

УДК 616-0014:616-001.17]092.5
DOI: 10.24061/1727-0847.18.1.2019.4

І.Я. Дзюбановський, Б.М. Вервега*, С.Р. Підручна, Н.А. Мельник

*Кафедра хірургії (зав. – проф. І.Я. Дзюбановський) Навчально-наукового інституту післядипломної освіти ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»; *кафедра патологічної фізіології (зав. – проф. М.С. Регеда) Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького*

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ПЕЧІНЦІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПЕРИТОНІТІ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Резюме. Актуальною залишається невирішена проблема діагностики та лікування хворих з гострим поширеним перитонітом на тлі цукрового діабету, яка є наслідком недостатнього вивчення морфофункціональних змін за цієї коморбідної патології. Дослідити морфологічні зміни в печінці піддослідних тварин при змодельованому гострому поширеному перитоніті на тлі цукрового діабету порівняно із тваринами з експериментальним гострим поширеним перитонітом. У роботі використовували 56 білих щурів. Цукровий діабет моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину фірми «Signal» з розрахунку 7 мг на 100 г маси тварини, гострий поширений перитоніт – введенням 0,5 мл 10 % профільтрованої калової суспензії в черевну порожнину досліджуваних тварин. Досліджували тканину печінки на 1-шу, 3-тю, 7-му доби від початку моделювання перитоніту. Встановлено, що при гострому поширеному перитоніті на тлі цукрового діабету у більшою мірою виражені морфофункціональні порушення порівняно з групою тварин зі змодельованим гострим перитонітом. У тварин із гострим поширеним перитонітом відзначаються ознаки погіршення структури печінкової часточки, що виявлялося у посиленні інфільтрації, розширенні жовчних капілярів. У групи тварин з гострим поширеним перитонітом на тлі цукрового діабету балкова організація гепатоцитів була порушеною по всій величині часточки. Цитоплазма клітин як центрлобулярної зони, так і середньої третини часточки та перипортальних полів була зернистою, а в окремих полях зору – просвітленою та спустошеною. Спостерігались внутрішньоклітинні холестази. Переважна більшість гепатоцитів містила ядра, хоч виявлялись й безядерні гепатоцити. Контури клітин різко змінювались, структура гепатоцитів також була різною, що відповідало дистрофічно-некротичним змінам. У тварин із гострим поширеним перитонітом на тлі цукрового діабету порівняно з групою тварин, яким моделювали гострий перитоніт, виникали більш виражені порушення часточкової структури з розширенням центральних вен, лімфогістіоцитарною інфільтрацією перипортальних трактів, розширенням синусоїдів, дистрофічно зміненими та некротизованими гепатоцитами центрлобулярної зони часточки.

Ключові слова: гострий поширений перитоніт, цукровий діабет, морфологічні зміни печінки.

Актуальністю сьогодення є проблема вчасної діагностики і лікування гострого поширеного перитоніту (ГПП) на тлі цукрового діабету (ЦД) [1, 2]. Важливість цієї проблеми зумовлена збільшенням кількості хворих на ГПП та високою смертністю, яка зумовлена тим, що перитоніт виникає на тлі вже існуючих патологічних змін, спричинених коморбідним станом. У таких випадках клінічний перебіг гострої хірургічної патології може маскуватися симптомами супутньої хвороби або її ускладненнями. Це призводить до того, що навіть у досвідчених хірургів виникають труднощі як у діагностичному плані, так і у визначенні тактики лікування. Очевидно, що поліморбідність сучасних пацієнтів зумовлена не тільки умовами

життя, екологічними негараздами, а й більшими діагностичними можливостями [1, 3, 4].

Багатофакторність та полікомпонентність розвитку патофізіологічних розладів в організмі й складні морфофункціональні зміни внутрішніх органів призводять до розвитку ускладнень, що є основними причинами летальності при перитоніті [5, 6]. Нездатність захисних сил організму до локалізації інфекції й адекватного виведення токсинів внаслідок патогенетичних особливостей ЦД зумовлює у цих хворих розвиток синдрому поліорганної недостатності. У патогенезі ГПП важливе місце посідають первинне ушкодження, пов'язане безпосередньо з дією токсинів у місці ушкодження, та вторинні ушкоджувальні фактори, до

яких зараховують гіпотензію, гіпоксію, анемію, порушення водно-електролітного обміну, системні запальні реакції та інші розлади, що виникають на системному рівні. Ці фактори є універсальними для різноманітних критичних станів і впливають на перебіг захворювання [2]. Для з'ясування особливостей структурних змін у паренхімі печінки використані тварини з експериментальною моделлю ГПП та при експериментальному перитоніті на тлі ЦД.

Мета дослідження: дослідити морфологічні зміни в печінці при змодельованому ГПП на тлі ЦД порівняно із тваринами з експериментальним ГПП.

Матеріал і методи. В експерименті використано 56 білих щурів, яких було розподілено на три групи: основна група – 24 тварини із змодельованим ГПП на тлі ЦД; група порівняння – 24 тварини із змодельованим перитонітом; контрольну групу становили 8 інтактних тварин, які утримувалися у стандартних умовах віварію. Усі порівнювані групи тварин були репрезентативними за вагою, статтю та віком. Це експериментальне дослідження проводилося із дотриманням загальних правил і положень Європейської Конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001) та Закону України «Про захист тварин від жорстокої поведінки» (2006).

Експериментальний ЦД відтворювали шляхом внутрішньоочеревинного застосування стрептозотоцину натрієвої солі в дозі 60 мг/кг (фірми «Sigma»), який розчиняли в буферному натрієво-цитратному розчині рН 4,5). Дослідження вмісту глюкози здійснювали о 9:00 год за умов вільного доступу експериментальних тварин до їжі та води впродовж нічного періоду. Упродовж усього періоду спостереження щурів застосовували інсулін (0,2 ОД підшкірно два-пять разів на тиждень).

Через 2 тижні з моменту застосування стрептозотоцину у щурів з венозної крові, яку отримували із хвостатої вени, визначали вміст глюкози і в подальших дослідженнях спостерігали тільки тих щурів, у яких вміст глюкози складав більше 300 мг/л. Тваринам контрольної групи натомість стрептозотоцину вводили підшкірно стерильний 0,9 % розчин натрію хлориду [7].

Вплив ЦД на перебіг ГПП вивчали на моделі, запропонованій В.А. Лазаренком і співавторами [8]. Ця модель за етіологічними чинниками, клінічними проявами і фазністю перебігу близька до ана-

логічного процесу в людини. На 14-ту добу після уведення стрептозотоцину тваринам основної групи вводили 10 % профільтовану калову суспензію в черевну порожнину досліджуваних щурів у дозі 0,5 мл на 100 г маси тіла. Щури порівняльної групи отримували внутрішньоочеревинно уведення калової суспензії. Калову суспензію отримували шляхом змішування ізотонічного розчину і калу зі сліпої кишки 2-3 інтактних тварин, потім її двічі фільтрували через подвійний шар марлі. Одержану суспензію не пізніше ніж через 20 хв після приготування вводили інтактним щурам пункційним способом. Щоб уникнути пошкодження внутрішніх органів при введенні калової суспензії в черевну порожнину, тварин тримали вертикально, каудальним кінцем вгору. Методом пункції вентральної стінки в центрі середньої лінії живота, направляючи кінець голки по черзі у праве і ліве підребер'я, праву та ліву клубові ділянки, вводили однакову кількість калової суспензії.

Контрольну групу становили інтактні тварини, яких утримували у стандартних умовах віварію. Вилучення матеріалу для гістологічного дослідження здійснювалося на 1-шу, 3-тю та 7-му добу після виведення тварин з експерименту шляхом їх декапітації під тіопенталовим наркозом. Шматочки м'язів та тканини печінки фіксувалися впродовж 72 годин у 10 % розчині формальдегіду, після чого піддавалися стандартній гістологічній проводці через спирти, концентрація яких збільшувалася, рідину Нікіфорова (96 % спирт і діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ і заливалися парафіном. Із приготовлених парафінових блоків готували серійні зрізи товщиною 4-5 мкм.

Для гістологічних досліджень брали тканину печінки. Отримані шматочки органа фіксували у 10 % нейтральному розчині формаліну і фіксаторі Ліллі, з подальшою заливкою у парафін.

Отримані на санному мікроскопі зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, за Гейденгайном та за Шабадашем. Характер та глибину морфологічних змін визначали за допомогою мікроскопа Olimpus і системи виводу зображень гістологічних препаратів.

Результати дослідження та їх обговорення. Найбільш поширеними і ранніми змінами у паренхіматозних органах як при ГПП, так і ГПП на тлі ЦД були гемодинамічні порушення, які проявлялися спазмом судин мікроциркуляторного русла (артеріол) у вигляді зменшення просвіту судин та практичній відсутності еритроцитів у них.

Під час гістологічного дослідження тканини

печінки у тварин, яким моделювали ГПП на 1-шу добу експерименту, нами виявлено, що структура печінкової часточки була збереженою частково. Центральні вени добре візуалізувались, дещо розширювались та містили поодинокі еритроцити. Синусоїди контурувались лише навколо центральних вен, в їх просвітах виявлялась незначна кількість макрофагів та поодинокі еритроцити (рис. 1). У тварин із змодельованим ГПП на тлі ЦД балкова організація гепатоцитів була порушеною по всій величині часточки. Цитоплазма клітин централобулярної зони, середньої третини часточки та перипортальних полів була зернистою, а в окремих полях зору – просвітленою, спустошеною (рис. 2). Переважна більшість гепатоцитів містили ядра. Контури клітин дещо змінювались, структура гепатоцитів була різною. Ядра містили переважно усі клітини, проте величина ядер також була різною у всіх групах клітин.

Портальні тракти розширювались в основному за рахунок розширення і повнокрів'я судин та незначного розширення жовчних протоків. Жовчні пігменти у їх просвітах були відсутніми (рис. 3). Периваскулярний набряк не спостерігався. Лімфогістіоцитарна інфільтрація була помірною.

Нами виявлено, що структура печінки у тварин з ГПП на 3-тю добу експерименту зазнала ряду змін. Структура печінкової часточки була збереженою частково. Центральні вени добре візуалізувались, дещо розширювались та містили невелику кількість еритроцитів (рис. 4, 5). Синусоїди контурувались лише навколо центральних вен, у їхніх просвітах виявлялась незначна кількість макрофагів та поодинокі еритроцити (див. рис. 5). У тварин із змодельованим ГПП на тлі ЦД балкова організація гепатоцитів була порушеною по всій величині часточки. Цитоплазма клітин централобулярної зони, середньої третини час-

точки та перипортальних полів була зернистою, а в окремих полях зору – просвітленою, спустошеною (рис. 6, 7). Спостерігались внутрішньоклітинні холестази (див. рис. 7). Переважна більшість гепатоцитів містили ядра, хоч траплялись і

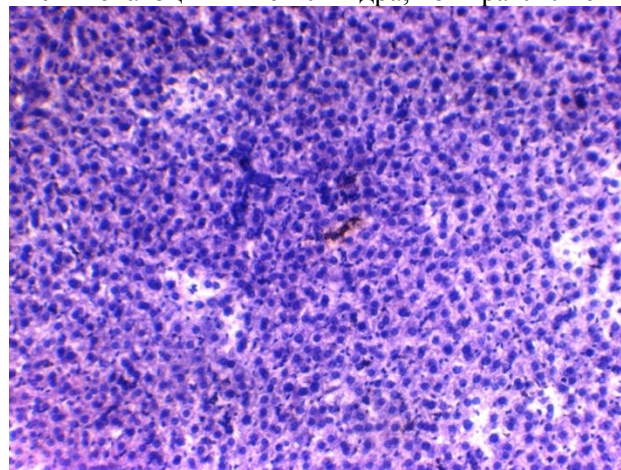


Рис. 2. Гістологічна структура печінки тварини при ГПП із ЦД на 1-шу добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

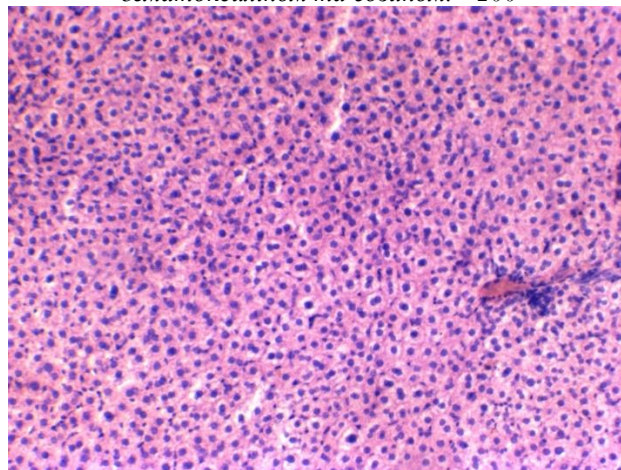


Рис. 3. Гістологічна структура печінки тварини при ГПП із ЦД на 1-шу добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

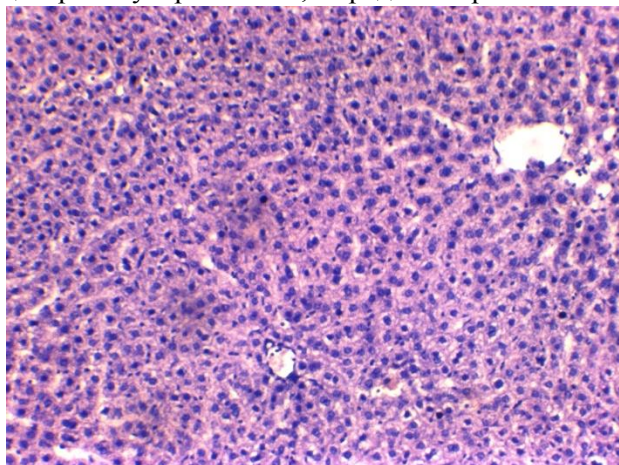


Рис. 1. Гістологічна структура печінки тварини при ГПП на 1 добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

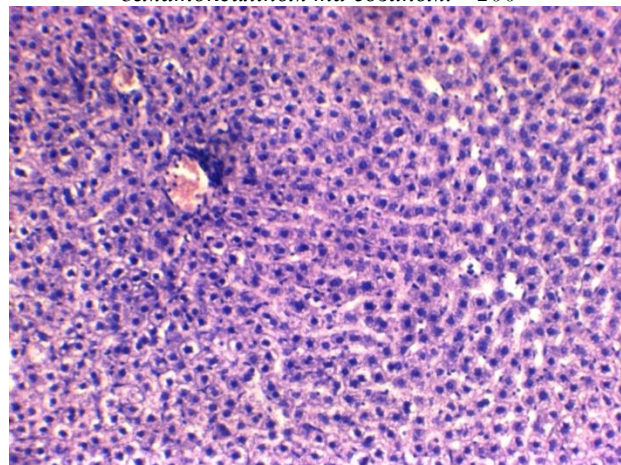


Рис. 4. Гістологічна структура печінки тварини при ГПП на 3-тю добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

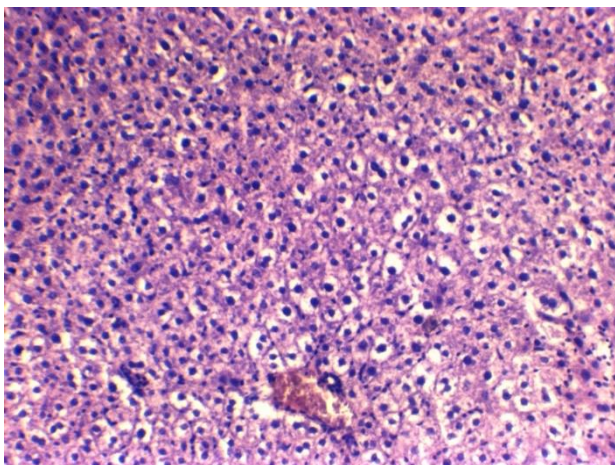


Рис. 5. Гістологічна структура печінки тварини при ГПП на 3-тю добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

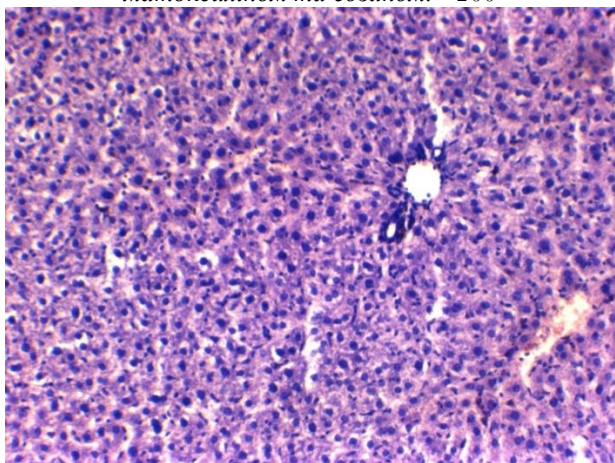


Рис. 6. Гістологічна структура печінки тварини при ГПП поєднано із ЦД на 3-тю добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

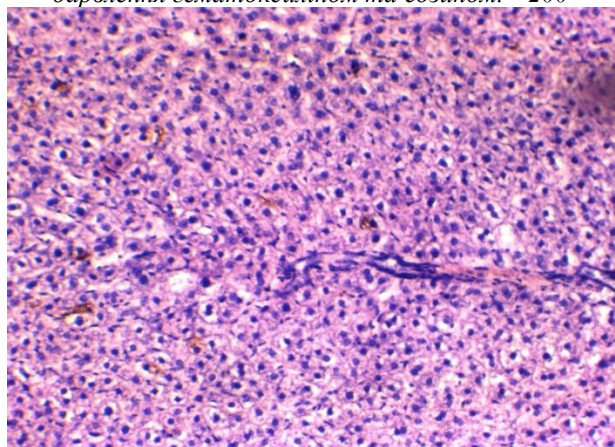


Рис. 7. Гістологічна структура печінки тварини при ГПП поєднано із ЦД на 3-тю добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

безядерні гепатоцити. Контури клітин різко змінювались, структура гепатоцитів також була різною, що відповідає дистрофічно-некротичним змінам.

Портальні тракти розширювались в основному за рахунок розширення та повнокрів'я судин та

незначного розширення жовчних протоків. Жовчні пігменти у їх просвітах були відсутніми (див. рис. 6). Периваскулярний набряк не спостерігався. Лімфогістіоцитарна інфільтрація була помірною.

При дослідженні тканини печінки тварин із ГПП на 7-мудобу експерименту нами виявлено такі морфологічні зміни. Структура печінкової часточки була порушеною. Центральні вени добре візуалізувались, незначно розширювались та містили велику кількість еритроцитів (рис. 8). Синусоїди не візуалізувались в переважній більшості полів зору, часом виявлялись лише центрлобулярно. Балкова організація гепатоцитів була порушеною по всій величині часточки. У тварин з ГПП на тлі ЦД цитопlasма клітин центрлобуляр

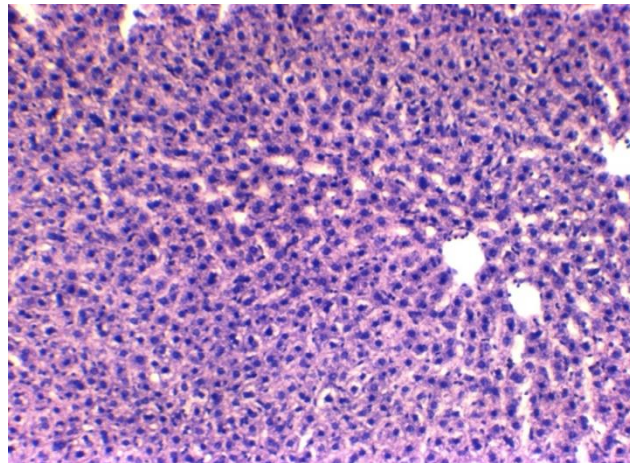


Рис. 8. Гістологічна структура печінки тварини при ГПП на 7-му добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

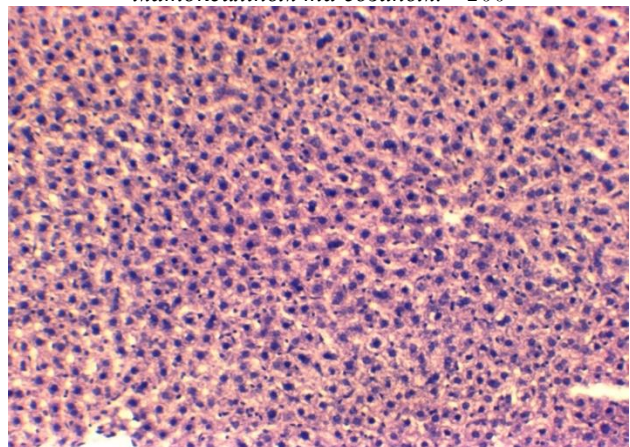


Рис. 9. Гістологічна структура печінки тварини при ГПП поєднано із ЦД на 7-му добу експерименту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

Ної зони, середньої третини часточки та перипортальних полів мала зернисту структуру, а в більшості гепатоцитів просвітленою та спустошеною (рис. 9). Переважна більшість гепатоцитів містили ядра. В окремих клітинах на фоні де-

структивних змін цитоплазми ядра були із ознаками каріопікнозу та каріолізу, що засвідчує про наявність дистрофічно-некротичних проявів. Контури клітин змінювались, міжклітинні зв'язки в переважній більшості клітин розривались.

Висновок. У тварин із ГПП на тлі ЦД порівняно із групою тварин, яким моделювали ГПП, виникали більш виражені порушення часточкової структури з розширенням центральних вен, лімфогістіоцитарною інфільтрацією перипортальних трактів, розширенням синусоїдів, дистрофічно-

зміненими та некротизованими гепатоцитами централобулярної зони часточки. У тварин із ГПП відзначаються ознаки дезорганізації структури печінкової часточки, що виявлялося у посиленні інфільтрації, розширенні жовчних капілярів.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним вважаємо вивчення специфічних морфологічних змін в інших тканинах мішенях, які б дали змогу більш чітко уявляти патоморфологічні зрушення при перитоніті за умови супутнього цукрового діабету.

Список використаної літератури

1. Дзюбановський ІЯ, Мігенько БО. Синдром поліорганної недостатності та його корекція у хворих на гострий поширений перитоніт. *Український Журнал Хірургії*. 2009;2:56-9.
2. Papanas N, Tziakas D, Chalikias G, et al. Gliclazide treatment lowers serum ICAM-1 levels in poorly controlled type 2 diabetic patients. *Diabetes & metabolism*. 2016;32(4):344-9.
3. Білик П. Гострий перитоніт як ускладнення гострого апендициту. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2016;1:187-9.
4. Гринчук ФВ. Патогенетичні, клінічні і тактичні особливості при перитоніті та поєднаній патології. *Харківська хірургічна школа*. 2014;6:47-9.
5. Spirt MJ. Complicated intra-abdominal infections: a focus on appendicitis and diverticulitis. *Postgrad Med*. 2010;122(1):39-51.
6. Kimura W, Mizutani M, Fuse A. Problems and therapeutic strategy for emergent operation of the abdomen in the aged. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi*. 2014;41(6):660-5.
7. Al-Malki AL. Oat attenuation of hyperglycemia-induced retinal oxidative stress and NF-kkB activation in streptozotocin-induced diabetic rats [Electronic resource]. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume*. 2013.
8. Лазаренко ВА, Липатов ВА, Блинков ЮЮ, Скороков ДВ. Экспериментальная модель распространённого калового перитонита. *Человек и его здоровье*. 2008;4:128-32.

References

1. Dzyubanovskiy IYa, Mihenko BO. Syndrom poliorhannoi nedostatnosti ta yoho korektsiia u khvorykh na hostryi poshyrenyi perytonit [The syndrome of multiple organ failure and its correction in patients with acute common peritonitis]. *Ukr. Zhurn. Khirurgii – Ukr. Journ Surgery*. 2009;2:56-9 [in Ukrainian].
2. Papanas N, Tziakas D, Chalikias G, Floros D, Trypsianis G, Papadopoulou E, Hatseras D. Gliclazide treatment lowers serum ICAM-1 levels in poorly controlled type 2 diabetic patients. *Diabetes & metabolism*. 2016;32(4):344-9.
3. Bilyk P. Hostryi perytonit yak uskladnennia hostroho apendytsytu [Acute peritonitis as a complication of acute appendicitis]. *Klinichna ta eksperymentalna patolohiia – Clinical and Experimental Pathology*. 2016;1:187-9. [in Ukrainian].
4. Hrynychuk FV. Patohenetychni, klinichni i taktychni osoblyvosti pry perytoniti ta poiednaniі patolohii [Pathogenetic, clinical and tactical features in peritonitis and combined pathology]. *Kharkivska khirurgichna shkola – Kharkiv Surgical School*. 2014;6:47-9. [in Ukrainian].
5. Spirt MJ. Complicated intra-abdominal infections: a focus on appendicitis and diverticulitis. *Postgrad. Med*. 2010;122(1):39-51.
6. Kimura W, Mizutani M, Fuse A. Problems and therapeutic strategy for emergent operation of the abdomen in the aged. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi*. 2014;41(6):660-5.
7. Al-Malki AL. Oat attenuation of hyperglycemia-induced retinal oxidative stress and NF-kkB activation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Volume 2013, Article ID 983923*, 8 pages.
8. Lazarenko VA, Lipatov VA, Blinkov YuYu, Skorikov DV. Eksperimental'naya model' rasprostranennogo kalovogo peritonita [Experimental model of diffuse fecal peritonitis]. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek i ego zdorov'e" – Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2008;4:128-32. [in Russian].

Відомості про авторів:

Дзюбановський Ігор Якович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри хірургії Навчально-наукового інституту післядипломної освіти ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»;

Вервега Богдана Михайлівна – кандидат медичних наук, доцент кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького;

Підручна Світлана Романівна – доктор медичних наук, завідувач кафедри медичної біохімії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України»;

Мельник Наталія Анатоліївна – кандидат медичних наук, асистент кафедри загальної гігієни та екології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Information about the authors:

Dziubanovskiy Ihor Ya. – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department of Surgery Institute of Postgraduate Education by I. Horbachevsky Ternopil State Medical University;

Verveha Bohdana M. – Candidate of Medical Sciences, Assistant of Professor of Department of Pathological Physiology of Danylo Halytsky Lviv National University;

Pidruchna Svitlana R. – Doctor of Medical Sciences, Head of Department of Medical Biochemistry by I. Horbachevsky Ternopil State Medical University;

Melnyk Natalya A. – Candidate of Medical Sciences, Assistant of Department of General Hygiene and Ecology by I. Horbachevsky Ternopil State Medical University.

Надійшла 17.12.2018 р.
Рецензент – проф. Польовий В.П. (Чернівці)