

УДК 616.94 – 092.4: 616.981.25: 616.36

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ В ДИНАМИКЕ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СТАФИЛОКОККОВОГО СЕПСИСА****Дгебуадзе М. А., Ратиани Л. Р.***Тбилисский государственный медицинский университет, Тбилиси,**e-mail: illusion_ia2001@yahoo.com*

Проведено сравнительное изучение морфологической реакции печени на бактериальную интоксикацию в динамике экспериментального стафилококкового сепсиса с учетом его этиологической структуры. Исследованы 20 половозрелых кроликов обоего пола породы «Шиншилла» с сепсисом, вызванного золотистым стафилококком (I серия экспериментов) и с сепсисом, вызванного с одновременным заражением животных золотистым и эпидермальным стафилококками (II серия экспериментов). С помощью гистологических и морфометрических методов исследования на 9-е, 10-е и 14-е сутки после введения микробной культуры было проведено морфологическое изучение печени кроликов. В обеих сериях экспериментов наблюдались однотипные возрастающие изменения в виде микроциркуляторных нарушений и дистрофически-некротических изменений, степень выраженности которых незначительно отличались друг от друга при сепсисе различной этиологии. Прежде всего очевидны микроциркуляторные нарушения, которые приводят к развитию дистрофически-некротических изменений гепатоцитов и звездчатых макрофагов печени. Были констатированы тромбогеморрагические изменения сосудов и паренхимы печени. Сравнение результатов морфометрического исследования не показало статистически достоверных различий между I и II сериями экспериментов.

Ключевые слова: экспериментальный стафилококковый сепсис, печень, патоморфология**PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES OF LIVER IN DYNAMIC
OF EXPERIMENTAL STAPHYLOCOCCAL SEPSIS****Dgebuadze M.A., Ratiani L.R.***Tbilisi State Medical University, Tbilisi, e-mail: illusion_ia2001@yahoo.com*

Comparative study of the morphological reaction of liver to the bacterial intoxication in dynamic of experimental staphylococcal sepsis taking into account its etiological structure were conducted. The study was carried out on 20 mature Chinchilla rabbits of both sexes with sepsis caused by staphylococcus aureus (I series of experiments) and with sepsis of the mixed etiology, caused by simultaneous infection of animals by staphylococcus aureus and staphylococcus epidermidis (II series of experiments). On 9th, 10th and 14th days after bacterial contamination morphological study of liver of the rabbits were conducted using histological and morphometric methods. In both series of experiments the similar increasing changes like microcirculatory disturbances and dystrophic-necrotic changes were observed, expression degree of those differ from each other a little in experimental sepsis of different etiology. First of all are evident microcirculatory disturbances, which cause dystrophic-necrotic changes of hepatocytes and stellate macrophages. Thrombohemorrhagic disorders of vessels and parenchyma of the liver were established. The comparison of the results of morphometric study did not show any statistically significant differences between I and II series of experiments.

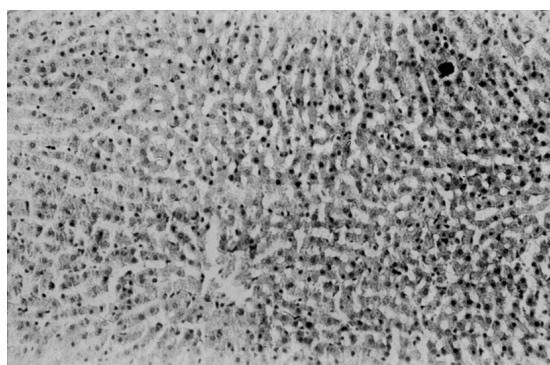
Keywords: experimental staphylococcal sepsis, liver, patho morphology

Число случаев сепсиса неуклонно растет, в том числе и в странах с высококоразвитой медициной [6]. Из-за гипотетического толкования множества вопросов по проблеме сепсиса дальнейшее его изучение в клинике и эксперименте и по сегодняшний день не теряет своей актуальности: не существует общепринятого понятия сепсиса, единой классификации и т.д. За последние годы была разработана и представлена новая классификация и диагностические критерии сепсиса [10]. Данная классификация определяет следующие клинические категории: синдром системной воспалительной реакции, сепсис, тяжелый сепсис, сепсис с полиорганной недостаточностью, септический шок; подчеркивается, что степень тяже-

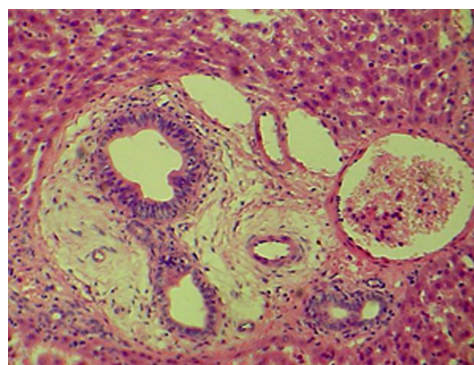
сти дисфункции орган является важным определяющим фактором прогноза сепсиса. Отмечается, что характер, патогенность и продолжительность воздействия микробного фактора во многом определяет выраженность полиорганной дисфункции [3]. В развитии септической реакции и полиорганной недостаточности принципиальная роль отводится недостаточности печени [7], общеизвестно об активном участии звездчатых макрофагов печени (звездчатые макрофаги печени – так называемые клетки Купфера – кК) в защите организма от токсических веществ и инфекции [8]. На сегодняшний день в большинстве случаев сепсис вызван грамположительной микрофлорой; однако, патогенез сепсиса, вызванного грампози-

тивной флорой, до настоящего времени изучен значительно меньше. В общей сумме возбудителей сепсиса возрастает доля коагулазонегативных («эпидермальных») стафилококков, метициллинорезистентных штаммов золотистого стафилококка и энтерококков, возрастает также удельный вес сепсиса смешанной этиологии. Несмотря на огромное количество литературных данных, до настоящего времени морфологический субстрат полиорганной недостаточности – одной из ведущей причины высокой летальности, – в динамике сепсиса различной этиологии изучен недостаточно. В настоящей работе мы представляем некоторые результаты нашего опыта работы в этой области.

культуры эпидермального стафилококка штамма № 3347 [2, 4]. Контролем служили интактные животные (3 кролика). Здесь мы представляем данные исследования печени тех кроликов, которые перенесли бактериальную интоксикацию и были выведены из эксперимента на 9-е, 10-е и 14-е сутки после введения микробной культуры. Были использованы гистологические и морфометрические методы исследования. Для морфометрической оценки печени был использован метод «Визуальной классификации под статистическим контролем» [1]. На препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином, мы оценивали классы гепатоцитов (при увеличении 90X10), а также классы клеток Купфера (при увеличении 40X10). Было выделено 5 классов гепатоцитов, различаемых визуально (гепатоцит с нормальным строением, гепатоциты в стадии зернистой, вакуольной дистрофии и некроза, а также – двужадерный, гипертрофированный гепатоцит) и 3 классов



А



Б

Рис. 1. Гистоструктура печени кроликов из I серии экспериментов. (А – 9-е сутки после введения микробной культуры) расширение и кровенаполнение центральных вен и синусоидов печени, агрегация эритроцитов в их просветах, атрофия печеночных балок. (Б – 10-е сутки после введения микробной культуры) Отек и разрыхление соединительной ткани вокруг портального поля, агрегация эритроцитов в просвете междолькового сосуда печени. Парафиновые срезы, окраска гематоксилин-эозином, увеличение: А, Б – х200

Цель исследования

Целью настоящей работы явилось гистологические и количественное исследование патоморфологических изменений печени в динамике экспериментального стафилококкового сепсиса с учетом его этиологической структуры.

Материалы и методы исследования

Эксперименты были проведены на 20 половозрелых кроликах обоего пола породы «Шиншилла». Им предварительно внутривенно вводили стафилококковый токсин 0,06 мл (Lh – 0,08) и через 48 часов кроликам из первой серии экспериментов внутрибрюшинно – 30-миллиардную взвесь 24-часовой культуры золотистого стафилококка штамма № 4293 из крови септического больного, а кроликам из второй серии экспериментов помимо вышеотмеченного штамма в том же количестве также внутрибрюшинно вводили и 80 миллиардную взвесь

клеток Купфера (кК с нормальным строением, гипертрофированные и дистрофически-некротически измененные звездчатые макрофаги). Вычислялись средние доли каждого класса и их доверительные интервалы в процентах. На срезах печени, окрашенных гематоксилин-эозином (при увеличении 20X10), методом точечного счета измерялись средние доли гепатоцитов и синусоидов и их доверительные интервалы в процентах. Применялась окулярная вставка «ВК-4». При статистическом анализе использовали компьютерный пакет программ «Биостатистика». Исследование проводилось согласно локальным правилам по содержанию и использованию лабораторных животных.

Результаты исследования и их обсуждение

В наших экспериментах в печени был отмечен тромбогеморрагический синдром: центральные вены и синусоиды печени расширены, кровенаполнены, на-

блюдается агрегация эритроцитов в их просветах, вокруг портального поля – отек и разрыхление соединительной ткани; синусоиды расширены настолько, что наблюдается атрофия печеночных балок (рис. 1, А, Б). С удлинением срока сепсиса статистически достоверно уменьшается средняя доля гепатоцитов, а средняя доля синусоидов возрастает (рис. 2). Примечательно, что в основе современных методов комплексного лечения сепсиса лежит новое понимание сложного патогенеза данной болезни, в соответствии с которым гомеостаз организма нарушается неконтролируемым каскадом воспаления, коагуляции и фибринолиза, что приводит к тромбозам микрососудов, недостаточности органов и смерти больного; тромботическая микроангиопатия считается важным патофизиологическим звеном данного заболевания [9]. В наших предыдущих работах [5 и др.] при использовании дополнительно одного из таких методов – плазмафереза, – было зафиксировано статистически достоверное уменьшение показателя недостаточности органов и систем на 18,6%. Согласно результатам настоящей работы, тромбгеморрагический синдром охватывал не только кровь, но и ткани сосудистых стенок и паренхимы печени; тромбгеморрагические изменения имели тенденцию к нарастанию с удлинением продолжительности сепсиса.

Микроциркуляторные нарушения приводят к развитию нарастающих дистрофически-некротических изменений гепато-

цитов и синусоидальных клеток печени; клетки Купфера набухшие, местами наблюдается их гиперплазия, а также других синусоидальных клеток, инфильтрация кК, местами они десквамированы (рис. 3, А). Выявляются участки обширных некрозов гепатоцитов; в таких местах структура печени фактически стерта, отмечались обширные кровоизлияния (рис. 3, Б). С удлинением продолжительности сепсиса статистически достоверно возрастает средняя доля дистрофически-некротически измененных гепатоцитов и уменьшается средняя доля гепатоцитов с нормальным строением (рис. 4). Мы разделяем мнение о значении продолжительности воздействия микробного фактора в развитии полиорганной дисфункции [3].

Ряд авторов указывают на значение реактивности макроорганизма при сепсисе [2]; в действительности, на нашем материале, при гистологическом исследовании отмечались незначительные индивидуальные колебания, которые не выходили за пределы морфологической картины соответствующего срока выведения животных из эксперимента после введения микробной культуры. Однако, количественные параметры печени при сепсисе, вызванного только золотистым стафилококком и при сепсисе, вызванного совместным заражением кроликов золотистым и эпидермальным стафилококками, не отличались друг от друга статистически достоверно ни на 9-е, ни на 10-е и ни на 14-е сутки после введения микробной культуры (рис. 5).

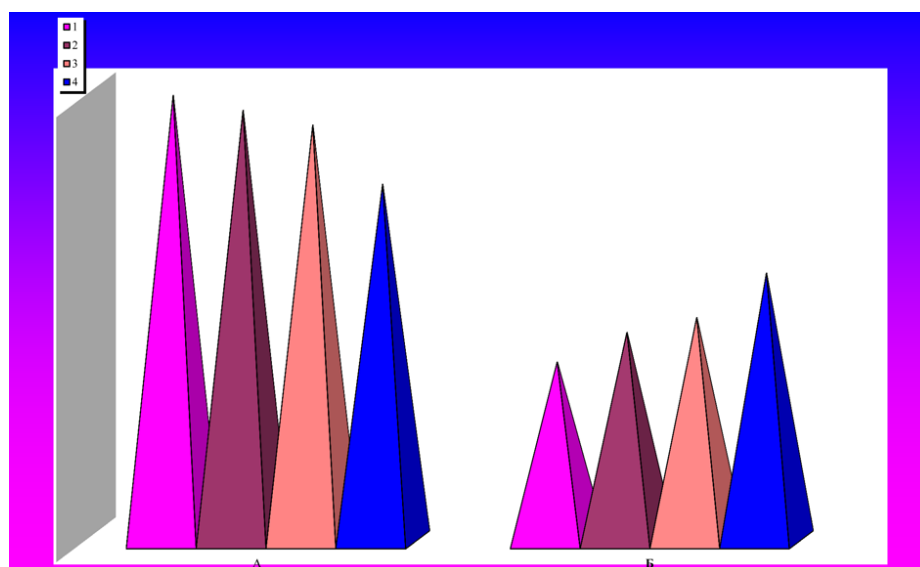


Рис. 2. Средние доли гепатоцитов (А) (%) и синусоидов (Б) (%) в контроле (1), на 9-е (2), 10-е (3) и 14-е (4) сутки после введения микробной культуры (первая серия экспериментов)

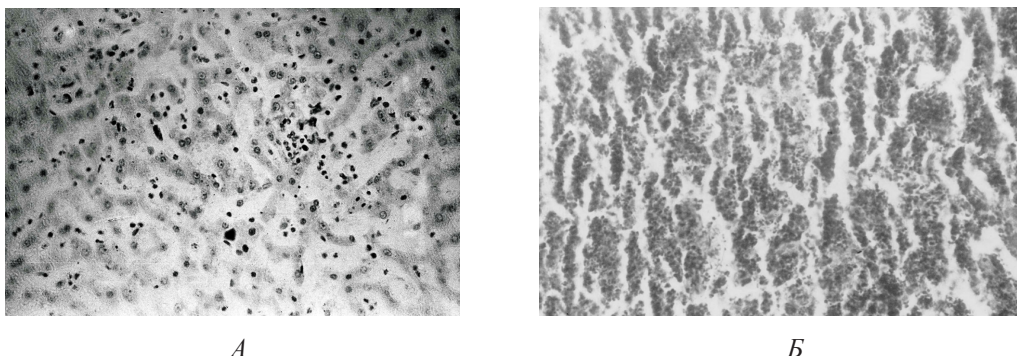


Рис. 3. Гистоструктура печени кроликов из II серии экспериментов. (А – 10-е сутки после введения микробной культуры) Набухшие кК, гиперплазия кК и других синусоидальных клеток; инфильтрация кК, местами они десквамированы. (Б – 14-е сутки после введения микробной культуры) обширные некрозы гепатоцитов; обширные кровоизлияния, структура печени фактически стерта. Парафиновые срезы, окраска гематоксин-эозином, увеличение: А, Б – $\times 400$

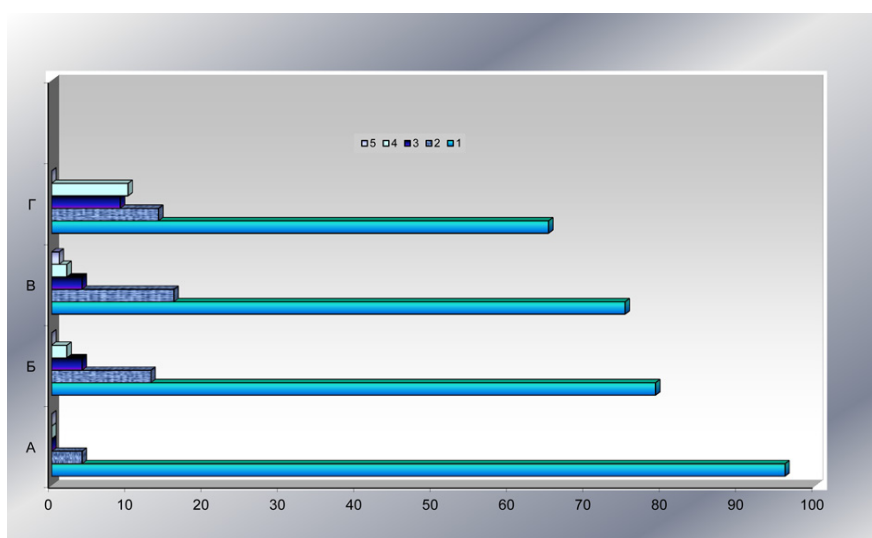


Рис. 4. Средние доли морфологических классов гепатоцитов (%) в контроле (А), на 9-е (Б), 10-е (В) и 14-е (Г) сутки после введения микробной культуры; гепатоцит с нормальным строением (1), гепатоциты в стадии зернистой (2), вакуольной (3) дистрофии и некроза (4), гипертрофированные гепатоциты (5) (первая серия экспериментов)

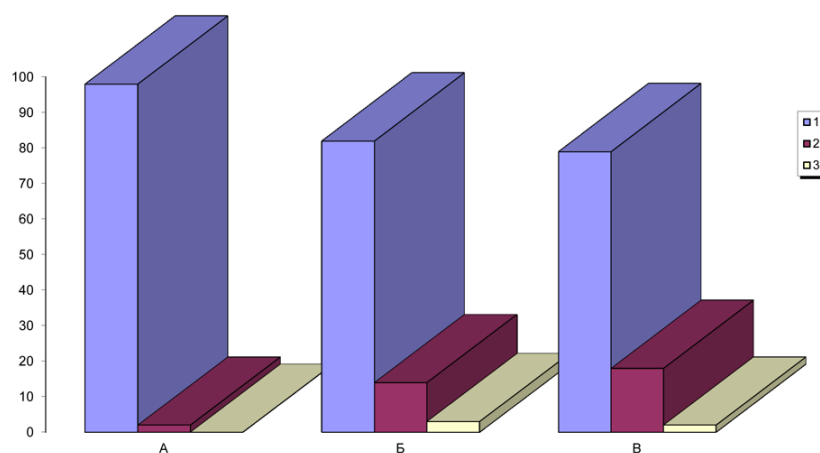


Рис. 5. Средние доли морфологических классов кК (%) в контроле (А), в первой (Б) и во второй (В) сериях экспериментов; 1 – кК с нормальным строением, 2 – гипертрофированные кК, 3 – дистрофически-некротически измененные кК (10-е сутки после введения микробной культуры)

Заключение

Количественные параметры печени при сепсисе, вызванного только золотистым стафилококком и при сепсисе, вызванного совместным заражением кроликов золотистым и эпидермальным стафилококками, не отличались друг от друга статистически достоверно ни на 9-е, ни на 10-е и ни на 14-е сутки после введения микробной культуры; при гистологическом исследовании отмечались незначительные индивидуальные колебания, которые не выходили за пределы морфологической картины соответствующего срока выведения животных из эксперимента после введения микробной культуры.

При экспериментальном стафилококковом сепсисе различной этиологии в печени были выявлены однотипные изменения; в первую очередь, нарастающие с удлинением продолжительности сепсиса микроциркуляторные нарушения, которые приводят к развитию также нарастающих дистрофически-некротических изменениях гепатоцитов и синусоидальных клеток печени.

Список литературы

1. Дгебуадзе М.А., Сравнительная характеристика структурных изменений печени и селезенки при воздействии на организм «чистой» и комбинированной с острой

кровопотерей механической травмы: Дис.... канд. мед. наук. – Тбилиси, 1985. – С. 41–44.

2. Думбадзе Г.Г. Узловые вопросы патогенеза сепсиса в эксперименте / Г.Г. Думбадзе, В.Г. Бочоришвили, М.Г. Моисрапишвили. – Тбилиси: из-во НИИ эксп. и клинич. медицины ТГМУ, 1996. – 182 с.

3. Проблема абдоминального сепсиса в хирургии. Сообщение 4: Полиорганная недостаточность / С.А. Алексеев, Ю.М. Гаин, В.Г. Богдан, Ю.А. Соколов // Белорусский медицинский журнал. – 2003. – № 1. – С. 21–25.

4. Создание и изучение экспериментальной модели различных форм стафилококкового сепсиса / В.Г. Бочоришвили, Г.Г. Думбадзе, Дж.Л. Трапидзе и др. // Тез. Респ. Конфер. по сепсису. – Тбилиси, 1984. – С. 47–48.

5. Эффективность плазмафереза при лечении хирургического сепсиса с полиорганной недостаточностью / Г.Г. Адамашвили, М.А. Дгебуадзе, Е.В. Швангирадзе, И.А. Коринтели // Новости хирургии. – 2011. – Т. 19, № 1. – С. 68–71.

6. Angus D.C. Critical Care Medicine: Severe Sepsis and Septic Shock / D.C. Angus, T. Van der Poll // N Engl J Med. – 2013. – Vol. 369, N 9. – P. 840–851.

7. Compensatory hepatic regeneration after mild, but not fulminant, intraperitoneal sepsis in rats / Y.G. Weiss, L. Bellin, P.K. Kim et al. // Am. J. Physiol. – Gastrointestinal and Liver physiology. – 2001. – Vol. 280, № 5. – P. 968–973.

8. Kupffer Cells Protect Liver Sinusoidal Endothelial Cells from Fas-Dependent Apoptosis in Sepsis by Down-Regulating gp130 / N.A. Hutchins, Chung Chun-Shiang, J.N. Borgerding et al. // Am J Pathol. – 2013. – Vol. 182, № 3. – P. 742–754.

9. The tissue factor and plasminogen activator inhibitor type 1 response in pediatric sepsis induced multiple organ failure / J. Green, L. Doughty, S.S. Kaplan et al. // Thromb Haemost. – 2002. – V. 87, N2. – P. 218–223.

10. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definition conference / M.M. Levi, M.P. Fink, J.C. Marshall et al. // Crit Care Med. – 2003. – V. 31, N4. – P. 1250–1256.