозного расширения вен пищевода [29].

Модель внутрипеченочной портальной гипертензии

Внутрипеченочная ПГ классифицируется как пресинусоидальная, синусоидальная и постсинусоидальная.

Одним из заболеваний, вызывающих *пресинусоидальную внутрипеченочную ПГ*, является шистосомоз, при котором печень поражается после заражения *Schistosoma mansoni* и *Schistosoma japonicum*. Моделируется он путем инъекции церкарий паразита в стенку живота экспериментальным животным (чаще мышам и хомякам). ПГ развивается через 5–7 нед после инокуляции с формированием портосистемных шунтов к 9-й неделе [53].

ПГ с пресинусоидальным компонентом можно воспроизвести также посредством введения в воротную вену микросфер [39] либо лигированием общего желчного протока. Последняя модель применяется главным образом у крыс из-за удобства ее выполнения в связи с отсутствием у них желчного пузыря, реже — у кроликов. На общий желчный проток накладывают две шелковые лигатуры (5–0): одну из них сразу ниже слияния печеночных протоков, другую — выше места впадения панкреатического протока, при этом, чтобы не произошла реканализация, холедох пересекают. Во избежание формирования кисты, которая может сдавливать воротную вену и нарушать ее проходимость, предлагается перед лигированием вводить в желчный проток 10% раствор формалина [10] или препарат Ethibloc®, разработанный для эмболизации сосудов [12], либо перевязывать непосредственно оба долевых печеночных протока [3].

Уже в первые две недели наблюдается повышение активности клеток Купфера. На поверхности набухших синусоидальных клеток происходит адгезия нейтрофилов, что способствует снижению синусоидального кровотока более чем на 30% [28]. Спустя 4–6 нед отмечаются значительная пролиферация внутрипеченочных желч-

ных протоков и обширный портальный фиброз, развивается гипердинамическая циркуляция, в 30–60% случаев формируются портосистемные шунты, а у 60% экспериментальных животных – асцит [22].

Цирроз печени (ЦП) является основной причиной *синусоидальной ПГ*. Предложены разнообразные методики его моделирования, в основном с использованием веществ гепатотоксического действия. В настоящем обзоре будут рассмотрены лишь те из них, которые применяются для изучения ПГ.

1. ЦП, индуцированный *четыреххлористым углеродом* (CCl₄). При данной модели развитие фиброза связано с активацией цитохром P450-зависимой монооксидазы, расположенной в гладкой эндоплазматической сети перивенулярных гепатоцитов, и с продукцией ими реактивных видов кислорода [30]. Кроме того, сенсибилизация макрофагов способствует выработке провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-6, *фактор некроза опухоли α* (TNF-α) [46, 50]. Несмотря на то что эти нарушения при прекращении действия токсина обратимы, длительное его применение может привести к формированию ЦП [31].

Данная методика используется у крыс, мышей и кроликов. Наиболее эффективными способами введения препарата являются пероральный, интраперитонеальный или ингаляционный. Чтобы морфологические изменения были более выраженными, его целесообразно сочетать с растворенным в питьевой воде фенобарбиталом (из расчета 0,3 г/л), который назначают за неделю до CCl₄ [1]. Через 12–15 нед после начала эксперимента у 30–60% животных формируется микронодулярный ЦП с ПГ, портосистемным шунтированием и гипердинамической циркуляцией [62], через 16 нед появляются признаки варикозного расширения вен пищевода [47], а к 20-й неделе развивается асцит.

2. ЦП, индуцированный тиацетамидом. Модель применяется главным образом у крыс и мышей. Препарат назначается с питьевой водой или посредством интраперитонеальных инъекций, при этом последний способ введения предпочтительнее. Токсин действует как на перивенулярную, так и на перипортальную зону. Спустя 12 нед после начала эксперимента формируется макронодулярный ЦП, а с 18-й недели в результате увеличения системного уровня нитратов/нитритов развивается гипердинамическая циркуляция. С этого времени нарастает внутрипеченочная сосудистая резистентность, связанная с дисфункцией эндотелия, имеют место спланхническое полнокровие, портосистемное шунтирование [36] и варикозное расширение вен пищевода [47]. Асцит встречается у 40% животных [40]. В отличие от CCl₄ применение тиацетамида поз-

воляет добиться более стойкого фиброза печени, даже после отмены препарата [35].

3. Модель ЦП, индуцированного диметилнитрозамином, используется редко ввиду его чрезвычайной токсичности и канцерогенного действия. После интраперитонеального введения препарата из расчета 10 мг/кг через 5 нед у крыс развивается ЦП с ПГ и хорошо выраженной коллатеральной циркуляцией [60].

Одной из причин развития *постсинусоидальной внутривенечной портальной гипертензии* является веноокклюзионная болезнь, которая характеризуется повреждением эндотелиальных клеток синусоидов, некрозом перивенулярных гепатоцитов, что приводит к фиброзу и обструкции печеночного венозного оттока. Моделируется данное заболевание на крысах введением в желудок через зонд монокроталина – алкалоида пирролидина, обнаруженного в растении *Clotalaria* [14]. При этом уже через 12 ч наблюдаются набухание эндотелиальных клеток синусоидов, проникновение через щели между ними в пространство Диссе эритроцитов и отслоение синусоидальной выстилки от паренхиматозных клеток, что способствует окклюзии кровотока по синусоидам. К концу 1-й недели у крыс развиваются гипербилирубинемия, гепатомегалия и асцит [13].

Модель портальной гипертензии, вызванной нарушением венозного оттока из печени

Картину синдрома Бадда–Киари можно воспроизвести у крыс, перевязав шелковой лигатурой (3–0) нижнюю полую вену сразу выше впадения печеночных вен на стеклянном стержне (Ø1,3 мм), лежащем вдоль ее поверхности. После его удаления диаметр вены сужается примерно на 50%, вызывая острое нарушение венозного оттока из печени без нежелательного эффекта на венозный возврат из нижней части тела [45]. Следует отметить, что данная модель не позволяет адекватно отразить характер гемодинамических нарушений, свойственных ПГ, в связи с чем применяется редко.

Методы оценки портальной гипертензии у экспериментальных животных

В экспериментальных условиях портальное давление может быть измерено специальным датчиком прямым и непрямым методами. В первом случае – посредством проведения катетера через вену илеоцекального угла в дистальную часть верхней брыжеечной вены. Во втором – давление определяется в пульпе селезенки размещением в ее паренхиме иглы 20 калибра (Ø0,889 мм), наполненной жидкостью [54]. Нарушения гемодинамики изучаются с использованием радиоактивных микросфер. Для оценки портосистемного

шунтирования они вводятся в селезенку с последующим подсчетом их количества в печени и легких, а для определения регионального кровотока и сердечного выброса — в левый желудочек [21].

Исследование патофизиологических механизмов портальной гипертензии

Повышение печеночного сосудистого сопротивления как начальный фактор, способствующий развитию портальной гипертензии

ЦП является наиболее частой причиной ПГ. При его развитии факторами повышения печеночного сосудистого сопротивления могут быть не только фиброз и формирование узлов регенерации, которые нарушают архитектуру печени, но и изменение метаболизма местнодействующих вазоактивных веществ. Первым свидетельством наличия функционального компонента послужили экспериментальные исследования на крысах, выполненные P.S. Bhatthal и H.J. Grossman [6]. На изолированной перфузированной цирротически измененной печени (ССL₄) было выявлено, что нитропруссид — в то время еще не идентифицированный как донор оксида азота (NO) — способен уменьшать внутрипеченочное сопротивление на 15%. Используя эту модель, дальнейшие исследования показали важную роль синусоидальных клеток в регуляции печеночного сосудистого сопротивления. В частности, гиперпродукция ими эндогенных вазоконстрикторов, таких как эндотелин-1, тромбоксан A₂, цистенил-лейкотриены, способствует увеличению печеночного сосудистого тонуса. Гиперчувствительность к ним синусоидов может быть следствием снижения синтеза NO [64]. Существенным достижением в понимании механизмов, влияющих на печеночный сосудистый тонус, явилось доказательство участия в этом процессе звездчатых клеток печени [52].

Гипердинамический циркуляторный синдром при портальной гипертензии

У животных экспериментально индуцированная ПГ характеризуется спланхическим полнокровием вследствие вазодилатации и внутриорганным венозным застоем, а также уменьшением системного сосудистого сопротивления и гипотонией. Эти изменения связаны не только с повышенной выработкой эндотелием местнодействующих вазодилаторов, увеличением содержания в плазме сосудорасширяющих веществ, снижением чувствительности сосудов к циркулирующим эндогенным вазоконстрикторам, но и с перестройкой сосудистого русла и неангиогенезом.

Чтобы исследовать внутриклеточные механизмы сосудистых функциональных нарушений, обычно используют изолированные *in vitro*

аорту, брыжеечные и сонную артерии от животных с моделью ПГ. В настоящее время наиболее изученным медиатором полнокровия является NO. Было установлено, что в результате увеличения уровня TNF- α в сосудах повышается экспрессия *эндотелиальной NO-синтазы* (eNOS). Она Ca²⁺/кальмодулин-зависима и для своей активации нуждается в кофакторах, одним из которых является *тетрагидробиоптерин* (BH₄). Циркулирующий эндотоксин стимулирует гуанозин-5'-трифосфат-циклогидролазу I, которая, в свою очередь, генерирует выработку BH₄ брыжеечными артериями. Кроме того, ключевыми стимулами гиперактивности eNOS являются белок теплового шока с молекулярной массой 90 кДа (Hsp90) и обусловленное *фактором роста сосудистого эндотелия* (VEGF) напряжение сдвига (англ. *Shear stress*) [25]. Другим источником повышенной выработки NO в брыжеечных артериях является *нейрональная NOS* (nNOS), которая наиболее выражена в периваскулярных нейронах. Отмечалось, что электрическая стимуляция изолированных, лишенных эндотелия брыжеечных артерий крыс с моделью внепеченочной ПГ приводит к увеличению nNOS-обусловленного выделения NO [33].

Помимо NO к биологически активным веществам, обладающим локальными сосудорасширяющими свойствами, относятся *простаглицлин* (PGI₂) и *монооксид углерода* (CO). Было показано, что вазодилатация у животных с экспериментальной ПГ, индуцированная PGI₂, вызвана ростом активности двух вовлеченных в его синтез изоформ *циклооксигеназы* (COX): конститутивной (COX-1) и индуцибельной (COX-2) [48], а гемодинамические нарушения, обусловленные CO, — повышенной экспрессией гемоксигеназы [25].

Есть сообщения о связи активности эндоканнабиноидной системы с расстройствами кровообращения при ЦП. Увеличение выработки моноцитами анандамида и повышенная экспрессия рецептора CB1 в эндотелиальных клетках приводит к гиперпродукции NO в сосудах брыжейки крыс с ССL₄-индуцированным ЦП и свидетельствует о возможном участии в стимуляции синтеза каннабиноидов бактериального липополисахарида [16].

Увеличение синтеза цАМФ в гипоконтрактильных сосудах может также встречаться независимо от эндотелия при повышении уровня циркулирующего глюкагона. У кроликов с моделью внепеченочной ПГ он индуцирует продукцию цАМФ в ответ на активацию G-протеин-связанных рецепторов в сосудистых гладкомышечных клетках [8].

Известно, что тонус сосудов определяется также *АТФ-чувствительными K⁺ каналами* (K_{АТФ} каналами), открытие которых в сосудистых гладкомышечных клетках вызывает гипер-

поляризацию и последующую вазорелаксацию. Эксперименты, использующие модуляторы K_{ATP} каналов, показали, что они могут быть максимально открытыми в расширенных сосудах брыжейки у крыс с моделью вторичного билиарного ЦП [4]. Кроме того, K_{ATP} каналы являются мишенью сульфида водорода, недавно идентифицированного как мощный газообразный медиатор вазодилатации.

Помимо повышенной выработки эндотелием местнодействующих вазодилататоров и увеличения содержания в плазме сосудорасширяющих веществ, на нарушение сосудистого тонуса при ПГ влияет эндотелий-независимая гипочувствительность к циркулирующим эндогенным вазоконстрикторам. Большое количество исследований на изолированных перфузированных брыжеечных артериях и аорте крыс с различными моделями ПГ показало, что уменьшенный сосудосуживающий ответ на агонисты α_1 -адренорецепторов (фенилэфрин, метоксамин, норадrenalин), ангиотензин II, эндотелин-1 и вазопрессин сохранялся после удаления эндотелия или фармакологического ингибирования продукции эндогенного NO [25]. Одной из причин этой гипоконтрактильности может быть дефективная сосудистая RhoA/Rho-киназная сигнализация [23], а нарушение ответа на ангиотензин II — результатом повышенной экспрессии рецептора к G-протеин-связанной киназе 2 и белка β -аррестина 2, связанного с рецептором ангиотензина II 1-го типа [24].

В последние годы важное значение в сохранении гемодинамических нарушений при ПГ придается перестройке сосудистого русла с развитием коллатеральной циркуляции и спланхической неоваскуляризации, что связано с активацией ангиогенеза. При этом среди основных его медиаторов рассматриваются VEGF, *тромбоцитарный фактор роста* (PDGF) и *плацентарный фактор роста* (PLGF) [18]. У крыс с моделью внепеченочной ПГ было показано, что VEGF за счет стимуляции пролиферации эндотелиальных клеток и последующего образования эндотелиальных трубочек инициирует этот процесс, а PDGF модулирует созревание новых сосудов [17]. В данной патологической ситуации PLGF, связываясь с рецептором VEGFR-I и нейропилином-1, увеличивает эффекты VEGF и таким образом ангиогенез [20].

Экспериментальные методы изучения осложнений портальной гипертензии

Гепатопульмональный синдром

Специфическими проявлениями гепатопульмонального синдрома являются артериальная гипоксемия и расширение внутрилегочных сосу-

дов. Воспроизвести эти изменения можно у крыс, моделируя ЦП, вызванный лигированием общего желчного протока. Уже через 2 нед наблюдается значительная экспрессия эндотелиновых рецепторов типа V_1 , что индуцирует *NO-синтазу* (NOS) эндотелиальных клеток, способствуя выделению NO и вазодилатации [42].

Цирротическая кардиомиопатия

Признаками, свойственными цирротической кардиомиопатии, являются базальное увеличение сердечного выброса при одновременном ухудшении ответа желудочков на стресс, систолическая и/или диастолическая дисфункция, отсутствие явной левожелудочковой недостаточности в покое, а также электрофизиологические нарушения, включая хронотропную недостаточность и пролонгированный интервал Q–T. Отмечалось, что ПГ у крыс с вторичным билиарным ЦП сопровождается, помимо уменьшения системной и легочной сосудистой резистентности, редукцией сопротивления коронарных артерий и гипертрофией левого желудочка. Эти изменения коррелировали с выраженностью гемодинамических нарушений. Отсутствие фиброза, нарушения сократимости и повышенной регуляции трансформирующего фактора роста β_1 в кардиомиоцитах позволяет предположить, что гипертрофический ответ обусловлен прежде всего механической перегрузкой, нежели нейроэндокринной активностью. Обнаруженная редукция сопротивления коронарных артерий была вторичной к увеличению синтеза NO посредством eNOS [27].

Дисфункция почек при циррозе печени

Гепаторенальный синдром при ЦП возникает вследствие уменьшения почечного кровотока и снижения величины клубочковой фильтрации в результате стойкой вазоконстрикции без каких-либо существенных морфологических изменений в почках. Определяющими в его развитии являются левожелудочковая систолическая дисфункция и тяжелая системная вазодилатация. Для воспроизведения гепаторенального синдрома предложена модель пресинусоидальной внутрипеченочной ПГ, созданная лигированием общего желчного протока у крыс. Через 4–6 нед после операции на фоне гипердинамической циркуляции отмечалось повышение уровней ангиотензина I, ангиотензина II, ангиотензина-(1–7), увеличение активности ренина плазмы. Кроме того, усиливалась реабсорбция натрия и воды в дистальных канальцах почек, способствуя формированию асцита и гипонатриемии разведения, повышался уровень сывороточного креатинина. Вместе с тем олигурии, характерной для клинического течения заболевания, зафиксировано не было [51]. Билатеральная денервация почек у крыс с моделью вторичного билиарного ЦП

улучшала канальцевую дисфункцию, подтверждая тем самым важную роль в развитии асцита симпатической нервной системы, активация которой приводит к повышенной реабсорбции натрия в проксимальных канальцах [32].

Изменения слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта при портальной гипертензии

Слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта при ПГ характеризуется отеком, фибрино-мышечной пролиферацией, полнокровием и венозным застоем, обусловленными гиперпродукцией NO, эндотелина-1, VEGF. Было показано, что частичное лигирование воротной вены у крыс приводит к росту активности NOS [49] и экспрессии мРНК эндотелиновых рецепторов типа А в слизистой оболочке желудка, значительному расширению сосудов и увеличению кровотока по ним [34]. Перестройка сосудистого русла, выявленная при этой модели ПГ, наблюдается и в слизистой оболочке тонкой кишки, что связано с повышенной экспрессией VEGF [5].

Спленомегалия и гиперспленизм

Спленомегалия является типичным признаком ПГ, возникающим в результате увеличения селезеночного венозного давления. Она часто сочетается с гиперспленизмом, который характеризуется анемией и/или цитопенией. При этом тромбоцитопения может быть обусловлена секвестрацией и деструкцией тромбоцитов в селезенке или продукцией в ней аутоантител. Застойная спленомегалия с гиперспленизмом может быть воспроизведена на собаках через 2 мес после частичного лигирования воротной вены с последующей, спустя 3 нед, перевязкой селезеночной вены [11].

Изучение факторов, влияющих на тяжесть кровотечений, ассоциированных с портальной гипертензией

Кровотечение из варикозно-расширенных вен пищевода является наиболее частым и опасным осложнением ПГ. В настоящее время доказана связь между риском его развития и величиной портального давления. Несмотря на актуальность проблемы, существуют лишь единичные сообщения о факторах, влияющих на тяжесть кровотечений, ассоциированных с ПГ. В одном из них у крыс с моделью внепеченочной ПГ (через 2 нед после частичного лигирования воротной вены) и у крыс с моделью вторичного билиарного ЦП (через 6 нед после перевязки общего желчного протока) была исследована связь между объемом кровопотери из пересеченной расширенной ветви подвздошно-ободочной вены первого порядка и выраженностью гемодинамических нарушений, характерных для ПГ [9].

Разработка методов медикаментозной коррекции портальной гипертензии в эксперименте

Исходя из современных представлений о патогенезе ПГ, ее коррекция должна заключаться либо в устранении гипердинамического циркуляторного статуса, либо в редукации сопротивления портальному кровотоку. Поскольку гемодинамические нарушения поддерживаются увеличенным портальным венозным притоком, целесообразна терапия, основанная на использовании спланхических вазоконстрикторов. Исходя из этого, применение неселективных β -адреноблокаторов для профилактики кровотечений из варикозно-расширенных вен пищевода является лучшим примером успешного внедрения в клиническую практику патофизиологических концепций, разработанных в ходе экспериментальных исследований [7].

Эндогенная бактериемия при ЦП, вызванная перемещением бактерий через слизистую оболочку кишечника, прямо или опосредованно через цитокиновый каскад стимулирует *индуцибельную NOS* (iNOS) эндотелия сосудов, увеличивая продукцию NO [58]. В связи с этим логичным для профилактики осложнений ПГ является применение антибактериальной терапии. Установлено, что подавление грамотрицательной микрофлоры кишечника норфлоксацином значительно уменьшало ее транслокацию, уровень TNF- α в плазме и активность iNOS в аорте крыс с моделью вторичного билиарного ЦП [55]. Кроме того, пероральное назначение талидомида крысам с моделью внепеченочной ПГ (5 мг/кг/сут) ингибировало синтез TNF- α , что снижало продукцию NO, способствуя ослаблению выраженности гипердинамического циркуляторного статуса и редукации портального давления [41].

В настоящее время перспективными и многообещающими при лечении ПГ рассматриваются терапевтические стратегии, направленные на коррекцию ангиогенеза при ЦП [18]. М. Mejias и соавт. [44] исследовали влияние 2-недельного перорального назначения сорафениба (2 мг/кг/сут) на висцеральный, внутрипеченочный и порталколлатеральный кровоток у крыс с моделью внепеченочной ПГ (через 1 нед после частичного лигирования воротной вены) и вторичного билиарного ЦП (через 2 нед после перевязки общего желчного протока). Выявлено, что он ингибирует VEGF, PDGF и Raf сигналирующие пути, способствуя редукации на 80% спланхической неоваскуляризации, на 18% — распространенности портосистемных коллатералей и уменьшению выраженности внутриорганной и системной гипердинамической циркуляции. Кроме того, у крыс с ЦП, помимо снижения на 25% порталь-

ного давления, сорафениб позитивно влиял на фиброз печени и ангиогенез.

Учитывая, что повышение печеночного сосудистого тонуса является важным фактором развития ПГ при ЦП, одним из способов его коррекции может быть применение селективно действующих вазодилататоров. Первым был изучен изосорбида-5-моонитрат — донор NO в печени. Согласно результатам исследования, несмотря на эффективное уменьшение портального давления, даже очень низкие дозы препарата индуцировали статистически значимую редукцию артериального давления, что существенно ограничивало его использование в качестве монотерапии.

В работах последних лет отмечалось, что недостаток NO в печени при ЦП вызван прежде всего низкой активностью eNOS, нежели недостаточным уровнем фермента. Это может быть обусловлено повышенной экспрессией кавеолина-1 в перисинусоидальных клетках и увеличением его связывания с eNOS [63], уменьшением фосфорилиции eNOS, а также распадом NO в результате гиперпродукции супероксида [59]. Указанные находки легли в основу новых направлений в терапии ПГ.

S. Fiocucci и соавт. [19] показали, что назначение печень-специфичного донора NO NCX-1000 (28 мг/кг/сут), являющегося дериватом урсодезоксихолевой кислоты, крысам с моделью вторичного билиарного ЦП приводило к значительному снижению портального давления, а в последующем ослаблению прессорного ответа на норадреналин изолированной перфузированной печени этих же животных. Учитывая, что в гомогенатах печени авторы зафиксировали повышение уровня цГМФ, указанный позитивный эффект NCX-1000 на ПГ может быть объяснен повышенным содержанием в печени биологически активного NO.

Интраперитонеальное введение BH_4 крысам с CCl_4 -индуцированным ЦП (10 мг/кг/сут в течение 3 дней) способствовало росту активности NOS и увеличению синтеза цГМФ в печени, что сопровождалось значительной редукцией портального давления [43]. Кроме того, внутривенное введение аденовирусных векторов, экспрессирующих внеклеточную супероксиддисмутазу, вызывало снижение уровня супероксида в печени, повышало биодоступность NO и улучшало функцию эндотелия [38].

Сообщалось о положительном влиянии на эндотелиальную дисфункцию цирротически измененной печени статинов, ингибиторов редуктазы 3-гидрокси-3-метилглутарил-кофермента А. Так, предварительное назначение симвастатина кры-

сам с CCl_4 -индуцированным ЦП (25 мг/кг/сут в течение 3 дней) значительно ослабляло прессорный ответ изолированной перфузированной печени на метоксамин и парадоксальную вазоконстрикцию, индуцированную ацетилхолином. Это может быть связано с увеличением экспрессии eNOS, Akt-зависимой фосфорилиции eNOS и содержания цГМФ в печени [2]. Кроме того, применение аторвастатина (15 мг/кг/сут) через 4 нед после лигирования у крыс общего желчного протока способствовало снижению портального давления без влияния на системную гемодинамику. Указанное действие препарата было связано с уменьшением внутрипеченочной резистентности в результате ингибирования RhoA/Rho-киназного пути и активации eNOS/NO сигнализации в печени [56]. Аналогичный эффект был обнаружен при пероральном назначении в течение одной недели мультикиназного ингибитора сорафениба крысам с моделью вторичного билиарного ЦП (60 мг/кг/сут) [26].

Как отмечалось выше, помимо недостаточной продукции NO, в увеличении печеночного сосудистого тонуса важную роль играют и другие вазоактивные вещества. Исследование у крыс острого воздействия нитрофлурбипрофена (250 ммоль/л), ингибитора COX, на сосудистый тонус изолированной перфузированной цирротически измененной печени (индукция тиацетамидом) показало улучшение эндотелиальной дисфункции и ослабление гиперчувствительности к метоксамину, что объясняется уменьшением продукции тромбоксана A2 и увеличением содержания NO [37]. Подобный эффект в сочетании с антифибротической активностью и положительным влиянием на портальную гипертензию был получен при пероральном назначении высоко селективного ингибитора COX-2 рофекоксиба крысам с CCl_4 -индуцированным ЦП (10 мг/кг/сут) [57].

Заключение

В последние годы применение различных моделей ПГ позволило сделать существенный шаг в понимании лежащих в ее основе патофизиологических механизмов и разработать ряд новых перспективных методов лечения. Однако, учитывая, что в большинстве случаев используемые препараты были оценены лишь в экспериментах на животных, необходимо проведение рандомизированных контролируемых клинических испытаний, определяющих их безопасность и эффективность при сравнении с традиционными способами терапии.

Список литературы

1. *Abraldes J.G., Pasarín M., Garcia-Pagan J.C.* Animal model of portal hypertension // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 12, N 41. – P. 6577–6584.
2. *Abraldes J.G., Rodríguez-Vilarrupla A., Graupera M.* et al. Simvastatin treatment improves liver sinusoidal endothelial dysfunction in CCl₄ cirrhotic rats // *J. Hepatol.* – 2007. – Vol. 46, N 6. – P. 1040–1046.
3. *Aller M.A., Duran M., Ortega I.* et al. Comparative study of macro- and microsurgical extrahepatic cholestasis in the rat // *Microsurgery.* – 2004. – Vol. 24. – P. 442–447.
4. *Atucha N.M., Ortíz M.C., Fortepiani L.A.* et al. Mesenteric hyporesponsiveness in cirrhotic rats with ascites: role of cGMP and K⁺ channels // *Clin. Sci. (Lond.)*. – 2000. – Vol. 99, N 5. – P. 455–460.
5. *Aydede H., Seda Vatansöver H., Erhan Y., Ilkgöl O.* Effects of ocreotide on intestinal mucosa in rats with portal hypertensive enteropathy // *Acta Histochem.* – 2009. – Vol. 111, N 1. – P. 74–82.
6. *Bhathal P.S., Grossmann H.J.* Reduction of the increased portal vascular resistance of the isolated perfused cirrhotic rat liver by vasodilators // *J. Hepatol.* – 1985. – Vol. 1, N 4. – P. 325–337.
7. *Blanchet L., Lebrec D.R.* Changes in splanchnic blood flow in portal hypertensive rats // *Eur. J. Clin. Invest.* – 1982. – Vol. 12, N 4. – P. 327–330.
8. *Cahill P.A., Wu Y., Sitzmann J.V.* Altered adenylyl cyclase activities and G-protein abnormalities in portal hypertensive rabbits // *J. Clin. Invest.* – 1994. – Vol. 93, N 6. – P. 2691–2700.
9. *Castaneda B., Debernardi-Venon W., Bandi J.C.* et al. The role of portal pressure in the severity of bleeding in portal hypertensive rats // *Hepatology.* – 2000. – Vol. 31, N 3. – P. 581–586.
10. *Castaneda R., Morales J., Lionetti R.* et al. Effects of blood volume restitution following a portal hypertensive-related bleeding in anesthetized cirrhotic rats // *Hepatology.* – 2001. – Vol. 33, N 4. – P. 821–825.
11. *Chen Y., Zhang Q., Liao Y.* et al. A modified canine model of portal hypertension with hypersplenism // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 44, N 4. – P. 478–485.
12. *Cho J.J., Hocher B., Herbst H.* et al. An oral endothelin-A receptor antagonist blocks collagen synthesis and deposition in advanced rat liver fibrosis // *Gastroenterology.* – 2000. – Vol. 118, N 6. – P. 1169–1178.
13. *DeLeve L.D., Ito Y., Bethea N.W.* et al. Embolization by sinusoidal lining cells obstructs the microcirculation in rat sinusoidal obstruction syndrome // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2003. – Vol. 284, N 6. – P. 1045–1052.
14. *DeLeve L.D., Shulman H.M., McDonald G.B.* Toxic injury to hepatic sinusoids: sinusoidal obstruction syndrome (veno-occlusive disease) // *Semin. Liver Dis.* – 2002. – Vol. 22, N 1. – P. 27–41.
15. *Diüquez B., Aller M.A., Nava M.P.* et al. Chronic portal hypertension in the rat by triple-portal stenosing ligation // *J. Invest. Surg.* – 2002. – Vol. 15, N 6. – P. 329–336.
16. *Domenicali M., Ros J., Fernández-Varo G.* et al. Increased anandamide induced relaxation in mesenteric arteries of cirrhotic rats: role of cannabinoid and vanilloid receptors // *Gut.* – 2005. – Vol. 54, N 4. – P. 522–527.
17. *Fernandez M., Mejias M., Garcia-Pras E.* et al. Reversal of portal hypertension and hyperdynamic splanchnic circulation by combined vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor blockade in rats // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 46, N 4. – P. 1208–1217.
18. *Fernandez M., Semela D., Bruix J.* et al. Angiogenesis in liver disease // *J. Hepatol.* – 2009. – Vol. 50, N 3. – P. 604–620.
19. *Fiorucci S., Antonelli E., Brancaleone V.* et al. NCX-1000, a nitric oxide-releasing derivative of ursodeoxycholic acid, ameliorates portal hypertension and lowers norepinephrine-induced intrahepatic resistance in the isolated and perfused rat liver // *J. Hepatol.* – 2003. – Vol. 39, N 6. – P. 932–939.
20. *Geerts A.M., de Vriese A.S., Vanheule E.* et al. Increased angiogenesis and permeability in the mesenteric microvasculature of rats with cirrhosis and portal hypertension: an in vivo study // *Liver Int.* – 2006. – Vol. 26, N 7. – P. 889–898.
21. *Groszmann R.J., Abraldes J.G.* Portal hypertension: from bedside to bench // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2005. – Vol. 39 (suppl. 2). – P. 125–130.
22. *Heller J., Shiozawa T., Trebicka J.* et al. Acute haemodynamic effects of losartan in anaesthetized cirrhotic rats // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2003. – Vol. 33, N 11. – P. 1006–1012.
23. *Hennenberg M., Biecker E., Trebicka J.* et al. Defective RhoA/Rho-kinase signaling contributes to vascular hypocontractility and vasodilation in cirrhotic rats // *Gastroenterology.* – 2006. – Vol. 130, N 3. – P. 838–854.
24. *Hennenberg M., Trebicka J., Biecker E.* et al. Vascular dysfunction in human and rat cirrhosis: role of receptor-desensitizing and calcium-sensitizing proteins // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 45, N 2. – P. 495–506.
25. *Hennenberg M., Trebicka J., Sauerbruch T., Heller J.* Mechanisms of extrahepatic vasodilation in portal hypertension // *Gut.* – 2008. – Vol. 57, N 9. – P. 1300–1314.
26. *Hennenberg M., Trebicka J., Stark C.* et al. Sorafenib targets dysregulated Rho kinase expression and portal hypertension in rats with secondary biliary cirrhosis // *Brit. J. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 157, N 2. – P. 258–270.
27. *Inserte J., Perello A., Agullo L.* et al. Left ventricular hypertrophy in rats with biliary cirrhosis // *Hepatology.* – 2003. – Vol. 38, N 3. – P. 589–598.
28. *Ito Y., Bethea N.W., Baker G.L.* et al. Hepatic microcirculatory dysfunction during cholestatic liver injury in rats // *Microcirculation.* – 2003. – Vol. 10, N 5. – P. 421–432.
29. *Jensen L.S., Krarup N., Larsen A.* et al. Chronic portal venous hypertension. The effect on liver blood flow and liver function and the development of esophageal varices // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1987. – Vol. 22, N 4. – P. 463–470.
30. *Jeong H.G.* Inhibition of cytochrome P450 2E1 expression by oleanolic acid: hepatoprotective effects against carbon tetrachloride-induced hepatic injury // *Toxicol. Lett.* – 1999. – Vol. 105, N 3. – P. 215–222.
31. *Jiang Y., Liu J., Waalkes M., Kang Y.J.* Changes in the gene expression associated with carbon tetrachloride-induced liver fibrosis persist after cessation of dosing in mice // *Toxicol. Sci.* – 2004. – Vol. 79, N 2. – P. 404–410.
32. *Jonassen T.E.N., Brond L., Torp M.* Effects of renal denervation on tubular sodium handling in rats with CBL-induced liver cirrhosis // *Am. J. Renal. Physiol.* – 2002. – Vol. 284. – P. 555–563.
33. *Jurzik L., Froh M., Straub R.H.* et al. Up-regulation of nNOS and associated increase in nitergic vasodilation in superior mesenteric arteries in pre-hepatic portal hypertension // *J. Hepatol.* – 2005. – Vol. 43, N 2. – P. 258–265.
34. *Kai S., Bandoh T., Ohta M.* et al. Expression of endothelin receptors in the gastric mucosa of portal hypertensive rats // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2006. – Vol. 21, N 1, Pt. 2. – P. 242–250.
35. *Kreft B., Dombrowski F., Block W.* et al. Evaluation of different models of experimentally induced liver cirrhosis for MRI research with correlation to histopathologic findings // *Invest. Radiol.* – 1999. – Vol. 34, N 5. – P. 360–366.

36. *Laleman W., van der Elst I., Zeegers M.* et al. A stable model of cirrhotic portal hypertension in the rat: thioacetamide revisited // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2006. – Vol. 36, N 4. – P. 242–249.
37. *Laleman W., van Landeghem L., van der Elst I.* et al. Nitroflurbiprofen, a nitric oxide-releasing cyclooxygenase inhibitor, improves cirrhotic portal hypertension in rats // *Gastroenterology.* – 2007. – Vol. 132, N 2. – P. 709–719.
38. *Lavica B., Gracia-Sancho J., Rodriguez-Vilarrupla A.* et al. Superoxide dismutase gene transfer reduces portal pressure in CCl₄ cirrhotic rats with portal hypertension // *Gut.* – 2009. – Vol. 58, N 1. – P. 118–125.
39. *Li X.N., Benjamin I.S., Alexander B.* A new rat model of portal hypertension induced by intraportal injection of microspheres // *World J. Gastroenterol.* – 1998. – Vol. 4, N 1. – P. 66–69.
40. *Li X.N., Benjamin I.S., Alexander B.* Reproducible production of thioacetamide-induced macronodular cirrhosis in the rat with no mortality // *J. Hepatol.* – 2002. – Vol. 36, N 4. – P. 488–493.
41. *Lopez-Talavera J.C., Cadelina G., Olchowski J.* et al. Thalidomide inhibits tumor necrosis factor alpha, decreases nitric oxide synthesis, and ameliorates the hyperdynamic circulatory syndrome in portal-hypertensive rats // *Hepatology.* – 1996. – Vol. 23, N 6. – P. 1616–1621.
42. *Luo B., Liu L., Tang L.* et al. ET-1 and TNF-alpha in HPS: analysis in prehepatic portal hypertension and biliary and nonbiliary cirrhosis in rats // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2004. – Vol. 286, N 2. – P. 294–303.
43. *Matei V., Rodriguez-Vilarrupla A., Deulofeu R.* et al. Three-day tetrahydrobiopterin therapy increases *in vivo* hepatic NOS activity and reduces portal pressure in CCl₄ cirrhotic rats // *J. Hepatol.* – 2008. – Vol. 49, N 2. – P. 192–197.
44. *Mejias M., Garcia-Pras E., Tiani C.* et al. Beneficial effects of sorafenib on splanchnic, intrahepatic, and portocollateral circulations in portal hypertensive and cirrhotic rats // *Hepatology.* – 2009. – Vol. 49, N 4. – P. 1245–1256.
45. *Murad S.D., Dom V.A., Ritman E.L.* et al. Early changes of the portal tract on microcomputed tomography images in a newly-developed rat model for Budd-Chiari syndrome // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2008. – Vol. 23, N 10. – P. 1561–1566.
46. *Natsume M., Tsuji H., Harada A.* et al. Attenuated liver fibrosis and depressed serum albumin levels in carbon tetrachloride-treated IL-6-deficient mice // *J. Leukoc. Biol.* – 1999. – Vol. 66, N 4. – P. 601–608.
47. *Nishida R., Inoue R., Takimoto Y., Kita T.* Esophageal varices in rat models of liver cirrhosis // *Dig. Dis. Sci.* – 1998. – Vol. 43, N 6. – P. 1296–1301.
48. *Oberti F., Sogni P., Cailmail S.* et al. Role of prostacyclin in hemodynamic alterations in conscious rats with extrahepatic or intrahepatic portal hypertension // *Hepatology.* – 1993. – Vol. 18, N 3. – P. 621–627.
49. *Ohita M., Tanoue K., Tarnawski A.S.* et al. Overexpressed nitric oxide synthase in portal-hypertensive stomach of rat: A key to increased susceptibility to damage? // *Gastroenterology.* – 1997. – Vol. 112, N 6. – P. 1920–1930.
50. *Orfila C., Lepert J.C., Alric L.* et al. Expression of TNF-alpha and immunohistochemical distribution of hepatic macrophage surface markers in carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in rats // *Histochem. J.* – 1999. – Vol. 31, N 10. – P. 677–685.
51. *Pereira R.M., dos Santos R.A.S., Oliveira E.A.* et al. Development of hepatorenal syndrome in bile duct ligated rats // *World J. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 14, N 28. – P. 4505–4511.
52. *Reynaert H., Urbain D., Geerts A.* Regulation of sinusoidal perfusion in portal hypertension // *Anat. Rec.* – 2008. – Vol. 291. – P. 693–698.
53. *Sarin S.K., Mosca P., Sabba C., Groszmann R.J.* Hyperdynamic circulation in chronic murine schistosomiasis model of portal hypertension // *Hepatology.* – 1991. – Vol. 13, N 3. – P. 581–584.
54. *Sikuler E., Kravetz D., Groszmann R.J.* Evolution of portal hypertension and mechanisms involved in its maintenance in a rat model // *Am. J. Physiol.* – 1985. – Vol. 248, N 6, Pt. 1. – P. 618–625.
55. *Tazi K., Moreau R., Herve P.* et al. Norfloxacin reduces aortic NO synthases and proinflammatory cytokine up-regulation in cirrhotic rats: role of Akt signaling // *Gastroenterology.* – 2005. – Vol. 129, N 1. – P. 303–314.
56. *Trebicka J., Hennenberg M., Laleman W.* et al. Atorvastatin lowers portal pressure in cirrhotic rats by inhibition of RhoA/Rho-kinase and activation of endothelial nitric oxide synthase // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 46, N 1. – P. 242–253.
57. *Tu C.T., Guo J.S., Wang M., Wang J.Y.* Antifibrotic activity of rofecoxib *in vivo* is associated with reduced portal hypertension in rats with carbon tetrachloride-induced liver injury // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2007. – Vol. 22, N 6. – P. 877–884.
58. *Vallance P., Moncada S.* Hypothesis: induction of nitric oxide synthase in the vasculature underlies the hyperdynamic circulation of cirrhosis // *Lancet.* – 1991. – Vol. 337. – P. 776–778.
59. *Van de Castele M., van Pelt J.F., Nevens F.* et al. Low NO bioavailability in CCl₄ cirrhotic rat livers might result from low NO synthesis combined with decreased superoxide dismutase activity allowing superoxide-mediated NO breakdown: A comparison of two portal hypertensive rat models with healthy controls // *Comp. Hepatol.* – 2003. – Vol. 2, N 1. – P. 1–8.
60. *Veal N., Oberti F., Moal F.* et al. Spleno-renal shunt blood flow is an accurate index of collateral circulation in different models of portal hypertension and after pharmacological changes in rats // *J. Hepatol.* – 2000. – Vol. 32, N 3. – P. 434–440.
61. *Vorobioff J., Bredfeldt J.E., Groszmann R.J.* Hyperdynamic circulation in portal-hypertensive rat model: A primary factor for maintenance of chronic portal hypertension // *Am. J. Physiol.* – 1983. – Vol. 244, N 1. – P. 52–57.
62. *Vorobioff J., Bredfeldt J.E., Groszmann R.J.* Increased blood flow through the portal system in cirrhotic rats // *Gastroenterology.* – 1984. – Vol. 87, N 4. – P. 1120–1126.
63. *Xu B., Zhu G.H., Weng J.F.* et al. The roles of caveolin-1 and endothelial nitric oxide synthase in the development of portal hypertension in rats with liver cirrhosis // *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* – 2008. – Vol. 16, N 3. – P. 184–187.
64. *Zipprich A.* Hemodynamics in the isolated cirrhotic liver // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2007. – Vol. 41 (suppl. 3). – P. 254–258.