



В. Б. Борисенко,
Н. И. Горголь,
М. М. Мишина

Харьковская медицинская
академия последипломного
образования

Харьковский национальный
медицинский университет

© Коллектив авторов

ПАТОМОРФОЛОГИЯ ХОЛЕДОХА, ПЕЧЕНИ И ДРУГИХ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОГО ХОЛАНГИТА И БИЛИАРНОГО СЕПСИСА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. В эксперименте на 30 крысах с моделью острого обтурационного холангита изучены динамические патоморфологические изменения печени, холедоха, легких, сердца, селезенки, почек и регионарных лимфоузлов. Установлено, что перевязка холедоха в сочетании с травмой его слизистой на фоне бактериохоллии и нарастающей желчной гипертензии обеспечивает у всех экспериментальных животных с трех суток развитие острого гнойного холангита, снижение количества Купферовых клеток, развитие микроабсцессов печени, а с 21 суток – билиарного цирроза печени. На фоне бактериемии и истощения иммунокомпетентных органов (селезенка, лимфоузлы) с третьих суток отмечается трансформация острого холангита в билиарный сепсис с характерными изменениями внутренних органов и микроциркуляторного русла.

Ключевые слова: обтурационная желтуха, травма слизистой холедоха, острый холангит, билиарный сепсис.

Введение

Обтурационная желтуха (ОЖ) различного генеза с синдромом нарастающего внепеченочного холестаза и восходящей бактериохоллии являются известными предсуществующими факторами развития острого холангита (ОХ) и остается актуальной проблемой современной гепатологии [2, 6]. Тяжелое течение ОХ с развитием синдрома системного воспалительного ответа и трансформацией в билиарный сепсис (БС) с явлениями полиорганной недостаточности приводит к неудовлетворительным результатам лечения и высокой летальности в этой группе больных, достигающей 25-100 % [4, 5, 7]. Недостаточно изученными остаются вопросы патогенеза ОХ и механизмы его трансформации в БС [1, 3]. Малоизученны динамические патоморфологические изменения холедоха, печени и других внутренних органов на этапах развития ОХ и БС.

Цель исследования – изучение факторов патогенеза ОХ и БС и их влияние на патоморфологические изменения холедоха, печени, легких, сердца, селезенки, почек и регионарных лимфоузлов.

Материалы и методы исследования

Эксперимент проведен в условиях вивария ХМАПО на 36 крысах линии Вистар массой 160-220 г, разделенных на две группы с соблюдением полового признака. Группу сравнения составили 6 здоровых животных, основную группу – 30 животных, которым под общей анестезией была произведена лапаротомия,

пункция холедоха в нижней трети с введением в просвет суточной культуры референтного штамма *E. Coli* (ГСК 240533) в концентрации 1×10^8 КОЕ, травматизация его слизистой и перевязка капроновой лигатурой выше места инъекции.

Все животные получали стандартное лабораторное вскармливание. Из эксперимента крысы выводились путем введения летальной дозы анестетика на 3, 7, 14, 21, 30 сутки после операции. Во время аутопсии в асептических условиях производили забор желчи из холедоха и крови из сердца для их микробиологического исследования. Производили забор кусочков печени, холедоха, легких, сердца, селезенки, почек и регионарных лимфоузлов, фиксировали их в 10 % водном растворе нейтрального формалина и в дальнейшем спиртовали и парафиновали. Серийные срезы готовили толщиной $4-5 \times 10^{-6}$ м, препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

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

Изучение микропрепаратов с последующим микрофотографированием проводили на микроскопе «Olympus BX-41». Микроскопически оценивали степень выраженности дистрофических, некробиотических, гемодинамических и воспалительных изменений. Состояние ретикулоэндотелиальной системы печени оценивали по общему среднему количеству Купферовых клеток в ограниченном поле зре-

ния (ОПЗ) – $(3,12 \times 10^{-7} \text{ м}^2)$. Кроме того, оценивали среднюю толщину стенки холедоха и высоту его эпителиальной выстилки.

Результаты исследований обрабатывали методом вариационной статистики на персональном компьютере с использованием стандартных программ корреляционного анализа с вычислением средних арифметических величин: M , m , σ с помощью электронных таблиц «Excel-5». Достоверность показателей оценивали по t -критерию Стьюдента, разницу считали достоверной при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

До трех суток послеоперационного периода животные опытной группы не отличались от контрольных, с 3 до 21 суток отмечено появление и прогрессирование ОЖ, ухудшение состояния с нарастающей гиподинамией, снижение аппетита и эпизодические ознобы. К 30 суткам, в связи с развитием БС, отмечена гибель оставшихся животных.

По результатам бактериологических посевов желчи и крови бактериемия и бактеохолия выявлены у всех животных во все сроки выведения из эксперимента.

Микроскопически стенка холедоха на 3 сутки эксперимента утолщена за счет отека с участками деструкции слизистой оболочки, глубоким протяженным разрушением эпителия и некрозами. По данным морфометрического исследования толщина стенки холедоха составляет $329,81 \pm 2,96 \text{ мкм}$ ($p_1 < 0,001$). В группе сравнения данный показатель – $255,52 \pm 1,42 \text{ мкм}$. В просвете холедоха встречаются пласты десквамированного эпителия и гнойный экссудат, на участках деструкции эпителия – наложения тромботических масс, которые имеют характер смешанных тромбов, воспалительная инфильтрация, проникающая на всю глубину слизистой оболочки холедоха, представленная нейтрофильными гранулоцитами (рис. 1).

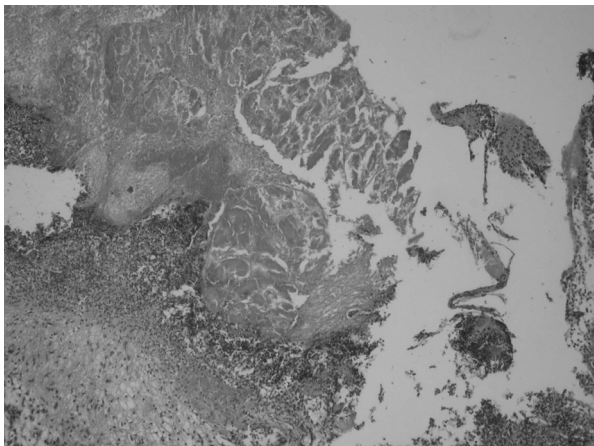


Рис. 1. Участок деструкции слизистой оболочки холедоха с разрушением эпителия и глубоким некрозом. Опытная группа. 3 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

Дольковая структура печени сохранена. Центральные вены и межбалочные капилляры расширены, полнокровны. Отмечается резкое уменьшение количества Купферовых клеток до $143,47 \pm 1,3$ экз. в ОПЗ, что достоверно ($p_1 < 0,001$) меньше показателя группы сравнения – $(253,7 \pm 1,51 \text{ экз.})$. Определяются крупные очаги некроза печеночной паренхимы и внутридольковые воспалительные инфильтраты, представленные лимфогистиоцитарными элементами со значительной примесью нейтрофильных гранулоцитов (рис. 2). Встречаются очаги гнойного воспаления (микроабсцессы). Гепатоциты в состоянии зернистой белковой, а так же гидропической и жировой дистрофии. Портальные тракты удлинены, отмечается лимфогистиоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофильных гранулоцитов в портальной и перипортальной строме печени. Желчные протоки с признаками пролиферации холангиоцитов, в стенках которых определяются воспалительные инфильтраты, в просвете содержится желчь (интраканикулярный холестаза).

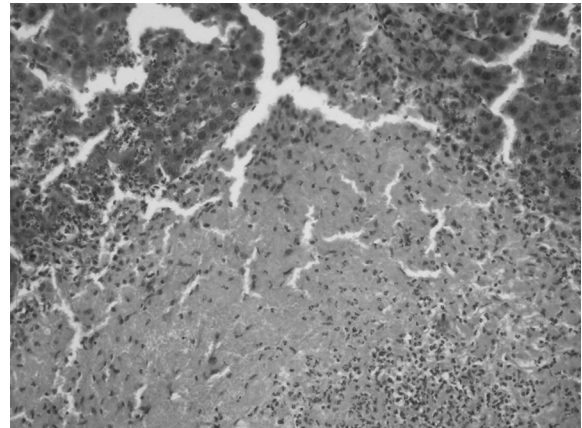


Рис. 2. Очаг некроза печеночной паренхимы с вторичным нагноением и формированием микроабсцесса. Опытная группа. 3 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

В корковом веществе почек определяются почечные клубочки неравномерной величины с суженными субкапсулярными пространствами, мезангий и капилляры клубочков расширены инфильтрированы лимфогистиоцитарными элементами. Просветы канальцев сужены, содержат гомогенные эозинофильные массы. Цитоплазма эпителия канальцев с явлениями зернистой и гидропической дистрофии, а также очагами некроза. В интерстиции определяются очаговые лимфогистиоцитарные инфильтраты с примесью нейтрофильных гранулоцитов. Сосуды интерстиции умеренно полнокровные с периваскулярными лимфогистиоцитарными инфильтратами.

В сердце кардиомиоциты равномерной величины, саркоплазма с очагами базофилии, ядра крупные, светлые. Отмечается отек интерсти-



ции с небольшими очаговыми скоплениями лимфогистиоцитарных элементов и умеренное полнокровие сосудов.

В легочной паренхиме чередуются участки эмфиземы и ателектазов. Межальвеолярные перегородки тонкие с небольшими лимфогистиоцитарными инфильтратами. Сосуды умеренно полнокровные с признаками продуктивного эндо- и периваскулита. Просветы бронхов округлой или звездчатой формы, бронхиальный эпителий сохранен. Перибронхиальная лимфоидная ткань с признаками реактивной гиперплазии с выраженной макрофагальной реакцией.

В белой пульпе селезенки обнаруживаются крупные лимфоидные фолликулы округлой или овальной формы, сливающиеся между собой. В фолликулах определяются широкие периартериальные Т-зоны с высокой плотностью расположения лимфоцитов и В-зоны. В большинстве фолликулов отмечаются светлые центры. Красная пульпа представлена большим числом венозных синусов, в ней отмечаются крупные скопления Т-лимфоцитов, макрофагов и плазматических клеток.

В лимфоузлах лимфоидные фолликулы округлые с реактивными центрами и широкими Т- и В-зонами. В просветах синусов мозгового вещества обнаруживаются малые лимфоциты и немногочисленные макрофаги.

В микропрепаратах холедоха на 7 сутки отмечается массивная нейтрофильная инфильтрация всей толщи стенки холедоха с обширным некрозом слизистой оболочки не только в зоне механической травмы холедоха, но и в вышележащих его отделах, а также внутрипеченочных протоках. На серийных срезах определяется сглаженность слизистой оболочки или тотальное разрушение эпителиального покрова (рис. 3). В стенке холедоха на фоне ее резкого утолщения определяются многочисленные микроабсцессы, а в просвете холедоха скопление гнойного экссудата. По данным морфометрического исследования толщина стенки холедоха составляет $454,87 \pm 0,84$ мкм ($p_1 < 0,001$). Высоту эпителия не определяли по причине тотального разрушения эпителиальной выстилки.

В печени помимо вышеуказанных изменений предыдущего срока отмечается прогрессивное уменьшение количества Купферовых клеток достигающее $132,77 \pm 0,71$ экз. в ОПЗ ($p_1 < 0,001$).

В почках клубочки неравномерной величины с расширенным мезангием и капиллярными петлями, инфильтрированными лимфогистиоцитарными элементами. Просветы канальцев расширены, цитоплазма эпителия канальцев с явлениями тяжелой гидропической дистрофии, а также многочисленными

очагами некроза (рис. 4). В интерстиции определяются очаговые лимфогистиоцитарные инфильтраты с примесью нейтрофильных гранулоцитов. Сосуды интерстиция умеренно полнокровные с периваскулярными лимфогистиоцитарными инфильтратами.

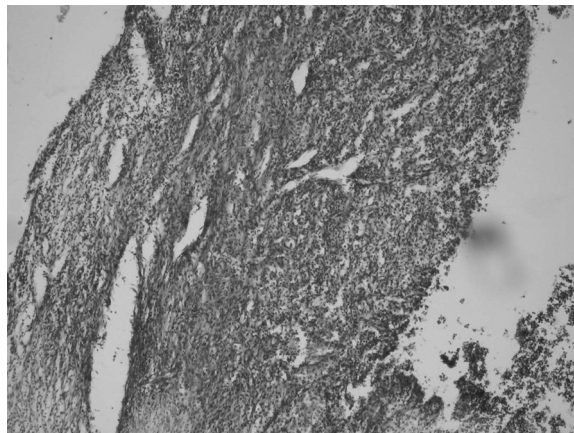


Рис. 3. Массивная нейтрофильная инфильтрация стенки холедоха с некрозом слизистой оболочки и тотальным разрушением эпителиального покрова. Опытная группа. 7 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

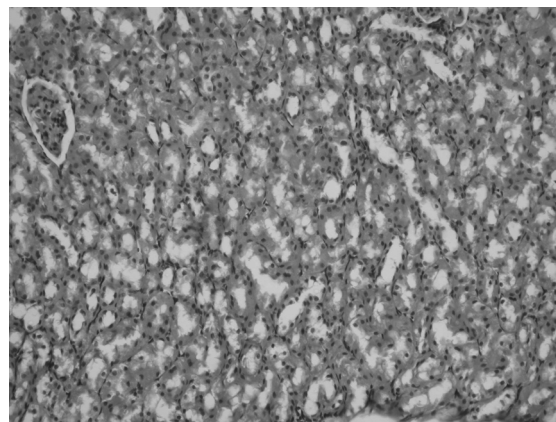


Рис. 4. Просветы канальцев почки расширены, цитоплазма эпителия с тяжелой гидропической дистрофией, многочисленные очаги некроза. Основная группа. 7 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

Кардиомиоциты равномерной величины, саркоплазма с очагами базофилии, ядра крупные, светлые. Отмечается отек интерстиция с очаговыми скоплениями лимфогистиоцитарных элементов (рис. 5). В микрососудах картина эндо- и периваскулита, а также признаки сладжирования эритроцитов и микротромбы.

В легочной паренхиме чередуются участки эмфиземы и ателектазов. Межальвеолярные перегородки тонкие с небольшими лимфогистиоцитарными инфильтратами. Сосуды умеренно полнокровные с признаками продуктивного эндо- и периваскулита. Просветы бронхов округлой или звездчатой формы, бронхиальный эпителий сохранен. Перибронхиальная лимфоидная ткань без признаков гиперплазии.

В белой пульпе селезенки обнаруживаются крупные лимфоидные фолликулы округлой или овальной формы, сливающиеся между собой. В фолликулах определяются широкие периартериальные Т-зоны с высокой плотностью расположения лимфоцитов. В большинстве фолликулов отмечаются светлые центры. Красная пульпа представлена большим числом венозных синусов, в ней отмечаются крупные скопления Т-лимфоцитов, макрофагов и плазматических клеток.

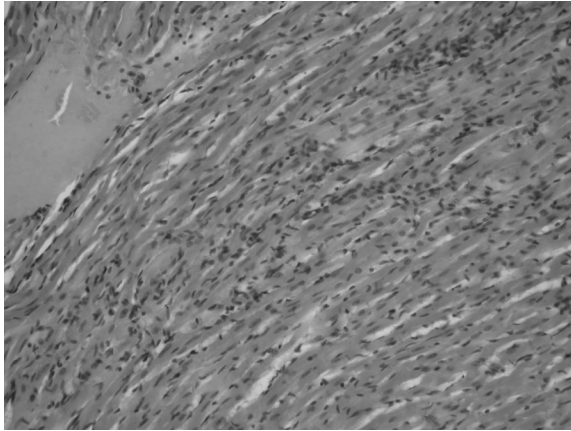


Рис. 5. Отек сердечного интерстиция с очаговыми скоплениями лимфогистиоцитарных элементов. Основная группа. 7 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

В лимфоузлах лимфоидные фолликулы округлые с реактивными центрами и широкими Т- и В-зонами. В просветах синусов мозгового вещества обнаруживаются малые лимфоциты и немногочисленные макрофаги.

На 14 сутки эксперимента определяется резкое утолщение стенки холедоха вследствие отека и массивной нейтрофильной инфильтрации всех его слоев, глубокий и протяженный некроз слизистой оболочки, что подтверждает изучение серийных срезов холедоха. По данным морфометрического исследования толщина стенки холедоха составляет $680,25 \pm 2,12$ мкм ($p_1 < 0,001$). В просвете холедоха обнаруживается скопление гнойного экссудата, а в его стенке определяются островки грануляционной ткани, диффузно инфильтрированной нейтрофильными гранулоцитами, а также многочисленные микроабсцессы.

В печени отмечается дисконкомплексация печеночных балок и гепатоцитов. Центральные вены и межбалочные капилляры расширены, полнокровны. Очаговые некрозы гепатоцитов сочетаются с выраженной гидропической и жировой дистрофией гепатоцитов, а также выраженной инфильтрацией паренхимы печени лимфогистиоцитарными элементами с примесью нейтрофильных гранулоцитов (межуточным гепатитом), внутриклеточным и внеклеточным холестазом. Отмечается уменьшение количества Купферовых клеток до $21,37 \pm 0,91$ экз. в ОПЗ ($p_1 < 0,001$). В удлинённых портальных

трактах выраженная инфильтрация лимфогистиоцитарными элементами и нейтрофильными гранулоцитами. Отмечается пролиферация желчных протоков всех калибров, в стенках которых определяется гнойное воспаление (рис. 6).

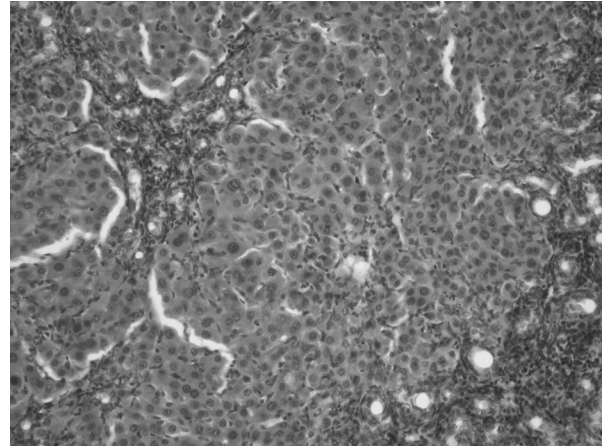


Рис. 6. Дисконкомплексация печеночных балок и гепатоцитов. Проплиферация желчных протоков с гнойным воспалением их стенок. Основная группа. 14 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

В почках определяются набухшие клубочки, субкапсулярные пространства сужены, отмечается микротромбоз капилляров клубочков и инфильтрация мезангия лимфогистиоцитарными элементами. Просветы извитых канальцев сужены, эпителий с признаками белковой и вакуольной дистрофии и некроза с образованием некротического детрита, который выполняет просвет канальцев; значительный отек интерстиция, в котором определяются очаговые лимфогистиоцитарные инфильтраты с примесью нейтрофильных гранулоцитов. Сосуды интерстиция значительно гиперемизированы с периваскулярными лимфогистиоцитарными инфильтратами.

Кардиомиоциты равномерной величины, саркоплазма с очагами базофилии, ядра крупные, светлые. Отмечается отек интерстиция с небольшими очаговыми скоплениями лимфогистиоцитарных элементов. В микрососудах картина эндо- и периваскулита, а также признаки сладжирования эритроцитов и микротромбоз.

В легочной паренхиме отмечаются стереотипные изменения соответствующие предыдущему сроку.

В селезенке отмечается увеличение объема красной пульпы, а в ней крупные скопления Т-лимфоцитов, макрофагов и плазматических клеток. В белой пульпе селезенки редукция лимфатических фолликулов, исчезновение лимфоцитов, особенно малых, небольшие участки некрозов лимфатических фолликулов и гиперплазия миелоидных клеток, преимущественно нейтрофильного ряда, что



указывает на развитие иммунодефицитного состояния.

В лимфатических узлах фолликулы с небольшими реактивными центрами. Отмечается истощение Т- и В-зон. В просветах синусов мозгового вещества обнаруживаются малые лимфоциты и немногочисленные макрофаги.

На 21 сутки эксперимента определяется отек и массивная нейтрофильная инфильтрация всех слоев холедоха, обширный некроз слизистой оболочки. Толщина стенки холедоха составляет $623,25 \pm 2,17$ мкм ($p_1 < 0,001$). В просвете обнаруживается гной, а в его стенке – микроабсцессы и островки грануляционной ткани. В участках сохраненной эпителиальной выстилки высота эпителия составляет $10,44 \pm 0,13$ мкм ($p_1 < 0,001$). В микрососудах холедоха отмечается продуктивный эндотромбоваскулит и периваскулит, а также гемореологические изменения, начиная от сладжирования эритроцитов крови до эритроцитарных микротромбов, в которых присутствуют гемолизированные эритроциты.

В печени отмечается нарушение балочного строения печени. Центральные вены и межбалочные капилляры расширены, полнокровны, явления пелиоза (токсическое расширение синусоидов). Очаги центрлобулярного колликвационного некроза; выраженной гидропической и жировой дистрофии гепатоцитов, а также инфильтрации портальных трактов лимфогистиоцитарными элементами с примесью плазматических клеток и нейтрофильных гранулоцитов. Отмечается резкое уменьшение количества Купферовых клеток до $110,9 \pm 0,89$ экз. в ОПЗ ($p_1 < 0,001$). Имеет место пролиферация желчных протоков всех калибров, в стенках которых определяется гнойное воспаление. Внутриклеточный и внеклеточный холестаза.

В почках клубочки набухшие, отмечаются сладжи и микротромбоз капилляров клубочков, инфильтрация мезангия лимфогисти-

оцитарными элементами. Эпителий извитых канальцев с признаками белковой и вакуольной дистрофии и обширными некрозами с образованием некротического детрита. Отек интерстиция со скоплениями в нем очаговых лимфогистиоцитарных инфильтратов с примесью нейтрофильных гранулоцитов. Сосуды интерстиция значительно гиперемированы с периваскулярными лимфогистиоцитарными инфильтратами.

В сердце отмечаются изменения сходные с предыдущим сроком.

В легких отмечается чередование участков эмфиземы и ателектазов. Межальвеолярные перегородки тонкие с небольшими лимфогистиоцитарными инфильтратами. Сосуды умеренно полнокровные с тромбозом, признаками продуктивного эндотромбоваскулита и периваскулита. Просветы бронхов округлой или звездчатой формы, бронхиальный эпителий целостный. Перибронхиальная лимфоидная ткань слабо выражена.

В селезенке и лимфоузлах определяются изменения характерные для иммунодефицитного состояния сходные с предыдущим сроком.

Выводы

1. Результаты эксперимента свидетельствуют, что механическая травма эпителия слизистой оболочки холедоха в условиях холестаза и бактериохолии создает благоприятные условия для фиксации, размножения микробов определяя быстрое развитие гнойно-деструктивного холангита и его трансформацию в БС с характерными изменениями иммунных, внутренних органов и микроциркуляторного русла уже на третьи сутки эксперимента.

2. Таким образом, в патогенезе ОХ и БС помимо двух известных факторов (холестаза и инфекция) третьим существенным фактором является повреждение слизистой желчных путей, что имеет важное клиническое значение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахаладзе Г.Г. Морфологические и микроциркуляторные изменения печени при механической желтухе и холангите / Г.Г. Ахаладзе // Актуальные проблемы хирургической гепатологии: XVI международный конгресс хирургов-гепатологов стран СНГ: тезисы докладов. – Екатеринбург. – 2009. – С.108.

2. Брискин Б.С. Эндоскопическая санация общего желчного протока и холангиоэнтеросорбция при лечении холангита и механической желтухи / Б.С. Брискин, Д.А. Демидов // Эндоскопическая хирургия. – 2005. – № 4. – С.3-8.

3. Даценко Б.М. Обтурационная желтуха: патогенетическая основа развития гнойного холангита и билиарного сепсиса / Б.М. Даценко // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2010. – № 14(1). – С. 15-19.

4. Годлевський А.І. Оцінка впливу способу біліарної декомпресії на перебіг післяопераційного періоду у хворих

з обтураційною жовтяницею / А.І. Годлевський, С.І. Саволук // Клінічна хірургія. – 2007. – № 1. – С.30-32.

5. Захараш М.П. Мініінвазивні втручання в комплексному лікуванні хворих на механічну жовтяницю, ускладнену гнійним холангітом та біліарним сепсисом / М.П. Захараш, Ю.М. Захараш, О.В. Усова // Шпитальна хірургія. – 2008. – № 4. – С. 13-16.

6. Обґрунтування показів до методів корекції біліарної гіпертензії / О.Є. Каніковський, О.В. Харчук, Ю.П. Гнатюк [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2009. – Том 11. – № 1(33). – С. 59-63.

7. Presence of white bile associated with lower survival in malignant biliary obstruction / V. Ahuja, P.K. Garg, D. Kumar [et al.] // Gastrointestinal Endoscopy. – 2002. – Vol. 55. – № 1. – P. 86-91.

ПАТОМОРФОЛОГІЯ
ХОЛЕДОХА, ПЕЧІНКИ
ТА ІНШИХ ВНУТРІШНІХ
ОРГАНІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ
ГОСТРОГО ХОЛАНГІТУ
ТА БІЛІАРНОГО СЕПСИСУ
В ЕКСПЕРИМЕНТІ

*В.Б. Борисенко,
Н.І. Горголь,
М.М. Мішина*

Резюме. В експерименті на 30 щурах з моделлю гострого обтураційного холангіту вивчені динамічні патоморфологічні зміни печінки, холедоха, легенів, серця, селезінки, нирок і регіонарних лімфовузлів. Встановлено, що перев'язка холедоха в поєднанні з травмою його слизової на тлі бактеріохолії та наростаючої жовчної гіпертензії забезпечує у всіх експериментальних тварин з третьої доби розвиток гострого гнійного холангіту, зниження кількості Купферових клітин, розвиток мікроабсцесів печінки, а з 21 доби – біліарного цирозу печінки. На тлі бактеріємії й виснаження імунокомпетентних органів (селезінка, лімфовузли) з третьої доби відмічається трансформація гострого холангіту в біліарний сепсис із характерними змінами внутрішніх органів і мікроциркуляторного русла.

Ключові слова: *обтураційна жовтяниця, травма слизової холедоха, гострий холангіт, біліарний сепсис.*

CHOLEDOCH, LIVER
AND OTHER INNER ORGANS
PATHOMORPHOLOGY UNDER
MODELING OF ACUTE
CHOLANGITIS AND BILIAR
SEPSIS IN EXPERIMENT

*V.B. Borisenko,
N.I. Gorgol,
M.M. Mishina*

Summary. Dynamic pathomorphologic changes of liver, choledoch, lungs, heart, spleen, kidneys and regional lymphatic glands were studied in experiment on 30 rats with experimental model of acute obturative cholangitis. It was stated that bandaging of choledoch together with its mucous trauma on the background of bacteriocholy and increasing gall hypertension provide the development of acute purulent cholangitis from the 3rd day in all experimental animals as well as decrease of Kupffer cells number, progressing of liver microabscesses and at last biliar liver cirrhoses – from the 21st day. On the background of bacteriemia and immune organs (spleen, lymphatic glands) exhaustion transformation of acute cholangitis into biliar sepsis with typical changes of inner organs and microcirculatory channel is marked.

Key words: *obturative icterus, choledoch mucous trauma, acute cholangitis, biliar sepsis.*