



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

Харьковская медицинская
академия последипломного
образования

Харьковский национальный
медицинский университет

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

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

Резюме. Изучены динамические патоморфологические изменения печени, холедоха, легких, сердца, селезенки, почек и регионарных лимфоузлов у 30 крыс с экспериментальной моделью острого холангита. Установлено, что бактериохолия на фоне механической желтухи приводит, с 14 суток, к началу развития, а к 30 суткам – формированию билиарного цирроза печени. В наблюдениях, где сохранился эпителий слизистой холедоха, отмечаются умеренные воспалительные изменения холедоха, печени и других органов. В случаях деэпителизации слизистой с 7 суток развивается гнойный холангит, трансформирующийся в билиарный сепсис с тяжелыми дистрофическими и некробиотическими процессами в органах-мишенях, гиперпластической перестройкой иммунных органов (селезенка, лимфатические узлы, лимфоидная ткань легких). В печени начальное увеличение количества Купферовых клеток, с 7 суток сменяется прогрессивным уменьшением их количества.

Ключевые слова: механическая желтуха, острый холангит, билиарный сепсис, патогенез.

Введение

Механическая желтуха (МЖ) с нарастающей желчной гипертензией и бактериохолией являются основными патогенетическими факторами развития острого холангита (ОХ), который может трансформироваться в билиарный сепсис (БС), проявляющийся синдромами системного воспалительного ответа, полиорганной недостаточности и приводит к высокой летальности, достигающей 90 % [5, 7]. Сомнительной и недостаточно изученной в рамках патогенеза ОХ и БС выглядит концепция бактериальной транслокации [6, 8], неясны механизмы развития бактериохолии [2, 3] малоизученны предрасполагающие факторы, причины и механизмы трансформации МЖ в ОХ, а затем и в БС [1, 4]. Недостаточно изучены динамические патоморфологические изменения холедоха, печени и других внутренних органов, а также их различия при МЖ, ОХ и БС.

Цель исследования. Изучение механизмов трансформации МЖ в ОХ и БС, и их влияние на динамические патоморфологические изменения холедоха, печени, легких, сердца, селезенки, почек и регионарных лимфоузлов.

Материалы и методы исследования

Экспериментальная часть работы выполнена в условиях вивария ХМАПО на 36 крысах популяции Вистар массой 160-220 г, разделенных на две группы с соблюдением полового признака. Группу сравнения составили 6 здоровых животных. Животным основной группы (30 крыс)

в условиях общей анестезии выполнена лапаротомия, введение в просвет холедоха суточной культуры референтного штамма *E. Coli* (ГІСК 240533) в концентрации 1×10^8 КОЕ и перевязка общего желчного протока в средней трети капроновой лигатурой выше места инъекции. Животные находились на стандартном лабораторном вскармливании, из эксперимента выводились на 3, 7, 14, 21, 30 сутки после операции путем введения летальной дозы анестетика.

Во время аутопсии в асептических условиях производили забор желчи из расширенного холедоха, а также крови из левого желудочка сердца для проведения их микробиологического исследования. Для патоморфологического исследования производили забор кусочков печени, холедоха, легких, сердца, селезенки, почек и регионарных лимфоузлов, их фиксацию в 10 % водном растворе нейтрального формалина, последующую спиртовую и парафиновую проводку. Готовили серийные срезы толщиной $4-5 \times 10^{-6}$ м и окрашивали препараты 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 VX-41». Микроскопически оценивали степень выраженности дистрофических, некробиотических, гемодинамических и воспалительных изменений. Состоя-



ние ретикулоэндотелиальной системы печени оценивали по общему среднему количеству Купферовых клеток (КК) в ограниченном поле зрения (ОПЗ) – $(3,12 \times 10^{-7} \text{ м}^2)$. Кроме того, оценивали среднюю толщину стенки холедоха, целостность и высоту его эпителиальной выстилки.

Результаты исследований обрабатывали методом вариационной статистики с использованием стандартных программ корреляционного анализа, вычислением средних арифметических величин: M , m , сигма 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

В течение первых 3 суток послеоперационного периода животные опытной группы не отличались от контрольных, а к 7 суткам у них определялись только явления желтухи. После 7 суток отмечено ухудшение состояния некоторых животных, а с 14 суток у большинства из них развивалась прогрессирующая гиподинамия, снижение аппетита с эпизодическими ознобами. К 30 суткам из оставшихся в эксперименте 6 животных – 2 погибло от прогрессирующего БС.

При микробиологическом исследовании – бактериохолія (*E. Coli*) выявлена у всех 30 (100 %) животных основной группы, бактериемия – у 17 (57 %). При этом *E. Coli* высеяна из крови на 3 сутки – у 1 (17 %) животного, на 7 сутки – у 5 (83 %), на 14 сутки – у 5 (83 %), на 21 сутки – у 6 (100 %), на 30 сутки не выявлена.

Морфологически на 3 сутки эксперимента стенка холедоха умеренно утолщена за счет отека, воспалительной инфильтрации лимфоплазмочитарными элементами с примесью нейтрофильных гранулоцитов (рис. 1). По данным морфометрического исследования толщина стенки составляет $261,08 \pm 3,13$ мкм ($p_1 > 0,05$). В группе сравнения – $255,52 \pm 1,42$ мкм. Слизистая оболочка холедоха несколько утолщена, сохраняет свою складчатость, эпителиальный покров с признаками дистрофии эпителиоцитов и очагами его десквамации с наложениями нитей фибрина и нейтрофильных гранулоцитов. Высота эпителия составляет $14,84 \pm 0,09$ мкм, что достоверно меньше показателя группы сравнения ($p_1 < 0,001$) – $15,47 \pm 0,12$ мкм. Кроме того, в стенке холедоха определяются микрососуды со стазами и сладжами.

Гистологически ткань печени сохраняет балочное строение. Центральные вены и межбалочные капилляры расширены, полнокровны. Отмечается пролиферация КК, их количество по данным морфометрического исследования

составляет $274,83 \pm 1,39$ шт. в ОПЗ, что достоверно больше ($p_1 < 0,001$) показателя группы сравнения ($253,7 \pm 1,51$ шт.). Определяются очаговые некрозы печеночной паренхимы, а также внутريدольковые воспалительные инфильтраты, представленные лимфогистиоцитарными элементами с примесью нейтрофильных гранулоцитов. Цитоплазма гепатоцитов эозинофильная, с отчетливой зернистостью, очагово – гепатоциты с признаками вакуольной и жировой дистрофии. Встречаются единичные диплоидные клетки (рис. 2).

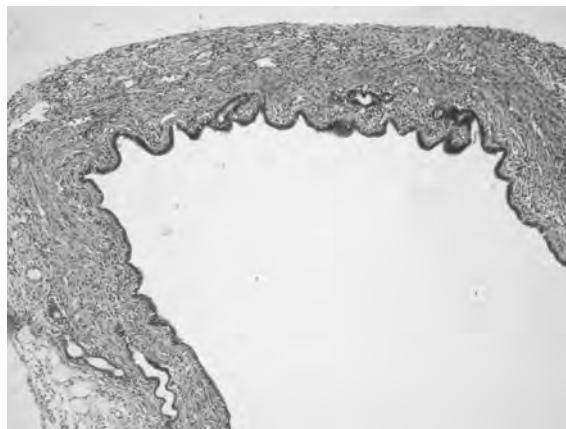


Рис. 1. Стенка холедоха умеренно утолщена за счет отека и воспалительной инфильтрации. Опытная группа. 3 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

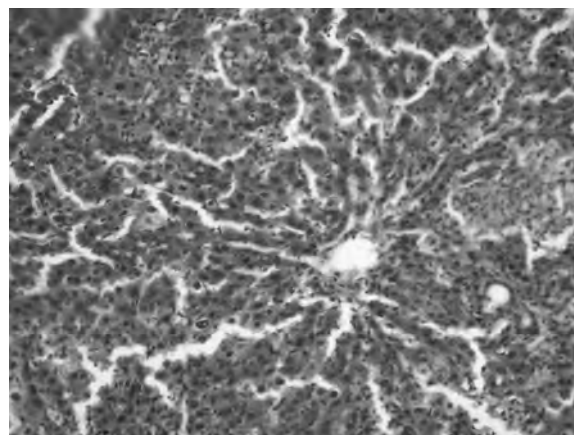


Рис. 2. Очаг некроза печеночной паренхимы, внутريدольковые воспалительные инфильтраты, очаги вакуольной и жировой дистрофии. Опытная группа. 3 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

В корковом веществе почки клубочки неравномерной величины с суженными субкапсулярными пространствами, капилляры их умеренно полнокровны. Просветы канальцев неравномерной величины и формы, расширены, местами кистовидные, содержат скопления гомогенных эозинофильных масс. Цитоплазма эпителия канальцев эозинофильная, в части наблюдений с зернистостью или вакуолизирована. В интерстиции определяются очаги лимфогистиоцитарной инфильтрации и умеренно полнокровные кровеносные сосуды.

В сердце саркоплазма кардиомиоцитов с очагами базофилии. Отмечают отек интерстиция и полнокровие сосудов.

В легочной паренхиме определяются небольшие участки эмфиземы и ателектазов. Межальвеолярные перегородки тонкие. Сосуды умеренно полнокровные. Просветы бронхов округлой или звездчатой формы, цилиндрический эпителий с очагами десквамации. Перибронхиально обнаруживаются крупные скопления лимфоидной ткани.

Белая пульпа селезенки представлена фолликулами округлой или овальной формы различных размеров. Т- и В-зоны истощены. Красная пульпа представлена большим числом венозных синусов с единичными скоплениями Т-лимфоцитов.

В лимфоузлах лимфоидные фолликулы округлые без реактивного центра. В просветах синусов мозгового вещества обнаруживаются малые лимфоциты и немногочисленные макрофаги.

На 7 сутки эксперимента стенка холедоха резко утолщена за счет выраженного отека и инфильтрации нейтрофильными гранулоцитами, толщина её составляет $357,09 \pm 2,35$ мкм. Слизистая оболочка утолщена, сохраняется складчатость, эпителиальная выстилка уплощена с очагами десквамации с наложениями на них нитей фибрина и нейтрофильных гранулоцитов. Высота эпителия составляет $13 \pm 0,19$ мкм ($p_1 < 0,001$).

Гистологическая архитектоника печени сохранена. Дополнительно к изменениям предыдущего срока обнаруживают выраженный холестаза, расширение и переполнение желчью мелких и более крупных желчных протоков. Отмечается уменьшение количества КК до $187,27 \pm 1,72$ шт. в ОПЗ ($p_1 < 0,001$). Ядра клеток гиперхромные, сморщенные. Имеет место проникновение воспалительных инфильтратов внутрь печеночных долек. Отмечается пролиферация желчных протоков с воспалительными инфильтратами в их стенках представленных лимфоцитами, плазмочититами и нейтрофильными гранулоцитами. Цитоплазма гепатоцитов эозинофильная, с отчетливой зернистостью. Очагово отмечается крупно- и среднекапельное ожирение гепатоцитов. Встречаются очаги коагуляционного некроза печеночной паренхимы.

В почках помимо вышеописанных изменений в цитоплазме эпителия отмечались зернистая и гидропическая дистрофия, а также очаги некронефроза.

В сердце отмечают выраженный отек интерстиция, очаги лимфогистиоцитарной инфильтрации и умеренное полнокровие сосудов. В утолщенных сосудистых стенках явления

васкулита (рис. 3). В двух (33 %) наблюдениях на деэндотелизированной поверхности эндокарда обнаружены тромботические наложения – пристеночный бородавчатый эндокардит. В стенке клапана – скопления нейтрофильных гранулоцитов. В одном (17 %) наблюдении субэндокардиально обнаружен обширный участок миоцитолита.

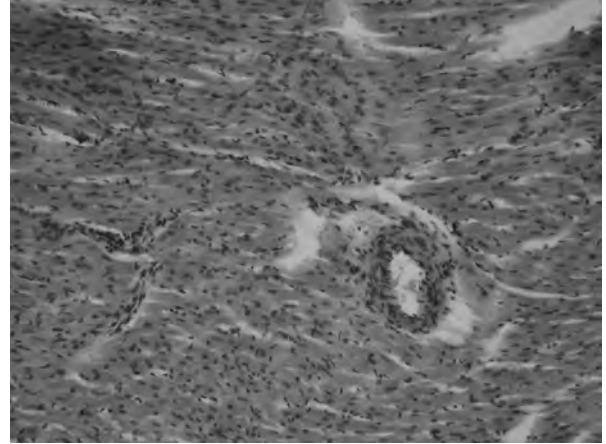


Рис. 3. Отек, очаги лимфогистиоцитарной инфильтрации сердечного интерстиция. В сосудистых стенках явления васкулита. Опытная группа. 7 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$.

В легочной паренхиме и лимфоузлах отмечают стереотипные изменения соответствующие предыдущему сроку эксперимента.

Т- и В-зоны селезенки истощены. Красная пульпа с большим числом венозных синусов и единичными скоплениями Т-лимфоцитов.

На 14 сутки в утолщенной стенке холедоха на фоне воспалительного отека определяются очаги нейтрофильной инфильтрации. В просвете холедоха обнаруживается формирование желчных тромбов, часть из которых расположена свободно в просвете протока, а часть фиксирована к его внутренней поверхности. В зонах их фиксации эпителиальный покров и слизистая оболочка разрушены. На всем остальном протяжении отмечается сглаживание складчатости слизистой оболочки и уплощение эпителиоцитов. Толщина стенки холедоха составляет $368,78 \pm 2,47$ мкм, а высота эпителия – $13,33 \pm 0,18$ мкм, что достоверно ($p_1 < 0,001$) меньше показателя группы сравнения. В микрососудах стенки холедоха, отмечаются распространенный тромбоз, развитие эндо- и периваскулитов. В большей части наблюдений отмечается тяжелый гнойно-деструктивный холангит.

В печени помимо дисконкомплексации гепатоцитов с явлениями белковой и жировой дистрофии вокруг и внутри желчных протоков определяются густоклеточные лимфоплазмочитарные инфильтраты с примесью нейтро-



фильных гранулоцитов, местами проникающие внутрь долек (рис. 4).

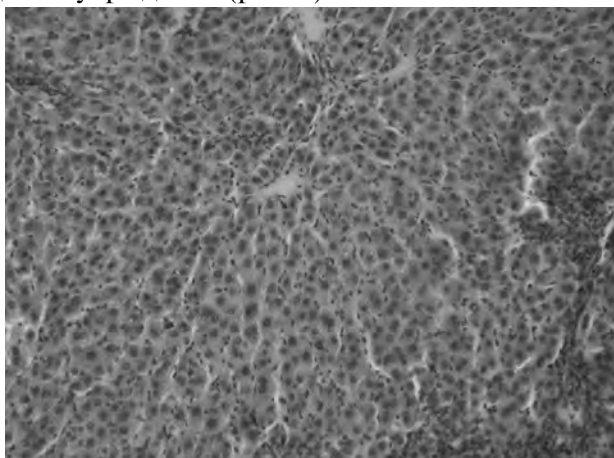


Рис. 4. Дисконфлексация гепатоцитов, густоклеточная лимфоплазмощитарная и нейтрофильная инфильтрация желчных протоков, проникающая внутрь долек. Опытная группа. 14 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

Желчные протоки расширены и переполнены желчью, удлинены, анастомозируют между собой. Отмечается разрыв желчных капилляров с образованием желчных «озер» и очагов коагуляционного некроза печеночной паренхимы. Отмечается уменьшение количества КК до $198,2 \pm 1,5$ шт. в ОПЗ ($p_1 < 0,001$) и их дегенеративные изменения.

Цитоплазма эпителия канальцев почек с явлениями зернистой и гидропической дистрофии с очагами некроза. В интерстиции определяются очаговые лимфогистиоцитарные инфильтраты. Сосуды интерстиция полнокровные с явлениями сладжирования и микротромбозом, а также периваскулярными лимфогистиоцитарными инфильтратами.

В сердце и легких отмечаются изменения сходные с предыдущим сроком.

В белой пульпе селезенки определяются крупные фолликулы округлой формы с широкими периартериальными Т-зонами и высокой плотностью расположения лимфоцитов. Красная пульпа с большим числом венозных синусов, скоплением Т-лимфоцитов, макрофагов и плазматических клеток.

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

На 21 сутки эксперимента стенка холедоха утолщена до $380,02 \pm 2,59$ мкм ($p_1 < 0,001$), отечна, субэпителиально диффузно инфильтрирована нейтрофилами. В просвете обнаруживаются свободные и фиксированные желчные тромбы. Слизистая оболочка утолщена с дистрофией эпителия, очаговой деструкцией, а также разрушением собственной пластинки.

В участках сохранного эпителия его высота составляет $16,65 \pm 0,16$ мкм ($p_1 < 0,001$). В микрососудах стенки холедоха обнаруживается картина пролиферативного эндотромбоваскулита.

Дольковая структура печени сохранена. Обнаруживается выраженный холестаз с образованием желчных «озер» и очагов коагуляционного некроза печеночной паренхимы (рис. 3, 4). Обращает на себя внимание прогрессирующее уменьшение количества КК до $142,87 \pm 1,31$ шт. в ОПЗ ($p_1 < 0,001$) и их дегенеративные изменения. Гепатоциты с явлениями белковой и жировой дистрофии, местами с очаговыми внутридольковыми воспалительными инфильтратами и микроабсцессами (рис. 5).

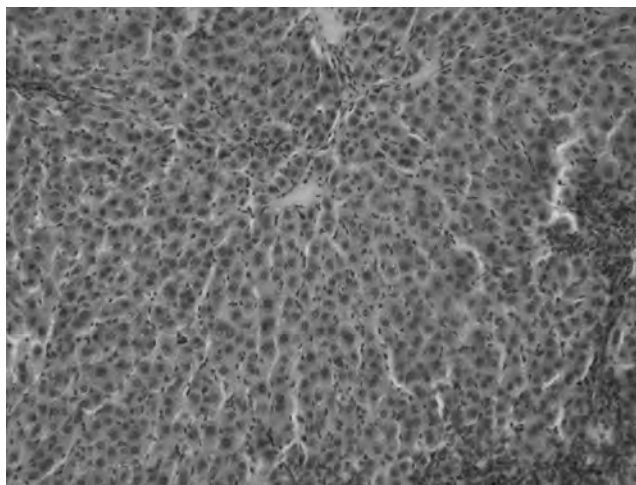


Рис. 5. Очаги некроза печеночной паренхимы с вторичным нагноением и формированием микроабсцесса. Опытная группа. 21 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

В коре почек определяются набухшие почечные клубочки неравномерной величины с суженными субкапсулярными пространствами, мезангий и капилляры расширены, инфильтрированы лимфогистиоцитарными элементами. Просветы канальцев сужены, содержат гомогенные эозинофильные массы. Цитоплазма эпителия канальцев с явлениями зернистой и гидропической дистрофии, множественными очагами некроза. В интерстиции определяются многочисленные очаговые лимфогистиоцитарные инфильтраты.

В препаратах сердца и легких отмечаются дистрофические и воспалительные изменения сходные с предыдущим сроком исследования.

В селезенке и лимфоузлах отмечаются стереотипные изменения соответствующие предыдущему экспериментальному сроку.

На 30 сутки эксперимента стенка холедоха достигает максимальной толщины и составляет $572,54 \pm 3,42$ мкм ($p_1 < 0,001$) мкм, отечна, диффузно инфильтрирована нейтрофильными гранулоцитами с образованием грануляционной ткани. Слизистая оболочка со сглаженной складчатостью, эпителиальный покров

уплощен, отмечается очаговая его деструкция с поверхностными и глубокими некрозами и отторжением фрагментов эпителия в просвет протока (рис. 6).

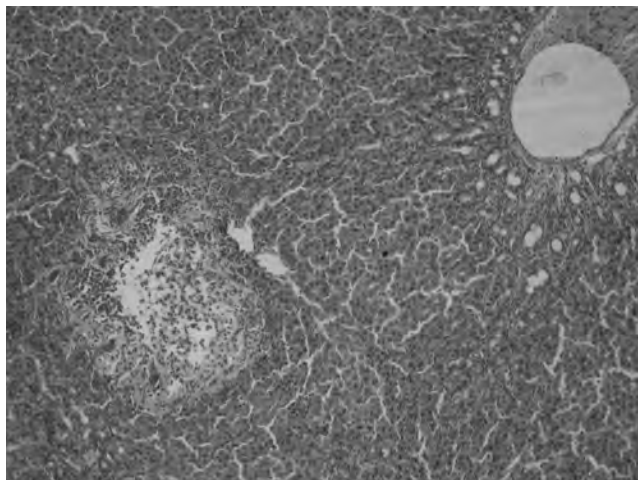


Рис. 6. Стенка холедоха утолщена, отечна, диффузно инфильтрирована нейтрофильными гранулоцитами. Слизистая оболочка с глубоким некрозом. Опытная группа. 30 сутки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

Высота эпителия в участках, где он сохранился, составляет $11,71 \pm 0,15$ мкм ($p_1 < 0,001$) и является наименьшим показателем в данной экспериментальной группе. В микрососудах стенки холедоха картина пролиферативного эндотромбоваскулита.

Паренхима печени представлена мелкими узлами-регенератами, разделенными неравномерно выраженными и анастомозирующими между собой прослойками соединительной ткани. Обнаруживаются выраженный холестаз в сочетании с распространенным гнойным холангитом, холангиолитом перихолангиолитом и многочисленными очагами некроза печеночной паренхимы. Количество Купферовых клеток составляет $132,03 \pm 0,69$ шт. в ОПЗ ($p_1 < 0,001$).

В препаратах почек отмечаются изменения соответствующие предыдущему сроку эксперимента.

Субэпикардальные сосуды сердца резко расширены, полнокровны. Отмечается отек интерстиция. Эндокард с очагами дезэндотелизации и тромбозом в данных участках.

В легочной паренхиме определяются участки дистелектазов. Межальвеолярные перегородки и сосуды с лимфогистиоцитарными инфильтратами. Бронхиальный эпителий сохраняет свою целостность, а перибронхиально определяются небольшие скопления лимфоидной ткани.

В белой пульпе селезенки определяются фолликулы округлой формы с широкими периартериальными Т-зонами с высокой плотностью расположения лимфоцитов. В-зоны также хорошо выражены. В красной пульпе отмечаются многочисленные крупные скопления Т-лимфоцитов, макрофагов и плазматических клеток.

Лимфоидные фолликулы лимфоузлов крупные с реактивными центрами и широкими Т- и В-зонами. Синусы расширены, в них обнаруживаются многочисленные малые лимфоциты и макрофаги.

Выводы

1. Холестаз с нарастающей желчной гипертензией и бактериохолией на фоне целостности эпителия желчных протоков определяет начало развития с 14 суток и формирование к 30 суткам билиарного цирроза печени, умеренные дистрофические и воспалительные изменения холедоха и других внутренних органов, что свидетельствует об устойчивости неповрежденного эпителия к генерализации инфекции.

2. В случаях разрушения эпителия желчными тромбами на фоне холестаза и бактериохолии с 7 суток эксперимента в 57 % случаев развивается гнойный холангит, трансформирующийся в БС с характерным поражением органов-мишеней и органов иммунной системы.

3. Таким образом, помимо холестаза и инфекции несомненно важным фактором патогенеза ОХ и БС является фактор повреждения эпителия слизистой желчных протоков, который снижает ее барьерную функцию, усугубляет местные воспалительные изменения, что в последующем ведет к генерализации инфекции, системному воспалительному ответу и развитию БС.

ЛИТЕРАТУРА

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

2. Багненко С.Ф. Современные подходы к этиологии, патогенезу и лечению холангита и билиарного сепсиса /

С.Ф. Багненко, С.А. Шляпников, А.Ю. Корольков // Бюллетень сибирской медицины. – 2007. – № 3. – С.27-32.

2. Борисенко В.Б. Динамика морфологических изменений холедоха, печени, и других внутренних органов при моделировании механической желтухи в эксперименте / В.Б. Борисенко, С.Г. Белов, Н.И. Горголь // Харківська хірургічна школа. – 2012. – № 1. – С. 56-61.

3. 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.

4. *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.

5. *Никитенко В.И.* Роль транслокації бактерій в патогенезі хірургічної інфекції / В.И. Никитенко,

В.В. Захаров, А.В. Бородин [и др.] // Хірургія. – 2001. – № 2. – С. 63-65.

6. *Ничитайло М.Ю.* Тактика лікування хворих на холедохолітаз, ускладнений гострим холангітом / М.Ю. Ничитайло, В.П. Шкарбан // Клінічна хірургія. – 2007. – № 11-12. – С.76-78.

7. *Berg R.D.* Bacterial translocation from the intestines/ R.D. Berg // Jikken Dobutsu. –1985. – Jan. – № 34(1). – P.1-16.

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

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

Резюме. Вивчені динамічні патоморфологічні зміни печінки, холедоха, легенів, серця, селезінки, нирок і регіонарних лімфовузлів у 30 щурів з експериментальною моделлю гострого холангіту. Встановлено, що бактеріохолія на тлі механічної жовтяниці приводить з 14 доби до початку розвитку, а на 30 добу – формування біліарного цирозу печінки. У спостереженнях, де зберігся епітелій слизової холедоха, відмічаються помірні запальні зміни холедоха, печінки та інших органів. У випадках деепітелізації слизової з 7 доби розвивається гнійний холангіт, що трансформується в біліарний сепсис з важкими дистрофічними і некробіотичними процесами в органах-мішенях, гіперпластичною перебудовою імунних органів (селезінка, лімфатичні вузли, лімфоїдна тканина легенів). У печінці початкове збільшення кількості Купферових клітин, з 7 доби змінюється прогресивним зменшенням їх кількості.

Ключові слова: механічна жовтяниця, гострий холангіт, біліарний сепсис, патогенез.

CHOLEDOCH, LIVER AND OTHER INNER ORGANS MORPHOLOGIC CHANGES UNDER MODELING OF ACUTE CHOLANGITIS AND BILIARY SEPSIS IN EXPERIMENT

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

Summary. Dynamic pathomorphologic changes in liver, choledoch, lungs, heart, spleen, kidneys and regional lymphatic nodules were studied in 30 rats with experimental model of acute cholangitis. It was stated that bacteriocholia on the background of mechanic icterus leads to the beginning of development from the 14th day and to the formation of biliary liver cirrhosis up to the 30th day. In studies where choledoch mucosal epithelium was preserved medial inflammatory changes of choledoch, liver and other organs were registered. In cases of mucosal diepitelization purulent cholangitis develops from the 7th day which further transforms into biliary sepsis with severe dystrophic and necrobiotic processes in target organs, hyperplastic transformation of immune organs (spleen, lymphatic nodules, lungs lymphoid tissue). In liver initial growth of Kupfer cells changes into progressive decrease of their quantity from the 7th day.

Key words: mechanical icterus, acute cholangitis, biliary sepsis, pathogenesis.