



В. Б. Борисенко,
И. В. Сорокина,
Н. И. Горголь

Харьковская медицинская
академия последипломного
образования

Харьковский национальный
медицинский университет

© Коллектив авторов

ХОЛАНГИОГЕННЫЙ СЕПТИЧЕСКИЙ ШОК: ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧЕНИ И ХОЛЕДОХА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. В работе представлены результаты экспериментального исследования по изучению патоморфологических изменений печени и холедоха у животных с моделью холангиогенного септического шока. Установлено, что основными патогенетическими факторами развития септического шока, является холестаза, бактериохолия, деструкция эпителия слизистой холедоха, ведущие к бактериемии и эндотоксикозу.

Ключевые слова: холангиогенный септический шок, моделирование, патоморфологические изменения, печень, холедох.

Введение

Согласно современным представлениям сепсис является системной воспалительной реакцией организма на инфекцию любого генеза [5, 9, 10, 11]. Особым видом этой системной реакции является билиарный или холангиогенный сепсис (ХС), развивающийся в ответ на гнойный очаг, расположенный в желчных протоках и протекающий на фоне предшествующей механической желтухи [2, 3, 7].

В свою очередь, септический шок — это сложный патофизиологический процесс, при котором в ответ на бактериемию и эндотоксемию возникает чрезмерное напряжение неспецифических механизмов адаптации и факторов специфического иммунитета, сопровождающиеся глубоким нарушением гиперперфузии тканей, гипоксией и расстройством их обмена [1, 4, 12].

В сложной проблеме острый холангит — холангиогенный сепсис до настоящего времени остается ряд спорных и нерешенных аспектов, что определяет необходимость дальнейших исследований. Недостаточно изучены механизмы трансформации острого холангита в ХС и, особенно, тяжелый ХС, осложняющийся септическим шоком. В специальной литературе отсутствуют данные по моделированию ХС, и тем более — холангиогенного септического шока, а также описание патоморфологических изменений внутренних органов при этих состояниях.

Цель исследования

Патоморфологическое изучение факторов патогенеза ХС, осложненного септическим шоком.

Материалы и методы исследования

Экспериментальное исследование проведено в условиях вивария Харьковской медицинской академии последипломного образования на 18 крысах линии Вистар массой 160–220 г. Животных с соблюдением полового признака распределили на две группы. Контрольную

группу составили 6 здоровых животных, основную — 12 крыс. Животным основной группы в условиях общей анестезии была произведена лапаротомия, пункция и введение в просвет холедоха суточной культуры референтного штамма *E. Coli* (ГСК 240533) в концентрации 1×10^{12} КОЕ.

Все манипуляции на животных осуществляли в соответствии с научно-практическими рекомендациями по содержанию лабораторных животных и работы с ними [6].

При аутопсии у погибших животных для патоморфологического исследования производили забор кусочков печени и холедоха, которые фиксировали в 10 % водном растворе нейтрального формалина. В последующем проводили спиртовую и парафиновую проводку и готовили серийные срезы толщиной $4-5 \times 10^{-6}$ м, препараты окрашивали гематоксилином и эозином.

Изучение и микрофотографирование микропрепаратов проводили на микроскопе «Olympus VX-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 зрения (ОПЗ) — $3,12 \times 10^{-7}$ м². Кроме того, оценивали среднюю толщину стенки холедоха и высоту его эпителиальной выстилки.

Иммуногистохимические исследования проводили прямым методом Кунса по методике Brosnan (1979). С помощью моноклональных антител (МКА) определяли коллагены I, III и IV типов, а также клетки экспрессирующие рецепторы к CD34 (Novocastra Laboratories Ltd.) Оптическую плотность иммунофлуоресценции (ОПИ) определяли по методу Губиной-Вакулик Г.И. и соавт. [8] с помощью микроскопа «Axioskop 40» и программного обеспечения Biostat.

Результаты исследования обработаны статистически с использованием стандартного пакета программ Microsoft Excel. Достоверность по-



казателей оценивали по t-критерию Стьюдента, разницу считали достоверной при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

У всех животных с моделью холангиогенного септического шока через 10–12 часов после оперативного вмешательства отмечено прогрессирующее ухудшение их общего состояния вплоть до полной адинамии, с последующим их летальным исходом через 16–24 часов после операции. Специфические макроскопические изменения внутренних органов, не успевали сформироваться. На аутопсии можно лишь отметить их дряблую консистенцию и тусклый вид, что является проявлением острых дистрофических изменений вследствие септического шока.

При микроскопическом исследовании стенки холедоха выявляется ее утолщение за счет отека, обширной деструкции слизистой оболочки с разрушением эпителия и глубокими некрозами. Толщина стенки холедоха составляет $(283,39 \pm 1,91)$ мкм, что достоверно ($p_1 < 0,001$) превышает показатель группы сравнения $(255,52 \pm 1,42)$ мкм. В просвете холедоха — пласты десквамированного эпителия и гнойный экссудат. На участках деструкции эпителия определяются наложения тромботических масс, которые имеют характер смешанных тромбов и воспалительная инфильтрация, представленная нейтрофилами, проникающая на всю глубину стенки холедоха (рис. 1). В участках сохраненной эпителиальной выстилки высота эпителия составляет $(14,1 \pm 0,22)$ мкм, что достоверно ($p_1 < 0,001$) отличается от показателя группы сравнения $(15,47 \pm 0,12)$ мкм. В базальных мембранах (БМ)

эпителия и сосудов отмечается выраженный дефицит коллагена IV типа, о чем свидетельствует слабое прерывистое свечение в препаратах, обработанных МКА к коллагену IV типа (рис. 2). При этом показатели ОПИ этого коллагена в БМ эпителия и сосудов составил $0,412 \pm 0,003$ и $0,325 \pm 0,001$, что достоверно ($P < 0,05$) ниже контрольных показателей $(0,654 \pm 0,001$ и $0,489 \pm 0,002)$. Резко снижены адгезивные свойства эпителиоцитов и эндотелиоцитов о чем свидетельствует достоверное ($P < 0,05$) снижение ОПИ эпителия и эндотелия сосудов в препаратах, обработанных МКА к CD34 $(0,212 \pm 0,006$ и $0,134 \pm 0,003)$ по сравнению с контролем $(0,374 \pm 0,003$ и $0,531 \pm 0,006)$.

Морфологические изменения печени включают в себя дилатацию центральных вен и гиперемию синусоидов с развитием в последних лейкостаза, вакуольную дистрофию и очаговые некрозы гепатоцитов, воспалительные инфильтраты, представленные нейтрофилами с незначительной примесью макрофагов (рис. 3). Купферовы клетки расположены редко, мелкие с плотным ядром и слабо выраженной цитоплазмой. Ослабление ШИК-позитивного окрашивания их цитоплазмы доказывает снижение функции макрофагов, а их количество в ОПЗ составляет $(209,13 \pm 1,01)$ экз., что достоверно ($p_1 < 0,001$) больше аналогичного показателя в группе сравнения $(253,7 \pm 1,51)$. В строме печени выявлены интерстициальные коллагены I и III типов (рис. 4). Интенсивность свечения этих коллагенов составляет $(0,843 \pm 0,09$ и $0,723 \pm 0,08)$, что по сравнению с контрольной группой достоверно ($P < 0,05$) снижено $(1,235 \pm 0,08$ и $0,985 \pm 0,04)$, а структура местами смазана. В БМ сосудов печени отмечается свечение коллагена IV ти-

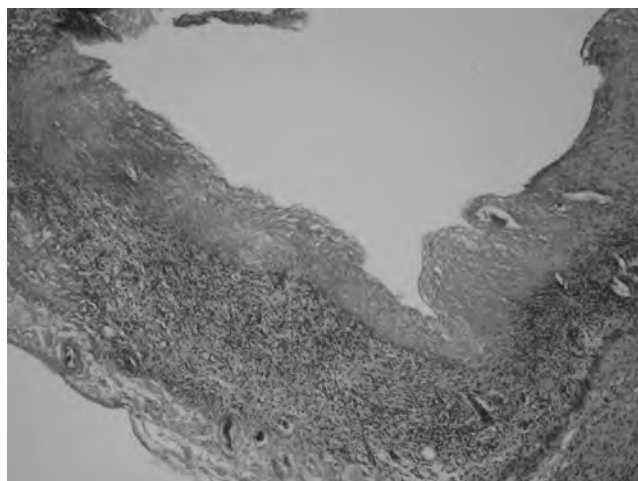


Рис. 1. Микроскопическая картина холедоха животного группы холангиогенного септического шока: отмечается тотальный некроз слизистой оболочки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

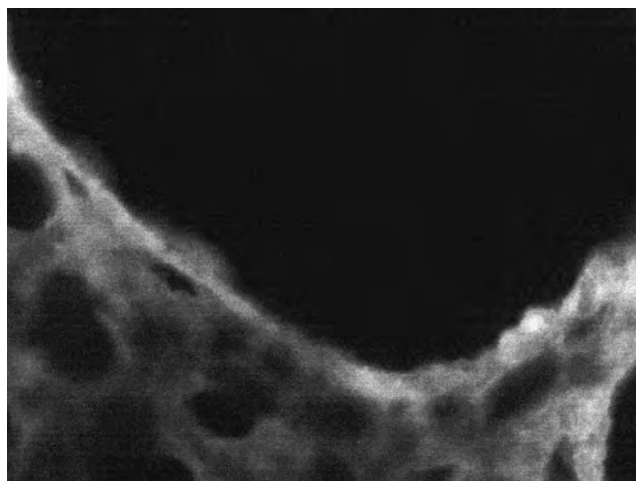


Рис. 2. Слабое нечеткое свечение коллагена IV типа в эпителиальной БМ холедоха у животного группы холангиогенного септического шока. Прямой метод Кунса с МКА к коллагену IV типа. $\times 400$

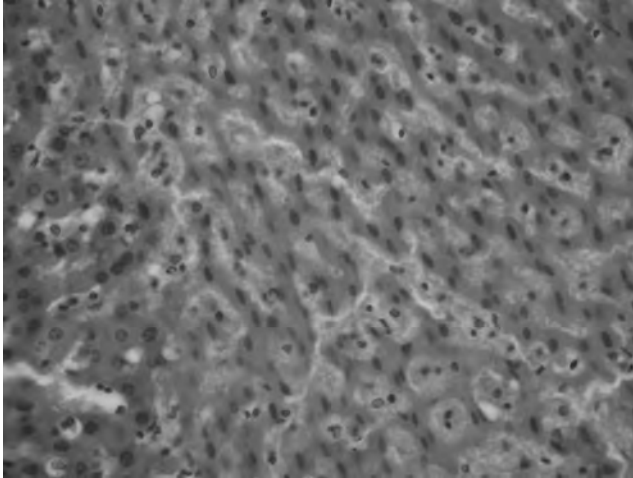


Рис. 3. Микроскопічна картина печені тваринної групи холангіогенного септичного шоку: відзначається гіперемія синусоїдів, вакуольна дистрофія і некроз гепатоцитів. Окраска гематоксилином і еозином. $\times 400$



Рис. 4. Нерівномірної інтенсивності місцями декількох смазаного свечення колагену III типу в стромі печені у тваринної групи холангіогенного септичного шоку. Прямий метод Кунса з МКА до колагену III типу, $\times 600$

па нерівномірної інтенсивності з переважанням зон слабкої імунофлуоресценції. Показатель ОПІ цього колагену становить $(0,412 \pm 0,003)$, що достовірно ($P < 0,05$) нижче за контроль $(0,654 \pm 0,001)$. Змінення подібного характеру виявляються і в препаратах, оброблених МКА до CD34. Виявляється слабе свечення ендотеліоцитів, о чому свідчить достовірно ($P < 0,05$) зменшений $(0,531 \pm 0,006)$ порівняно з контролем $(0,134 \pm 0,003)$ показник ОПІ цих клітин.

Висновки

Гибель тварин основної групи виявилася наслідком розвинутого декомпенсованого септичного шоку на масивну інвазію бактеріальних і тканинних токсинів, поступивших в системний кровоносний шлях з обширного первинного гнійно-деструктивного осередку в жовчаних протоках.

Ведущими морфологічними проявленнями інфекційно-токсичного шоку є альтеративні (дистрофічні і некротичні) змінення печені і жовчачого каналу, що розвиваються на фоні токсемії і ДВС-синдрому.

Резке зменшення вмісту як інтерстиціальних колагенів I і III типів в стромі печеночних долек, так і колагену IV типу в БМ судин на фоні значного зниження ступеня експресії ендотеліоцитами рецепторів до CD34 свідчить про пошкодження клітин.

В жовчачому каналі виявляється дефіцит колагену IV типу в складі як епітеліальних, так і судинистих БМ, а також зниження адгезивних властивостей епітеліоцитів і ендотеліоцитів.

Виявлені в внутрішніх органах змінення відповідають стадії вторинних змінень, т. є. III стадії шоку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ахаладзе Г. Г. Жовчачокаменна хвороба. Холангіт і біліарний сепсис: де межа? / Г. Г. Ахаладзе // *Аннали хірург. гепатології*. — 2013. — № 1. — С. 54 - 58.
2. Багненко С. Ф. Сучасні підходи до етіології, патогенезу і лікування холангіту і біліарного сепсису / С. Ф. Багненко, С. А. Шляпников, А. Ю. Корольков // *Бюлетень сибірської медицини*. — 2007. — № 3. — С. 27-32.
3. Даценко Б. М. Механічна жовтуха, гострий холангіт, біліарний сепсис: їх патогенетична взаємозв'язь і принципи диференціальної діагностики / Б. М. Даценко, В. Б. Борисенко // *Новини хірургії*. — 2013. — № 5. — С. 31-39.
4. Лазарева І. Б. Актуальні питання фармакотерапії сепсису і септичного шоку / І. Б. Лазарева, А. А. Ігонін // *Лікувальний лікар*. — 2004. — № 8. — С. 68-70.
5. Козлов В. К. Сепсис: етіологія, імунопатогенез, концепція сучасної імунотерапії / В. К. Козлов. — СПб.: Діалект, 2008. — 296 с.
6. Методичні рекомендації до утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко [та ін.]. — К.: Авіцена, 2002. — 155 с.
7. Гострий холангіт і біліарний сепсис / В. В. Хацко, А. Д. Шаталов, В. Н. Войтук [та ін.] // *Укр. журн. хірургії*. — 2013. — № 2. — С. 152-157.
8. Патент 46489 Україна, G 01N 33/00. Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах / Г. І. Губіна-Вакулик, І. В. Сорочкіна, В. Д. Марковський [та ін.]. — № u200906730; заявл. 26.06.09; опубл. 25.12.09. Бюл. № 4.



9. Патогенетическое обоснование алгоритма экстренной целенаправленной органопротективной терапии хирургического сепсиса // А. Н. Нестеренко, Т. И. Воробьева, Е. Д. Якубенко, Т. И. Колесникова // Укр. журн. хірургії. – 2013. – № 2. – С. 69-79.
10. Сепсис: определение, диагностическая концепция, патогенез и интенсивная терапия/ Б. Р. Гельфанд, В. А. Руднов, Д. Н. Проценко [и.др.]// Инфекции в хирургии. - 2004. - Т.2, № 2. - С. 2–17.
11. Angus D.C. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care / D. C. Angus, W. T. Linde–Zwirble, J. Lidicker [et al] // Crit Care Med. - 2001. - № 29. - P. 1303–1310.
12. Bone R. C. American College of Chest Physicians/ R. C. Bone, R. A. Balk, F. B. Cerra [et al] // Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Crit Care Med. – 1992. – № 20. – P. 864-874.

**ХОЛАНГИОГЕННИЙ
СЕПТИЧНИЙ ШОК:
ПАТОМОРФОЛОГІЧНА
ХАРАКТЕРИСТИКА
ПЕЧІНКИ ТА ХОЛЕДОХА
В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

***V. B. Borisenko,
I. V. Sorokina,
N. I. Gorgol***

Резюме. У роботі представлено результати експериментального дослідження з вивчення патоморфологічних змін печінки та холедоха у тварин з моделлю холангіогенного септичного шоку. Встановлено, що основними патогенетичними факторами розвитку септичного шоку є холестаза, бактеріохолія, деструкція епітелію слизової холедоха, що ведуть до бактеріємії й ендотоксикозу.

Ключові слова: *холангіогенний септичний шок, моделювання, патоморфологічні зміни, печінка, холедох.*

**HOLANGIOGENIC
SEPTIC SHOCK:
PATHOMORPHOLOGICAL
CHARACTERISTICS OF THE
LIVER AND CHOLEDOCHUS
IN THE EXPERIMENT**

***V. B. Borisenko,
I. V. Sorokina, N. I. Gorgol***

Summary. The paper presents the results of an experimental study on the pathological changes of the liver and the common bile duct in animal models of cholangiogenic septic shock. It was found that the main pathogenetic factors of septic shock is cholestasis, bacteriocholia, destruction of choledoch mucosal epithelium leading to bacteraemia and endotoxiosis.

Key words: *cholangiogenic septic shock, modeling, pathomorphological changes, liver, choledochus.*