



В.Б. Борисенко

Харьковская медицинская  
академия последипломного  
образования

© В.Б. Борисенко

## НОВЫЙ СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ОСТРОГО ГНОЙНОГО ХОЛАНГИТА И БИЛИАРНОГО СЕПСИСА

**Резюме.** В эксперименте на 36 крысах разработан новый способ моделирования острого гнойного холангита и билиарного сепсиса для формирования которого помимо пункции и инфицирования желчи холедоха производилась травматизация его слизистой. Разработанный способ обеспечивает развитие острого гнойного холангита и билиарного сепсиса уже с третьих суток эксперимента, что подтверждается данными бактериологического исследования желчи и крови, а так же данными патоморфологических исследований холедоха, печени, сердца, легких, почек и регионарных лимфоузлов. Выявлено снижение количества и функциональной активности Купферовских клеток печени и развитие системного иммунодефицита: в иммунокомпетентных органах (селезенка, лимфоузлы) вслед за начальной гиперплазией (3,7 сутки) отмечается их истощение (21, 30 сутки).

**Ключевые слова:** механическая желтуха, острый гнойный холангит, билиарный сепсис.

### Введение

До настоящего времени остается недостаточно изученным патогенез острого гнойного холангита (ОГХ) и билиарного сепсиса (БС) на фоне механической желтухи с нарастающей внутрипротоковой гипертензией, бактериохолитом, а так же повреждением слизистой желчных протоков [1, 4]. Открытыми остаются вопросы характера патоморфологических изменений холедоха, паренхимы печени, а также других органов-мишеней при развившемся ОГХ и БС.

В доступной литературе данные, касающиеся описания способов моделирования БС у животных отсутствуют, а ОГХ и малоинформативны. Основой всех предложенных методик [3, 6] является создание препятствия оттоку желчи по холедоху с введением в его просвет микробной взвеси, что вызывает развитие инфекции в нем. Одной из наиболее информативных является модель ОГХ у лабораторных крыс, разработанная Г.Г. Ахаладзе (1994) с использованием микрохирургической техники и специальных инструментов [2], а так же способ, описанный И.Л. Зарей (1994), заключающийся в пункционном введении культуры *E. Coli* в просвет холедоха с последующей перевязкой и механической травмой общего желчного протока выше места его пункции [5]. Недостатком этого способа является фактор повреждения всех слоев холедоха в месте его компрессии с развитием их некроза, что не соответствует механизмам повреждения слизистой холедоха при доброкачественных заболеваниях желчных протоков и, в частности, при холедохолитиазе.

Кроме того, описанные способы позволяют получить ОГХ с патоморфологическими изменениями в стенке холедоха не ранее, чем на 7 сутки эксперимента, что не соответствует условиям клинического течения заболевания.

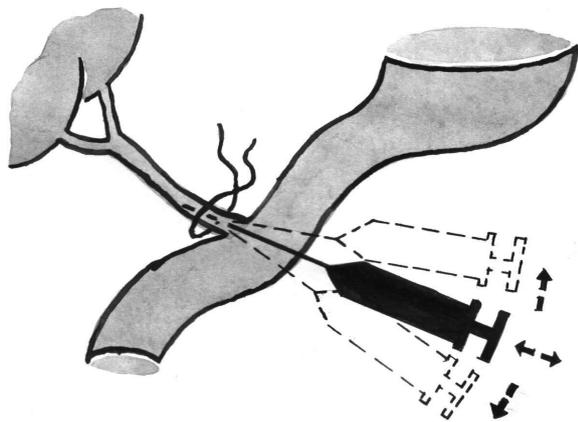
### Материалы и методы исследования

Проведено экспериментальное исследование на 36 крысах популяции Вистар в условиях вивария ХМАПО. Животные массой 160-220 г были разделены на две группы. Группу сравнения составили 6 животных (показатели нормы), основную – 30 животных.

Животным основной группы в условиях внутримышечного кетаминowego наркоза (50 мг/кг веса) выполнялась верхне-срединная лапаротомия, после чего под дистальную часть общего желчного протока подводилась капроновая лигатура. Путем пункции холедоха инсулиновым шприцом дистальнее лигатуры в его просвет вводилось  $\approx 0,1$  мл микробной взвеси *E. Coli* (ГИСК 240533) в концентрации  $1 \times 10^8$  КОЕ в 1 мл физиологического раствора. На фоне возникшего расширения холедоха, путем нескольких возвратно-поступательных движений иглой шприца производилось «процарапывание» (травматизация) слизистой холедоха, после чего затягивалась ранее наложенная лигатура проксимальнее места инъекции (рис.1).

Животных выводили из эксперимента путем введения летальной дозы анестетика (кетамин внутримышечно в дозе 100 мг/кг), по 6 особей на 3, 7, 14, 21 и 30-е сутки. В указанные выше сроки, всем животным во время аутопсии в асептических условиях производили забор желчи из расширенного холедоха, а также

крови из левого желудочка сердца для проведения их микробиологического исследования.



**Рис.1** Способ моделирования гнойного холангита с изолированным повреждением слизистой холедоха (объяснение в тексте).

Для микроскопического исследования производили забор кусочков печени, общего желчного протока, легкого, селезенки, почки и внутрибрюшных регионарных лимфоузлов.

Материал фиксировали в 10 % водном растворе нейтрального формалина и подвергали спиртовой и парафиновой проводке. Готовили серийные срезы толщиной  $4-5 \times 10^{-6}$  м, а препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

Микроскопически оценивали степень выраженности дистрофических, некробиотических, гемодинамических и воспалительных изменений, состояние ретикулоэндотелиальной системы печени по общему среднему количеству Купферовых клеток в ограниченном поле зрения (ОПЗ) –  $(3,124 \times 10^{-7} \text{ м}^2)$ . Кроме того, оценивали среднюю толщину стенки холедоха и высоту его эпителия.

Все манипуляции на животных осуществляли в соответствии с международными требованиями к проведению экспериментов на животных.

### Результаты исследования и их обсуждение

При макроскопическом изучении у выведенных из эксперимента, по срокам исследования животных во всех случаях выявлено расширение общего желчного протока от  $0,4 \pm 0,03$  см на 3 сутки и до  $1,2 \pm 0,05$  см на 30 сутки, утолщение стенки и перихоледохальная инфильтрация, увеличивающиеся по срокам исследования. Отмечалось увеличение печени и изменение ее окраски (от темно- до светло-коричневой). Содержимым общего желчного протока была желчь с примесью гноя, либо густой гной.

При бактериологическом исследовании, начиная с 3 суток, у всех животных по срокам выведения из эксперимента из желчи и крови высевалась кишечная палочка.

При микроскопическом исследовании холедоха отмечалось быстрое развитие ОГХ у всех экспериментальных животных уже с 3 суток после операции, а также раннее, на 7 сутки, формирование грануляций в его стенке, что впоследствии усилило холестаза.

По данным морфометрического исследования толщина стенки холедоха составила от  $329,81 \pm 2,96$  мкм ( $p_1 < 0,001$ ) на 3 сутки до  $671,6 \pm 1,46$  мкм ( $p_1 < 0,001$ ) на 30 сутки эксперимента. Высота эпителия на участках, где он сохранился, достигала  $11 \pm 0,14$  мкм ( $p_1 < 0,001$ ) на 30 сутки.

Со стороны печени отмечены характерные изменения, проявляющиеся началом развития ее цирроза на 14 сутки с переходом в сформированный билиарный цирроз печени к 30 суткам эксперимента.

Во внутренних органах развивается интерстициальное воспаление, а в почках дополнительно еще и очаговое гнойное воспаление (пиемические очаги). В сосудах определяются геморегические нарушения в виде стазов, сладж-синдрома, развития эндотромбоваскулита.

В иммунокомпетентных органах (селезенка, лимфоузлы) после первоначальной гиперплазии (3, 7 сутки) развивается их истощение (21, 30 сутки). По данным морфометрии отмечено прогрессивное уменьшение числа Купферовских клеток от  $143,47 \pm 1,3$  ( $p_1 < 0,001$ ) на 3 сутки до  $87,8 \pm 0,81$  экземпляров в ограниченном поле зрения ( $p_1 < 0,001$ ) на 30 сутки эксперимента.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о важности фактора повреждения слизистой оболочки желчных протоков на фоне холестаза и инфекции в патогенезе более раннего развития острого гнойного холангита. Травматизация эпителия слизистой холедоха в условиях холестаза является предрасполагающим фактором для фиксации и размножения микробов, быстрого развития ОГХ, ангиохолита, бактериемии и БС.

Билиарная гипертензия и ОГХ вызывают характерные изменения микроциркуляторного русла и интерстициально-дегенеративные изменения органов-мишеней, снижение количества и функциональной активности Купферовских клеток печени, истощение иммунокомпетентных органов, что знаменует развитие иммунодефицитного состояния и соответствует морфологической картине острого бактериального сепсиса, проявляющегося с 3 суток эксперимента.

### Выводы

1. Разработанная экспериментальная модель ОГХ, обеспечивает развитие гнойного воспаления в желчных протоках с его трансформацией в БС уже на 3 сутки эксперимента.



2. Фактор повреждения слизистой холедоха имеет важное значение в патогенезе ускоренного развития ОГХ и его трансформации в БС на фоне прогрессирующей желчной гипертензии.

3. Возникающая при ОГХ прогрессирующая бактериемия обуславливает развитие синдрома системного воспалительного ответа с характерными морфологическими изменениями в органах-мишенях, соответствующими БС.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ахаладзе Г.Г. Гнойный холангит: вопросы патофизиологии и лечения / Г.Г. Ахаладзе // Consilium Medicum. – 2003. – Том 5, № 4. – С. 3 – 8.

2. Ахаладзе Г.Г. Гнойный холангит: клинические формы, определение степени тяжести, лечение: диссертация доктора мед. наук. / Г.Г. Ахаладзе. – М., 1994. – 250 с.

3. Гальперин Э.И. Билиарный сепсис: некоторые особенности патогенеза / Э.И. Гальперин, Г.Г. Ахаладзе // Хирургия. – 1999. – № 10. – С. 24 – 28.

4. Даценко Б.М. Обтурационная желтуха: патогенетическая основа развития гнойного холангита и били-

арного сепсиса / Б.М. Даценко // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2010. – № 14 (1). – С. 15–19.

5. Заря И.Л. Пути оптимизации диагностики и лечения больных острым гнойным холангитом: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук: спец. 14.00.27 «Хирургия» / И.Л. Заря. – Харьков, 1994. – 24 с.

6. Ярош А.Л. Разработка способа моделирования острого гнойного холангита у экспериментальных животных / А.Л. Ярош, Н.А. Конопля, С.В. Иванов // Успехи современного естествознания. – 2005. – № 12. – С. 62.

#### НОВИЙ СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ГОСТРОГО ГНІЙНОГО ХОЛАНГІТУ ТА БІЛІАРНОГО СЕПСИСУ

*В.Б. Борисенко*

**Резюме.** В експерименті на 36 щурах розроблений новий спосіб моделювання гострого гнійного холангіту та біліарного сепсису для формування якого окрім пункції та інфікування жовчі холедоха проводилася травматизація його слизової оболонки. Розроблений спосіб забезпечує розвиток гострого гнійного холангіту та біліарного сепсису вже з третьої доби експерименту, що підтверджено даними бактеріологічного дослідження жовчі та крові, а також даними патоморфологічних досліджень холедоха, печінки, серця, легенів, нирок і регіонарних ліфовузлів. Виявлено зниження кількості і функціональної активності Купферовських клітин печінки і розвиток системного імунодефіциту: в імунокомпетентних органах (селезінка, лімфовузли) після початкової гіперплазії (3, 7 доба) відмічається їх виснаження (21, 30 доба).

**Ключові слова:** механічна жовтяниця, гострий гнійний холангіт, біліарний сепсис.

#### NEW WAY OF ACUTE PURULENT CHOLANGITIS AND BILIARY SEPSIS MODELING

*V.B. Borisenko*

**Summary.** A new way of acute purulent cholangitis and biliary sepsis modeling was worked out in experiment on 36 rats for the formation of which besides puncture and choledoch bile infecting injuring of its mucosa was carried out. The worked out way produces the development of acute purulent cholangitis and biliary sepsis right from the 3<sup>rd</sup> day of experiment which is confirmed by the data of bacteriological study of bile and blood as well as the data of pathomorphologic study of choledoch, liver, heart, lungs, kidneys and regional lymphatic ganglions. Decrease of Cooper cells of liver quality and functional activity and the development of system immune deficit were revealed: their exhaustion is marked (21<sup>st</sup>, 30<sup>th</sup> day) following the initial hyperplasia (3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup> day) in immune competent organs (spleen, lymphatic ganglions).

**Key words:** mechanical icterus, acute purulent cholangitis, biliary sepsis.