



Original Article: CARATTERISTICHE DI FORMAZIONE DI FIBROSI EPATICA IN INFEZIONE DA STAFILOCOCCO CRONICA

Citation

Zhurakovsky I. P., Arkhipov S. A., Bitkhaeva M. V., Pustovetova M. G. Caratteristiche di formazione di fibrosi epatica in infezione da stafilococco cronica. *Italian Science Review*. 2014; 5(14). PP. 192-196. Available at URL: <http://www.ias-journal.org/archive/2014/may/Zhurakovsky.pdf>

Authors

I. P. Zhurakovsky, Novosibirsk State Medical University, Russia.
S. A. Arkhipov, Novosibirsk State Medical University, Russia.
M. V. Bitkhaeva, Novosibirsk State Medical University, Russia.
M. G. Pustovetova, Novosibirsk State Medical University, Russia.

Submitted: May 10, 2014; Accepted: May 20, 2014; Published: May 31, 2014

Riassunto

Per studiare la formazione di fibrosi epatica causata da infezione da stafilococco cronica, 18 ratti maschi Wistar utilizzando inoculazione ceppo 209 nella tibia è stato riprodotto osteomielite. Gli animali sono stati ritirati dal esperimento dopo 1, 2 e 3 mesi dopo il modello della riproduzione. Come controllo, animali intatti 6. Utilizzando un metodo in due fasi immuneistochimici determinato collagene di tipo I e II, glicosaminoglicani solfati istochimicamente identificati. Inoltre, la popolazione valutata di mastociti e fibroblasti spazi portali e le cellule stellate epatiche.

Dimostrato il ruolo di infezione da stafilococco cronica nell'iniziazione e progressione della fibrosi nel fegato. I dati ottenuti indicano che in aggiunta alla versione classica di fibrosi che si realizza grazie alla attivazione delle cellule stellate epatiche da macrofagi, vi è un meccanismo alternativo che consiste nell'attivare fibroblasti spazi portali mastociti.

Parole chiave: fibrosi del fegato, collagene, glicosaminoglicani, proliferazione di fibroblasti, mastociti,

cellule stellate epatiche, Staphylococcus aureus.

Stafilococcica per più di 50 anni è uno dei problemi più importanti della scienza medica. Infezione da ceppi meticillino-resistenti di Staphylococcus aureus, occupa una posizione centrale tra le cause di morbilità e mortalità [1, 2].

Fibrosi epatica è caratterizzata da eccessiva sviluppo del tessuto connettivo a seguito di ripetute e/o danni a lungo termine che interessa il corpo. Con il suo sviluppo aumenta sostanzialmente il contenuto di collagene I, V, VI tipi, laminina, elastina, glicosaminoglicani [3].

Attualmente installata è la seguente sequenza di fibrosi epatica. Così, in epatite di eziologia diversa conseguenti danni agli epatociti di loro sono diverse sostanze biologicamente attive che comprendono perossidi e proteasi. Queste sostanze attivano macrofagi del fegato, così come l'endotelio sinusoidale. Le cellule attivate, a sua volta, iniziano a secernere sostanze biologicamente attive che causa l'attivazione delle cellule stellate epatiche. Per scaricare tali sostanze sono citochine pro- infiammatorie - interleuchina - 1 (IL-

1), fattore di necrosi tumorale alfa (TNF), perossido, ossido nitrico, endotelina, ma un ruolo importante nella attivazione delle cellule stellate epatiche appartiene al fattore piastrinico attivazione (AFPA), e l'attivatore del plasminogeno fattore di crescita trasformante beta 1 (TCF β 1). Sotto la loro influenza cellule stellate epatiche emergono dalla dormienza, si attivano e trasformato in miofibroblasti, guadagnando la capacità di produrre componenti della matrice extracellulare, tra cui collagene e proteoglicani [4-6].

Nonostante i dati esistenti sullo sviluppo di non specifico epatite reattiva complicata da fibrosi epatica, in presenza di un fuoco lontano di infiammazione cronica [7, 8], il problema dello sviluppo di questa patologia in pazienti con infezione da stafilococco cronica rimane aperto, come in questo caso espressa da cambiamenti distruttivi di epatociti è stata osservata. In questo contesto è rilevante per studiare la possibilità di fibrosi epatica a seguito dell'intervento di meccanismi alternativi.

Finalità - per identificare le caratteristiche della formazione di fibrosi epatica in termini di modellazione di una infezione da stafilococco.

Materiali e metodi

L'esperimento è stato condotto su 24 adulti ratti maschi Wistar peso di 180-220 g in 18 animali in anestesia generale per inalazione eseguite trapanazione tibia seguita inserendo fori filo di cotone, che è stato 30 minuti nel lavaggio cultura durante la notte di *Staphylococcus aureus* (ceppo 209). Studio preliminare ha rivelato che da questo trattamento il filo su esso conteneva 1×10^7 unità formanti colonie. Successivamente, tutti i ratti operati sviluppati osteomielite cronica della tibia, che è stata confermata dai risultati degli studi morfologici [9]. Dedotto da animali da esperimento per decapitazione sotto anestesia etere 1, 2 e 3 mesi dopo il modello della riproduzione. Come controllo, animali intatti 6.

Per studio morfologico delle fette di fegato, di misura 0,5 x 0, 5x0, 5 cm, sono

stati fissati in formalina al 12%. Sezioni in paraffina di 7 micron sono state colorate con ematossilina e eosina Ehrlich; glicosaminoglicani solfati rilevati blu Alcian (pH 1,0). Stima della popolazione dei mastociti nei tratti portalari interlobulari è stata condotta dopo colorazione con blu Alcian a pH 1,25, con o senza successiva karmalyumom dokraskoy Mayer. La popolazione di cellule stellate epatiche è stata valutata su 500.000 mkm² quadrato utilizzando sezioni semisottile colorate con blu di toluidina. Per esaminare il marker di proliferazione Ki - 67 (proteina è espressa in tutte le fasi del ciclo cellulare, eccetto G₀), e collagene di tipo I e II sono utilizzati a due stadi, metodo immunoistochimico. Durante tutte le reazioni immunoistochimiche sono stati effettuati "controlli negativi", sostituendo l'incubazione con l'anticorpo primario per incubazione con il siero non immune corrispondente animali. L'area occupata dai componenti studiati della matrice extracellulare, e l'intensità di colorazione è stata valutata utilizzando microscopio basato il sistema di analisi di immagine Micros MC 300A, fotocamera digitale CX 13c (azienda Baumer Optronik GmbH, Germania) e il 1.42g software ImageJ (National Institutes of Health, USA). Per ogni gruppo è stata valutata 48 immagini, ciascuna area è 21 455 mkm². L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il programma «SPSS per Windows, 11.5.0»: calcola i valori medi (M) e gli errori standard (m). Confronto tra gruppi indipendenti è stata effettuata utilizzando Kruskal - Wallis seguito dal test di confronto intergruppo utilizzando il Mann - Whitney al 95 % livello di confidenza.

Risultati e discussione

Nello studio di sezioni di fegato durante l'esperimento ha mostrato segni di aspecifica reattiva epatite polimorfismo e modifiche degenerative focali di epatociti, infiltrazione di spazi portalari lymphohistiocytic elementi, la presenza di infiltrati discreti nel parenchima epatico, l'espansione e la congestione delle vene

centrali e sublobular capillari sinusoidali drasticamente migliorate riempiti con numerosi eritrociti aggregati, gli spazi di espansione Malla.

I risultati dello studio morfologico della matrice extracellulare stromale fegato mostrati nella Tabella 1. Caratteristica troppo è il fatto che già nel 1 mese dopo la riproduzione di un infezione batterica è determinata dalla aumento dell'intensità della colorazione di collagene di tipo I e II, anche se la zona di questi componenti della matrice extracellulare non è statisticamente diverso da parametri simili a animali intatti. Va notato che in questo gruppo di ratti erano statisticamente significativa, rispetto ad un aumento popolazione di controllo di cellule stellate epatiche ($3,16 \pm 0,24$ e $2,52 \pm 0,25$ e, rispettivamente), e mastociti ($3,50 \pm 0,23$ e $3,33 \pm 0,28$ rispettivamente). Studio immunostochimico dell'espressione del marcatore di proliferazione (Ki - 67) non può rivelare il suo aumento fibroblasti di spazi portali.

Successivamente, dopo 2 mesi dopo l'infezione ha avuto un maggiore di 2,4 volte (246 %), aumento della popolazione di cellule stellate epatiche ($6,20 \pm 0,60$) rispetto agli animali intatti. Tuttavia, è stato osservato quasi triplicato (283 %) aumento mastociti ($9,44 \pm 0,47$), così come un certo aumento del numero dei fibroblasti esprimenti Ki - 67 nuclei. Inoltre c'è stato un significativo aumento della superficie delle fibre di collagene e glicosaminoglicani solfati negli spazi portali, e circondato da pareti di vene centrali. Va notato che, nonostante la proliferazione di tessuto connettivo, il rapporto dei componenti studiati in esso non subisce variazioni significative e corrisponde al rapporto tra queste componenti del tessuto connettivo in animali intatti.

Nel corso di un esperimento, 3 mesi dopo la riproduzione di un infezione da stafilococco, lo studio della distribuzione e l'intensità della colorazione del collagene di tipo I e II, nonché glicosaminoglicani solfati negli spazi portali, circondate da

pareti e nervature centrali indicando ulteriore crescita della fibrosi epatica. La valutazione morfometrica della popolazione di cellule stellate epatiche ha rivelato quasi triplicato aumentare ($7,40 \pm 0,68$) rispetto agli animali intatti. Nel valutare la cella marcatore attività proliferativa, c'è stato un significativo aumento del numero di fibroblasti esprimenti Ki -67 nel nucleo, che possono anche indicare lo sviluppo di processi fibrotici. Il numero dei mastociti nelle triadi è rimasta significativamente elevata ($8,94 \pm 0,61$).

Sufficientemente notevole è il fatto che la persistenza dell'infezione batterica osservata combinazioni di pattern morfologici venulare e fibrosi periportale. E ' possibile che possa essere collegato con quelli di sostanze biologicamente attive, che sono abbondantemente presenti nel sangue durante l'infiammazione e citochine di cellule infiammatorie localizzate in spazi portali. Per altre varianti di fibrosi epatica quando la sintesi del collagene è svolta principalmente cellule Ito situati nello spazio di Disse, note, soprattutto nelle fasi iniziali, fibrosi pericellular [3].

Un ruolo nello sviluppo della fibrosi epatica per la persistenza di una infezione batterica, apparentemente, gioca, osservato da noi, mastociti rekrutizatsiya negli spazi portali. Questa possibilità è stata evidenziata in una serie di studi che esaminano l' interazione tra mastociti e fibroblasti in altre condizioni patologiche [10,11], si osserva che i mastociti possono stimolare sia l' attività proliferativa dei fibroblasti e la produzione di matrice extracellulare [12-14]. Anche essere consapevoli che, in presenza di cuore infiammazione cronica modifiche secondarie si verificano derivati mesenchimali portare ad una proliferazione di tessuto connettivo nei corpi con vascolarizzazione sufficiente, a differenza dei tessuti braditrofnyh dominato alterazioni distrofiche -degenerative [15]. Questo può anche contribuire allo sviluppo di cambiamenti fibrotici.

Conclusione

Quindi, la presente studio ha rivelato alcune caratteristiche della fibrosi epatica in stafilococcica cronica. Così, insieme a una versione classica di fibrosi che si realizza grazie alla attivazione delle cellule stellate epatiche da macrofagi presentare un meccanismo alternativo, comprendente fibroblasti attivati spazi portali mastociti. Ciò può essere dovuto, da un lato, con processi distruttivi moderati nel parenchima epatico, che non realizza pienamente la versione classica. Questi dati confermano la possibilità di partecipazione dei mastociti nello sviluppo della fibrosi epatica in presenza di focolai lontano di infezione cronica. Questi possono essere usati come pretesto per la ricerca di speciali organi anti- parenchimali a infezione da stafilococco cronica.

References:

1. Klevens R.M. 2007. Invasive methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in the United States. P. 1763-1771.
2. Green B.N. 2012. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an overview for manual therapists. P. 64-76.
3. Pavlov Ch.S. 2005. Modern views on the pathogenesis, diagnosis and treatment of liver fibrosis. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. P. 13-20.
4. Schuppan D. 2001. Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis. Vol. 21, P. 351-372.
5. Copple B.L. 2010. Mechanisms of liver fibrosis. Comprehensive. Welch Toxicology. Vol. 9. P. 263-274.
6. Gomez-Aristizabal A. 2012. The effects of two mesenchymal cell populations on hepatocytes and lymphocytes. Liver Transpl. Vol. 18, P. 1384-1394.
7. Zhurakovsky I.P. 2012. Activating liver macrophages in the persistence of a bacterial infection. Bulletin of the Novosibirsk State University. Series: Biology, Clinical Medicine. V. 10. P. 60-65.
8. Zhurakovsky I.P. 2011. Activation of the mitochondrial apoptosis pathway hepatocyte persistence of a bacterial infection. Chita Medical Gazette. P. 125-131.
9. Zhurakovsky I. 2013. Functional status of skin fibroblasts at chronic staphylococcus aureus osteomyelitis of the tibia. Vol. 1, P. 10-13.
10. Gruber B.L. 2003. Mast cells in the pathogenesis of fibrosis. Curr Rheumatol Rep. Vol.5. P. 147-153.
11. Diegelmann R.F. 2004. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. Front Biosci. V.9. P. 283-289.
12. Berton A. 2000. Activation of fibroblasts in collagen lattices by mast cell extract: a model of fibrosis. Clin Exp Allergy. Vol. 30. P. 485-492.
13. Garbuzenko E. 2002. Human mast cells stimulate fibroblast proliferation, collagen synthesis and lattice contraction: a direct role for mast cells in skin fibrosis. Clin Exp Allergy. Vol. 32. P. 237-246.
14. Garbuzenko E. 2004. Mast cells induce activation of human lung fibroblasts in vitro. Vol. 30. P. 705-721.
15. Zhurakovsky I.P. 2012. Secondary systemic connective tissue disruption as one of the manifestations of the syndrome combined dystrophic and degenerative changes of mesenchymal derivatives. 168p.

Tabella 1

Parametri morfometrici di stromale fegato matrice extracellulare nelle dinamiche di una infezione da stafilococco ($M \pm m$)

Indice	Intatto	Infiammazione			
		1 mese	2 mesi	3 mesi	
La matrice extracellulare degli spazi portalì	Collagene di tipo I fibre:				
	Area	912,1± 79,0	863,0± 68,0	1591,6± 116,4*	3580,9± 305,3*
	Intensità di colorazione	69,86± 3,28	81,41± 2,10*	71,70± 3,58	59,68± 2,76*
	Di tipo II fibre di collagene:				
	Area	888,8± 35,5	876,1± 35,2	1221,6± 38,6*	3750,4± 254,5*
	Intensità di colorazione	61,28± 2,10	84,10± 3,68*	69,27± 2,13*	70,10± 3,56
	Glicosaminoglicani solfati:				
	Area	991,6± 85,4	869,4± 64,6	1364,0± 81,5*	1278,8± 104,8*
	Intensità di colorazione	85,55± 0,18	81,37± 0,18*	84,81± 0,26*	84,32± 0,21*
Pareti matrice extracellulare circostanti e venosa	Collagene di tipo I fibre:				
	Area	152,9± 18,0	214,1± 47,4	397,5± 30,9*	2295,3± 538,5*
	Intensità di colorazione	46,07± 2,38	55,29± 2,20*	48,22± 4,57	47,27± 3,54
	Collagene di tipo II fibre:				
	Area	201,0± 9,7	231,5± 13,4	402,8± 23,2*	1333,2± 122,3*
	Intensità di colorazione	45,21± 1,72	50,56± 1,87*	52,88± 1,83*	53,41± 3,68
	Glicosaminoglicani solfati:				
	Area	87,0± 5,4	94,0± 5,9	209,2± 15,6*	235,5± 18,9*
	Intensità di colorazione	85,37± 0,15	82,21± 0,15*	85,65± 0,17	84,43± 0,15*

* - Differenze statisticamente significative con gli animali intatti a livello di significatività del 95% ($p < 0.05$).