

*Е. И. Вижинис, А. В. Воробей, Н. И. Русак,
В. С. Камышников, Т. М. Юрага*

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ ЭТАПНОСТИ РАЗВИТИЯ ОСТРОГО НЕКРОТИЗИРУЮЩЕГО ПАНКРЕАТИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»,
УЗ «Минское областное патологоанатомическое бюро»*

Цель исследования – оценка степени соответствия морфологических изменений поджелудочной железы животных динамике развития экспериментального острого некротизирующего панкреатита (ОНП). Экспериментальная группа животных включала 104 белые крысы. Использовали модель ОНП, возникающего вследствие перевязки билиопанкреатического протока. Исследовали органокомплекс поджелудочной железы (ПЖ) с панкреатическим и желчным протоками. Осуществляли забор органов для морфологического исследования. Предварительно окрашенные гематоксилином и эозином срезы органов исследовали методом световой микроскопии. Осуществили сравнительную оценку степени соответствия морфологических изменений в поджелудочной железе происходящим в организме человека сдвигам в системах метаболизма при экспериментальном ОНП. Проведенные в эксперименте морфологические исследования подтвердили этапность развития ОНП (отек, инфильтрация, некроз), подобно происходящему в организме заболевшего ОНП человека.

Ключевые слова: Поджелудочная железа, острый некротизирующий панкреатит, билиопанкреатический проток, экспериментальная модель.

*E. I. Vighinis, A. V. Varabey, N. I. Rusak,
V. S. Kamyshnikov, T. M. Yuraga*

MORPHOLOGICAL VERIFICATION OF PHASING OF DEVELOPMENT OF ACUTE NECROTIZING PANCREATITIS IN THE EXPERIMENT

The purpose of the study is to assess the degree of conformity of morphological changes of the pancreas of animals the dynamics of development of experimental acute necrotizing pancreatitis (SNPS). The experimental group of animals consisted of 104 white rats. Used the model SNPS, resulting from the ligation biliopankreatic duct. Researched of the pancreas, pancreatic and bile ducts. Carried out the organs for morphological studies. Pre-painted with hematoxylin and eosin sections of organs were examined by light microscopy. Conducted a comparative assessment of the degree of conformity of morphological changes in the pancreas occurring in the human body changes in system metabolism in experimental SNPS. In the experiment conducted morphological studies confirmed the stages of development of OnP (edema, infiltration, necrosis), similar to what is happening in the body of the sick OnP man.

Key words: Pancreas, acute necrotizing pancreatitis, biliopankreatic duct, an experimental model.

Панкреонекроз (ПН), согласно общепринятой классификации – острый некротизирующий панкреатит (ОНП), как наиболее тяжелая форма острого панкреатита (ОП) отличается крайне агрессивным течением, вовлечением не только большого объема ткани поджелудочной железы (ПЖ), но и забрюшинной клетчатки, прилегающих жизненно важных органов. Среди причин высокой летальности одно из основных мест занимает поздняя диагностика деструктивных форм ОНП [1, 2]. Именно в первые часы от начала заболевания во многом определяется величина структурно-функционального ущерба и возможность его компенсации; запускаются различные механизмы, которые затем в различные сро-

ки реализуются на клиническом уровне в виде тяжелых, чаще всего гнойно-септических осложнений [3, 4].

Для диагностики ОНП используется более 40 клинических, инструментальных (ультразвуковое исследование, компьютерная и ядерно-магнитная томография, лапароскопия и гастродуоденоскопия) и лабораторных тестов. Тем не менее, диагноз заболевания на догоспитальном этапе правильно устанавливается только в 40 % наблюдений. Трудности диагностики ОНП во многом обусловлены недостаточным внедрением в практику органоспецифических тестов, позволяющих дифференцировать ОНП от других urgentных заболеваний органов брюшной полости [5].

ОНП имеет фазовое течение, при этом каждой фазе патологического процесса соответствуют определенные периоды и характерные клинические формы проявления [6]. Тяжесть состояния пациентов обусловлена циркуляторным шоком, болевой реакцией, энзимной токсемией, панкреатогенным перитонитом: кардиогемодинамическими, волемическими, водно-электролитными расстройствами; печеночно-почечной недостаточностью [7]. Основным механизмом развития ОНП служит преждевременная активация панкреатических ферментов. Под действием трипсина активизируются все зимогены ферментов ПЖ: эластазы, карбоксипептидазы, химотрипсин, фосфолипазы, колипазы; калликреин-кининовой система, системы фибринолиза и свертывания крови. Это приводит к местным и общим патобиохимическим расстройствам. Кроме местных нарушений, связанных с патологическими изменениями в самой железе, наблюдается общий интоксикационный процесс, приводящий к поражению почек, легких, печени, сердца [8].

Одним из важных звеньев патогенеза является нарушение микроциркуляции, развитие феномена «ишемии-реперфузии» и перфузионного блока, которые также приводят к клеточному повреждению. Перфузионный блок развивается за счёт сдавления сосудов инфильтратом, спазма и тромбоза дистального сосудистого русла, шунтирования кровотока, гиповолемии, увеличения вязкости крови. Если при компьютерной томографии обнаруживаются зоны снижения перфузии, то при повторных исследованиях именно в этих зонах появляются очаги некроза, что подтверждает аваскулярный характер некроза. Доказано, что при остром экспериментальном панкреатите снижается общая площадь микроциркуляторного русла и увеличивается площадь стромальных элементов и лимфатического русла [9, 10].

Создавая модель ОНП, наиболее соответствующую клиническим проявлениям заболевания, мы использовали собственный клинический опыт хирургических вмешательств и лечения пациентов с данной патологией. При перевязке общего желчного протока у экспериментальных животных ниже места его слияния с панкреатическим протоком развивается ОНП с геморрагическим пропитыванием, стеатонекрозами и проявлениями механической желтухи. Это предполагает большую аналогию предложенной экспериментальной модели с клиническими формами ОНП, которая у ряда пациентов с тяжелой формой панкреатита сопровождается развитием механической желтухи [11, 12].

Цель исследования: оценка степени соответствия морфологических изменений поджелудочной железы животных динамике развития экспериментального острого некротизирующего панкреатита.

Материалы и методы

Наблюдаемая экспериментальная группа животных включала 104 рандомбредные белые крысы (самцы), содержащиеся в стационарных условиях вивария БелМАПО на полноценном стандартном пищевом рационе и в соответствии с необходимыми требованиями. Эксперимент выполняли в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Страсбург, 1986). Инвазивные вмешательства и выведение животных из эксперимента производили под общей анестезией

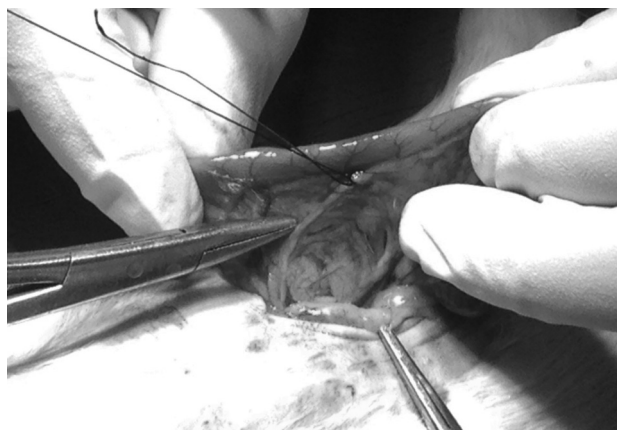


Рисунок 1. Лигирование билиопанкреатического протока в эксперименте

с внутривенным введением раствора тиопентала натрия (70 мг/кг).

Использовали модель ОНП, возникающего вследствие перевязки билиопанкреатического протока. Для получения данной модели лигировали билиопанкреатический проток животных (после предварительного прошивания аневризматической синтетической нитью 3/0 для предотвращения дислокации лигатуры) непосредственно у места впадения в двенадцатиперстную кишку (рисунок 1).

Выведение животных из эксперимента осуществляли через 4, 24, 48 и 72 часа. Животных еженедельно взвешивали. Перед выведением из эксперимента у всех животных собирали суточную мочу для общеклинических и биохимических исследований.

Для исследования использовали органокомплекс ПЖ с панкреатическим и желчным протоками. Осуществляли забор органов для морфологического исследования. Извлекали ПЖ с селезенкой и фиксировали в 10 % растворе формалина. Предварительно окрашенные гематоксилином и эозином срезы органов исследовали методом световой микроскопии.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета для анализа статистических и математических данных Statistica 6.0. Анализ показателей, имеющих правильное распределение, выполнен с использованием средней, стандартного отклонения, ошибки средней.

Результаты и обсуждение

Результаты эксперимента оценивали по клиническим проявлениям (изменение поведения животных), данным визуального осмотра (аутопсия); лабораторного, морфологического исследований. Клинические проявления. У животных при перевязке билиопанкреатического протока изменения в поведении начали появляться через сутки от начала эксперимента: снижение активности животных, уменьшение количества съеденного ими корма. Указанные явления продолжали нарастать к моменту завершения эксперимента.

Через 4 часа от начала эксперимента визуально изменений органов брюшной полости не было.

При морфологическом исследовании препаратов ПЖ животных с перевязкой билиопанкреатического протока через 4 часа морфологических изменений не выявили (рисунок 2).

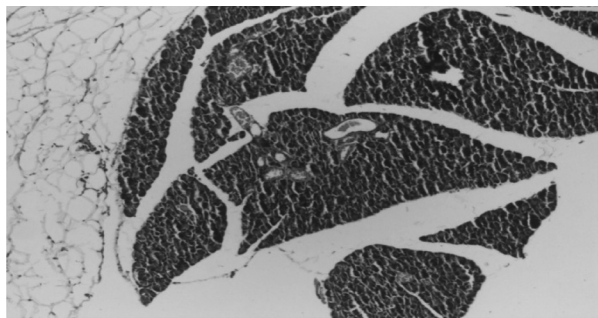


Рисунок 2. Морфологическая картина неизменной ПЖ. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200

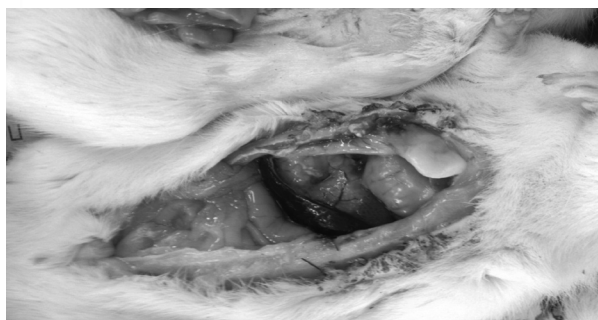


Рисунок 3. Брюшная полость через сутки после лигирования билиопанкреатического протока: а – единичные очаги стеатонекроза, б – отек ПЖ

Визуально через 24 часа в брюшной полости констатировали отек ПЖ, появление единичных очагов стеатонекрозов (рисунок 3).

При морфологическом исследовании через 24 часа имели место признаки выраженного интерстициального плазморрагического отека междольковых и внутридольковых пространств, резкое расширение венул и артериол, стазы в капиллярах, очаговая лейкоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофильноклеточных элементов (рисунок 4).

Через 48 часов в брюшной полости отметили нарастающее отека ПЖ, увеличение очагов стеатонекроза. Морфологически через 48 часов на фоне нарастающего интерстициального отека имелись крупноочаговые геморрагические некрозы ацинусов с выраженной лейкоцитарной инфильтрацией с преобладанием нейтрофильноклеточных элементов, резкое расширение артериол и венул, стазы в капиллярах, в перифокальной зоне лимфогистиоцитарная инфильтрация (рисунок 5).

Через 72 часа в брюшной полости отметили большое количество светлого выпота, увеличение селезенки, рас-

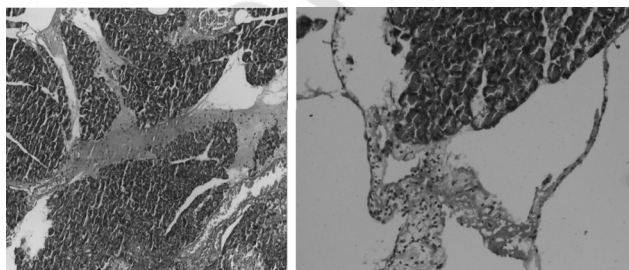


Рисунок 4. Морфологическая картина ПЖ через сутки после лигирования билиопанкреатического протока. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200

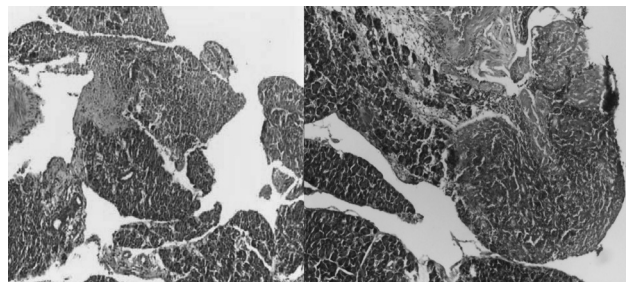


Рисунок 5. Морфологическая картина ПЖ через двое суток после лигирования общего протока. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200

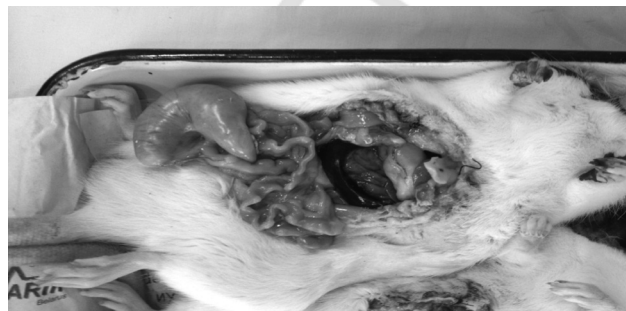


Рисунок 6. Брюшная полость через трое суток после лигирования билиопанкреатического протока: а – выпот в брюшной полости, б – увеличение селезенки, в – распространение стеатонекрозов на брюшину

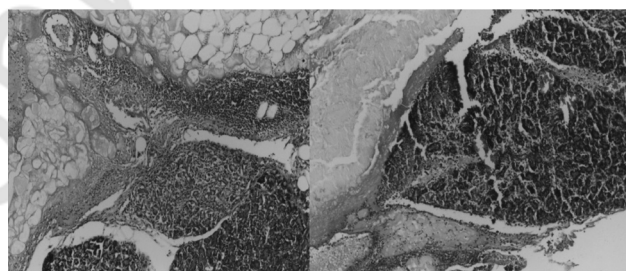


Рисунок 7. Морфологическая картина ПЖ через трое суток после лигирования общего протока. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 200

пространение очагов стеатонекроза на париетальную брюшину. ПЖ была отечна, серо-зеленого цвета (рисунок 6).

Морфологически через 72 часа на фоне констатированных изменений отмечены мелкоочаговые геморрагические некрозы, обширные жировые некрозы с выраженной лейкоцитарной, преимущественно, нейтрофильноклеточной инфильтрацией; массивный интерстициальный отек, расширение венул и артериол, слабо выраженная пролиферация фибробластов с формированием демаркационной линии (рисунок 7).

В течение всего периода наблюдения за состоянием и эффективностью лечения животных с моделированным ОНП исследовали показатели клинико-лабораторных тестов через 24, 48, 72 часов. Последние соответствовали клиническим проявлениям и морфологической этапности развития экспериментального ОНП.

Выводы

1. Научно обоснована и создана модель экспериментального некротизирующего панкреатита путем одномоментной перевязки билиопанкреатического протока

у места его впадения в двенадцатиперстную кишку. Её эффективность подтверждена результатами патоморфологического и биохимического исследований.

2. Осуществлена сравнительная оценка степени соответствия морфологических изменений в поджелудочной железе происходящим в организме человека сдвигам в системах метаболизма при экспериментальном ОНП.

4. Проведенные в эксперименте морфологические исследования подтвердили этапность развития ОНП (отек, инфильтрация, некроз), подобно происходящему в организме заболевшего ОНП человека.

5. Разработанная модель экспериментального ОНП может быть использована для выбора наиболее эффективных методов консервативного лечения и внедрения их в клинику.

Литература

1. *Кашевкин, С. А.* Эффективность лечения при панкреонекрозе / С. А. Кашевкин // *Новости хирургии.* – 2012. – № 2, т. 20. – С. 14–19.
2. *Балныков, С. И.* Лечение больных некротическим панкреатитом / С. И. Балныков, Т. Ф. Петренко // *Хирургия: научно-практический журнал им. Н. И. Пирогова.* – М.: Медиа Сфера, 2009. – № 10. – С. 24–28.
3. *Леонович, С. И.* Острый панкреатит: актуальные аспекты проблемы / С. И. Леонович, М. Ю. Ревтович // *Мед. новости.* – 2003. – № 7. – С. 55–57.

Оригинальные научные публикации

4. *Федорук, А. М.* Патогенез, диагностика и совершенствование комплексного лечения острого панкреатита (экспериментально-клиническое исследование): автореф. дис. ... докт. мед. наук: 14.00.27; 14.00.19 / А. М. Федорук. – Минск, 2006. – 44 с.
5. *Стандарты диагностики и лечения панкреонекроза / В. С. Савельев [и др.]* // *Конгресс Московских хирургов: материалы конгресса.* – М.: ГЕОС, 2005. – С. 112–113.
6. *Шугаев, А. И.* Острый панкреатит: пособие для врачей / А. И. Шугаев, И. Н. Гера, С. С. Мосоян. – СПб., 2009. – 87 с.
7. *Острый панкреатит: пособие для врачей / М. И. Филимонов [и др.]; под ред. академика РАН и РАМН В. С. Савельева.* – М., 2000. – 59 с.
8. *Камышников, В. С.* Лабораторная диагностика внутренних и хирургических болезней: учеб. пособие / В. С. Камышников. – Минск: Адукацыя и выхаванне, 2012. – С. 349–382.
9. *Клинико-морфологическая характеристика панкреонекроза в свете хирургического лечения / В. С. Савельев [и др.]* // *Анналы хирургии.* – 2001. – № 3. – С. 58–62.
10. *Comparative analysis of direct pancreatic function testing versus morphological assessment by endoscopic ultrasonography for the evaluation of chronic unexplained abdominal pain of presumed pancreatic origin / R. Chowdhury [et al.]* // *Pancreas.* – 2005. – Vol. 12, № 1. – P. 137–146.
11. *Anderson, B.* Treatment and outcome in pancreatic pseudocyst / **B. Anderson, E. Nilsson, J. Willner** // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 41, № 6. – P. 751–756.
12. *Lombardi, B.* Influence of dietary factors on the pancreatotoxicity of ethionine / **B. Lombardi** // *Am. J. Pathol.* – 1976. – Vol. 84, № 3. – P. 633–648.

Поступила 12.10.2017 г.