

УДК: 616.72-002.77+616.071

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ПОРАЖЕНИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Торяник И.И., Казмирчук В.В.

ГУ «Институт микробиологии и иммунологии
им. И.И. Мечникова
НАМН Украины»

Введение

Интерес к изучению стафилококковой желудочно-кишечной инфекции вызван отнюдь не проблемами в патологической анатомии данного нозологического феномена, а, по сути, частотой возникновения первичных стафилококковых поражений упоминаемых органов [8]. Структурно-функциональные изменения в органах пищеварительной системы при стафилококковой инфекции изучены досконально еще в 80-е годы прошлого столетия [4]. Однако отдельные механизмы данного процесса вызывают противоречия, дискуссионными остаются вопросы, связанные с ультрамикроструктурной трактовкой патологической картины поражения, ее стадийностью. До сих пор отсутствует унифицированный подход к созданию экспериментальной модели стафилококковой инфекции, которая бы устраивала своими критериями исследователей различных отраслей как прикладной, так и теоретической медицины. Крайне недостаточными оказались данные по интервенции последствий стафилококковой инфекции как вторичного очага (в частности при панкреатитах и холангитах инфекционного генеза) [1;2;6]. Эта проблема уже многие годы остается животрепещущей для современной абдоминальной хирургии и считается причиной довольно высокой госпитальной и постгоспитальной смертности у профильных больных. Взяв во внимание даже этот крайне краткий перечень социально-медицинских показаний для изучения этиопатогенеза стафилококковой инфекции в экспериментальных условиях, становится понятным ее чрезвычайная значимость и важность для нас.

Материал и методы исследования

Материалом настоящего исследования стали кусочки стволов ветвей брыжеечных артерий, желудка, тонкого, толстого кишечника самцов крыс линии Вистар (n=72) 3-х- 6-ти месяцев, массой от 160-175 г линейных лабораторных мышей (n=55), в возрасте 5-ти - 7-ми недель, массой 20-25 г, которым в экспериментальных целях вводили интраперитонеально возбудитель *S. aureus*. Все животные имели соответствующую документацию ветеринарной службы Украины, представленную в установленной регистрационной форме. Животных удерживали в стандартных условиях вивария («климат - контроль») вивария ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова НАМН Украины» (температура воздуха

составляла 18 - 24 °С, с учетом пойкилотермности особей, относительная влажность не превышала уровень в 50-70%; норма искусственного освещения поддерживалась на цифре 60 лк с 12-ти часовым циклом). Доступ к продуктам питания и воде для животных оставался свободным. Санация вольеров осуществлялась еженедельно, в соответствии с планом экспериментальных исследований [3]. Первую группу составляли животные, относящиеся к интактному контролю (к ним не применяли никаких экспериментальных мероприятий, используя исключительно в плане сравнения и отсроченного наблюдения). Во вторую группу входили опытные особи с моделированным перитонитом, мезентеритом и первичными/ вторичными воспалительными явлениями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Всех животных по окончании экспериментальных исследований и наблюдений выводили из опыта путем передозировки кетаминового/ амфитаминового наркоза и последующей декапитации. Забор материала (органов-мишеней) производили в условиях ветеринарной операционной. Вскрытие трупов животных осуществлялось по традиционной схеме. Фиксацию материала выполняли в 12%-м растворе формалина на фосфатном буфере (pH=7,0-7,2), прибегая к помощи анатомических эксикаторов с плотно притертыми крышками. Хранение фиксированных органов осуществлялось в специально отведенном помещении при температуре 18 - 21 °С.

Гистологические методы исследования

Нативные препараты стенок желудка, тонкого, толстого кишечника, в виде кусочков размерами 5x5 мм подвергали фиксации в растворе 12%-го формалина на фосфатном буфере (pH=7,0-7,2). Обезживание производили по традиционной схеме, используя батарею спиртов возрастающей концентрации от 30° до абсолютного. Парафиновые/ целлоидиновые блоки резали в трех взаимно перпендикулярных плоскостях, прибегая к помощи санного либо ротационного микротомов. Окрашивали срезы в зависимости от нужд исследования (гематоксилином-эозином, азуром-эозином, по Граму-Вейгерту, Нисслю, Барреру-Клюверу, импрегнировали серебром по Бильшовскому-Грос, осмием по Марки, по Браше). Анализ структурно-функциональных сдвигов производили в светооптическом микроскопе ЛОМО (x300; x600; x1350). Идентичные показатели обобщали, статистическую обработку осуществляли, используя общепринятый пакет программ «Statistica».

Метод трансмиссионной электронной микроскопии

Метод электронной трансмиссионной микроскопии использовался для выявления и изучения ультраструктурных изменений в двухмерной системе (плоскость, образованная осями OX; OY) координат. Кусочки стволов ветвей брыжеечных артерий, желудка, тонкого, толстого кишечника, размером 0,5x0,5 см выделяли в ближайшие сроки постмортального периода. Тщательно промывали в проточной воде, осторожно выдерживая будущие препараты на пластико-

вых инагрегатных сетках для предупреждения повреждений нежных органно-тканевых структур. Далее полученный материал фиксировали в 2 %-м глутаровом альдегиде на фосфатном буфере (pH=7,3-7,4). В последствии фрагменты постфиксировали в 1%-м растворе оксида осмия на фосфатном буфере (pH=7,3-7,4), обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, ацетоне, заливали в епон-аралдит. Ультратонкие срезы изготовляли, прибегая к помощи ультрамикротомы, контрастировали уранил-ацетоном, цитратом свинца, анализировали (x3600; x6000; x12000) в электронном микроскопе («Olympus», Япония). Анализ результатов исследования проводили в сравнительном аспекте. В случае получения идентичных данных, - суммарно, руководствуясь базовыми принципами медицинской морфометрии.

Результаты и обсуждение

В результате исследований было установлено, что морфологические изменения в органах (желудок, тонкий, толстый кишечник, ветви брыжеечных артерий), обнаруженные в результате вскрытия животных носили идентичный характер и проявлялись как макро, так и микроскопически. Макроскопически обнаруживалась выраженная гиперплазия органов, расширение. В просвете полостей содержалась тягучая, жидкость зеленовато-желтого цвета с явно присутствующими комочками слизи и прожилками крови. Слизистая оболочка желудка в области большой, малой кривизны, дна выражено полнокровна, набухшая, в отдельных участках рыхлая. На поверхности слизистой отчетливо заметны отрубевидные налеты, фиброзные, фиброзно-пленчатые наложения в виде плотных пластов, которые носят распространенный характер. Лимфатический аппарат гиперплазирован. Маргинальные зоны заметно расширены, в периферических отделах существенно размыты, что не позволяет ad oculi определить даже приблизительные границы последних. Фолликулы увеличены в объеме, размерах, набухшие. Толстый кишечник характеризуется наличием сходных изменений, однако, они менее ярко выражены. Гиперемия в данных наблюдениях носит превалирующий характер.

Микроскопически: определяются выраженные альтеративные изменения, в особенности верхушечных участков ворсинчатого аппарата. Эндотелий ворсин четко выражен лишь в глубине крипт. Альтеративные изменения затрагивают собственный слой слизистой оболочки и ее подслизистый слой. В местах наиболее тесного контакта возбудителя и тканевых компонентов в отдаленные периоды наблюдений диагностируются очаги некроза, на границе которых отмечаются отек, полнокровие, вызванные многочисленными картинами стазов, кровоизлияния. Типичным доказательством развития воспалительной реакции могут считаться явления лейкоцитарной инфильтрации (нейтрофилы, лимфоциты - в отсроченные периоды наблюдения). В подслизистой основе в условиях отсутствия явных дефектов стенок полых органов наблюдаются выраженные сосудистые рас-

стройства: гиперемия, тромбозы, стазы, локальные кровоизлияния.

Морфологическая картина сосудистого русла брыжеечных артерий и их ветвей состоит в заметных изменениях стенок и клеточного звена циркулирующей крови. На микрофотографиях многочисленные признаки расстройств гемодинамики, связанных с нарушениями реологических свойств циркулирующей крови и проницаемости сосудистой стенки [5]. Последнее объясняется перечнем факторов, вызванных не только структурными особенностями строения слоев, но и поверхностной, внутренней цитоархитектоникой эритроцитов, жидкостной фазой (физико-химические свойства сыворотки, нарушением процессов обмена в организме в целом). Функциональная специфика возбудителя, изменения адгезирующих свойств эритроцитов, вероятные сдвиги в тромбоцитарной системе, - все это безусловные факторы стимуляции тромбоза брыжеечных сосудов [7; 8]. Последние способствуют нарушениям трофики окружающих тканей развития деструктивно-дегенеративных, некробиотических процессов, а в осложненных случаях выраженных дефектов, пенетраций стенок, иллюстрирующих перитонит/мезентерит.

В острую фазу заболевания отмечают в пограничной зоне с некротизированными участками накопления стафилококков. Часть возбудителя подвергается активному фагоцитозу нейтрофильными лейкоцитами.

Ультрамикроскопически: эпителий желудка, энтероциты с признаками кариорексиса и кариопикноза. Цитоплазма вакуолизирована. Митохондрии теряют структурную целостность, их кристы деструктурированы. Цистерны эндоплазматической сети заметно расширены. В цитоплазме клеток в большом количестве присутствуют лизосомальные компоненты. Клеточные мембраны зачастую утрачивают свою целостность, наблюдается большое количество дефектов. Нарушается целостность ядерных оболочек клеток, что, без сомнения, лежит в основе дальнейших грубых структурных нарушений полых органов желудочно-кишечного тракта экспериментальных животных.

Интересными, на наш взгляд, являются факты регенерации отдельных участков исследуемых органов, что может явиться результатом затихания процессов воспаления, элиминации возбудителя под влиянием тех или иных процессов (в том числе, лечебно-профилактического свойства). Ворсины тонкого кишечника содержат целостный эпителиальный покров, в подслизистой основе отсутствуют признаки воспалительных явлений.

Выводы:

- наиболее приемлемыми для экспериментального моделирования стафилококковой инфекции, по нашему мнению, могут считаться крысы линии Вистар и линейные мыши;
- проявления экспериментальной стафилококковой инфекции в исследовании фиксировались макромик-

ро и ультрамикроскопически;
- к их числу относили: гиперплазию тканевых элементов, отек, альтеративные изменения, кровоизлияния, появление фиброзных и фиброзно-пленчатых наложений, кариорексис, кариопикноз, лейкоцитарную инфильтрацию.

Литература:

1. Kapshitar AV Diagnostic laparoscopic procedures in patients with hemorrhagic necrotizing pancreatitis complicated with aseptic peritonitis / Harkivska hirurgichna school. - 2009. - № 3.1 (35). - P. 42-44.
2. Lupaltsov VI The role and place of vascular and REOL-mental disorders in the pathogenesis of acute pancreatitis / / In.: Mater. scientific. - Pract. Conf. "Aktualni pitannia diagnostiki i likuvannya GOSTR pancreatitis" / VI Lupaltsov. - Lviv, 2002.-P.48-51.
3. Nozdrachev AD Anatomy of the rat (laboratory animals) / AD Nozdrachev, EL Poles under. Ed. Acad. AD Nozdracheva. - Spb.: Lan, 2001. -464 S.
4. Prevention and treatment of wound complications in abdominal surgery / SA Kolesnikov, BS Co-boots, PA Petrov, MV Duganova // Harkivska hirurgichna school. - 2009. - № 3.1 (35). - P. 196-197.
5. The wall of the blood vessels in the athero-and thrombogenesis [studies in the Soviet Union / ed. Chazov EI, Smirnov VN Academy of Medical Sciences of the USSR.]. - M.: Medicine, 1983. - 208.
6. Treatment of advanced tactics infected pancreatic necrosis / I. B. Yarema, NE. Kolobov, V. Kazarian, ST. Poles // The third Moscow Assembly "Health capital": Proc. Reports. - 2004. - S. 57-58.
7. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patient [Text] / F.L. Ferreira, D.P. Bota, A. Bross // JAMA.- 2002.- Vol. 286.- P. 1754-1758.
8. Rockey D.C. Gastrointestinal bleeding [Text] / D.C. Rockey // Gastroenterology Clinic.- 2005.- N 34.- P. 581-584.

УДК 616.72-002.77+616.071

ПАТОМОРФОЛОГІЧНА КАРТИНА УРАЖЕННЯ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ У РАЗІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ СТАФІЛОКОКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ

Торяник І.І., Казмирчук В.В.

У статті представлений уніфікований підхід до створення моделі стафілокової інфекції в експерименті на самцях щурів лінії Вістар та лабораторних мишей. Матеріалом дослідження стали самці щурів лінії Вістар (у віці 3-х- 6-ти місяців, вагою 160-175 г, у кількості 72 особин (n= 72)) та лабораторних лінійних мишей (у віці 5-7 тижнів, вагою 20- 25 г, у кількості 55 особин (n=55)). Мета дослідження досягалася шляхом отримання стандартних уражень від стафілокової інфекції базових структур органів травної системи та колатеральних судин, схожих із тими, що виникали у людини у разі розвитку традиційної клінічної патології. Результати оцінювали за характером виявлених морфологічних змін (деструктивно- дегенеративні

зміни судин, кариорексис, кариопікноз, запальні процеси. Резумуючи досягнуте, відмітимо ефективність проведеного експерименту та оптимістичні перспективи застосування екстраполятивних даних у якості фундамента для подальшої апробації новаторських методів інтервенції стафілокової інфекції.

Ключові слова: патоморфологічні зміни, експериментальна стафілокова інфекція, самці щурів лінії Вістар, самці лабораторних мишей, колатеральне кровопостачання.

УДК 616.72-002.77+616.071

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА ПОРАЖЕНИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Торяник И.И., Казмирчук В.В.

В статье представлен унифицированный подход к созданию модели стафилококковой инфекции в эксперименте на самцах крыс линии Вистар и лабораторных мышей. Материалом исследования стали самцы крыс линии Вистар (в возрасте 3-х- 6-ти месяцев, весом 160- 175 г, в количестве 72 особей (n=72)) и лабораторных мышей (в возрасте 5-7 недель, весом 20- 25 г, в количестве 55 особей (n=55)). Цель исследования достигалась путем получения стандартных повреждений в результате стафилококковой инфекции базовых структур органов пищеварительной системы и ее коллатеральных сосудов, сходных с теми, что возникали у человека в результате традиционной клинической патологии. Результаты оценивали по характеру выявленных морфологических изменений (деструктивно-дегенеративные изменения сосудов, кариорексис, кариопикноз, воспалительные процессы. Резюмируя достигнутое, отметим эффективность проведенного эксперимента и оптимистические перспективы экстраполятивных данных в качестве фундамента для дальнейшей апробации новаторских методов интервенции стафилококковой инфекции.

Ключевые слова: патоморфологические изменения, экспериментальная стафилококковая инфекция, самцы крыс линии Вистар, самцы лабораторных мышей, система пищеварения, коллатеральное кровообращение.

UCD 616.72-002.77+616.071

PATOMORPHOLOGICAL PICTER OF THE DIGESTIVE DAMAGES ON EXPERIMENTAL STAFILOCOCCUS INFECTIONS

Torianik Inna I., Kazmirchuk Victor V.

The unification approach to the creation of the staphylococcus infection model in the Wistar rat's and laboratory mike is presented in the article. The examinational material are in Wistar rat's (of the 3-d- 6th month age's (n=72), the 160-175 g by weight) and mike male (of the 5-th- 7-th need age's (n=55), the 20-25 g by weight). The purpose of the experiment's are achieving by the seding staphylococcus infection means of the basic structures and collateral blood vessels of the digestive system damages, that similar with the such in a human in a case of the development of a traditional clinic pathology. The results are evaluated

to character of the morphological changes (blood vessels destructive and degenerative alterations, caryoraxis, caryopicnosis, inflammatory processes). Sum upping, of capable of the achievement, we are noting carried out experiment's efficiency and the using optimistic perspective of the extrapolative data in the capacity as a foundation for the further of the newest methods of the staphylococcus infection intervention.

Key words: patomorphological changes, experimental staphylococcus infection, Wistar rat's male, laboratory mice male, digestive system, collateral blood microcirculation.