

Р. С. Шило, Э. В. Могилевец, Н. И. Батвинков,
К. С. Белюк, П. А. Коваленя

ОБЗОР СПОСОБОВ МОДЕЛИРОВАНИЯ ОСТРОГО ХОЛАНГИТА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Актуальность. Вопросы комплексного лечения острого холангита являются актуальными для современной медицинской науки и требуют дальнейшего исследования в эксперименте на лабораторных животных.

Цель. Оптимизация способа моделирования острого холангита у экспериментальных животных для изучения фотодинамической терапии данной патологии.

Методы исследования. В данном обзоре представлены различные способы моделирования острого холангита у экспериментальных животных. Проанализированы фундаментальные работы по экспериментальной хирургии острого холангита отечественных авторов.

Результаты и их обсуждение. Анализируемые модели острого холангита позволяют изучать разные аспекты патогенеза и лечения данного заболевания. Разработанный нами способ моделирования холангита позволяет вводить в просвет желчного протока лекарственные вещества и световоды лазерных аппаратов, моделировать как внутреннее, так и наружное дренирование желчного протока после развития холангита.

Выводы. Разработанный способ моделирования острого холангита позволяет изучать эффективность фотодинамической терапии острого холангита с различными фотосенсибилизаторами.

Ключевые слова: острый холангит, моделирование острого холангита, эксперимент, фотодинамическая терапия.

R. S. Shyla, E. V. Mogilevets, N. I. Batvinkov, K. S. Belyuk, P. A. Kovalenya

OVERVIEW OF METHODS OF MODELING OF ACUTE CHOLANGITIS IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Relevance. The issues of complex treatment of acute cholangitis are relevant for modern medical science and require further research in an experiment on laboratory animals.

Purpose. Optimization of the method of modeling acute cholangitis in experimental animals for the study of photodynamic therapy of this pathology.

Research methods. This review presents various ways to model acute cholangitis in experimental animals. Analyzed the fundamental work on experimental surgery of acute cholangitis of domestic authors.

Results and its discussion. Analyzed models of acute cholangitis allow us to study various aspects of the pathogenesis and treatment of this disease. We have developed a method for modeling cholangitis, which allows to introduce into the lumen of the bile duct drugs and optical fibers of laser devices, to simulate both internal and external drainage of the bile duct after the development of cholangitis.

Findings. The developed method of modeling acute cholangitis allows to study the effectiveness of photodynamic therapy of acute cholangitis with various photosensitizers.

Key words: acute cholangitis, modeling of acute cholangitis, experiment, photodynamic therapy.

Актуальность. Вопросы комплексного лечения острого холангита (ОХ) остаются и по сей день важными в абдоминальной хирургии и требуют постоянного своего изучения. Понимание патогенеза данного заболевания, совершенствование способов лечения механической желтухи (МЖ) и ОХ, а также разрешение дискуссионных и неясных моментов, имеющих в литературе, требуют углубленного изучения холангита. В таких условиях важную роль играет моделирование данной патологии в эксперименте на лабораторных животных с последующим изучением эффективности лечения ее современными способами.

Цель. Оптимизация способов моделирования острого холангита у экспериментальных животных для изучения эффективности фотодинамической терапии данной патологии.

Методы исследования. Проанализированы способы моделирования ОХ на экспериментальных животных различных авторов, описанные в литературе. Отмечены их преимущества и недостатки, ставшие основой для разработки собственной методики воспроизведения ОХ у кроликов для последующего изучения эффективности его фотодинамической терапии.

В фундаментальных отечественных пособиях по экспериментальной хирургии гнойного холангита одними из первых авторов, изучавшими вопросы МЖ и ОХ, стали Ю. М. Лопухин и С. А. Шалимов. Их идея моделирования МЖ заключается в перевязке общего желчного протока (ОЖП) в толще печеночно-двенадцатиперстной связки и последующем пересечении протока ниже наложенной лигатуры [11]. Такая экспериментальная модель приводит к выраженной дилатации холедоха у собак, развитию МЖ, однако отсутствие бактериального воспаления не приводит к быстрому развитию ОХ (он развивается лишь в 30–50% испытуемых собак). Животные живут после операции не более 7 суток из-за острого развития печеночной недостаточности, связанной с резким повышением внутрипротокового давления и гепатозом. К недостаткам такой модели экспериментального холангита относится повреждение структурной целостности желчевыводящих протоков из-за пересечения холедоха, а также слабовыраженное воспаление в стенке ОЖП.

Для формирования неполной обтурации холедоха Ю. М. Лопухин предложил экспериментальную модель, суть которой сводится к сужению протока целлофановой петлей до диаметра 1,5–3 мм [4]. Основной задачей данной модели является воспроизведение МЖ и холелитиаза, при ней у лабораторных животных развивается прогрессирующий стаз желчи, пролиферация стенок желчевыводящих протоков и расширение их просвета. Однако, как и в первой модели автора, отсутствие бактериального воспаления не позволяет добиться в пол-

ной мере развития ОХ и связанных с ним патогенетических процессов.

Позднее авторы разработали модель ОХ и МЖ путем наложения на ОЖП специальной манжеты с надувным механизмом. Ее необходимо раздувать каждый день специальным воздуховодом, выведенным на кожу животного, на 2–3 часа в сутки на протяжении 1 месяца [11]. При этом одновременно выполняется и холецистэктомия. По данным авторов, уже через 7 дней у большей группы животных из-за восходящего инфицирования обнаруживаются клинические признаки ОХ. У оставшейся группы, где такого инфицирования не происходит, авторы предлагают ввести в желчевыводящие пути 500 млн микробных тел суточной культуры E.Coli. Отсутствие в данной экспериментальной модели постоянного дозированного сужения общего желчного протока не приводит к развитию выраженного расширения ОЖП и гипертрофии его стенок. В данной модели создаются условия для постоянной элиминации микроорганизмов в двенадцатиперстную кишку, что также не способствует развитию ОХ. Повторные операции для инфицирования холедоха, а также выполнение холецистэктомии для уменьшения депонирования желчи и усиления нагрузки на желчевыводящие протоки являются не практичными. При этом затягивается время операции, а сама экспериментальная модель не позволяет визуально контролировать диаметр холедоха и манжетки. Механическое трение тканей в брюшной полости из-за постоянного раздувания манжеты вызывает перифокальное воспаление в подпеченочном пространстве и последующий за ним спаечный процесс.

Для моделирования острого холангита в эксперименте и изучения его патогенетических механизмов развития и эффективности новых методов лечения рядом авторов было предложено для инфицирования желчи использовать содержимое двенадцатиперстной кишки.

Так, Жандаров К. Н. и соавт. (2006 г.) разработали экспериментальную модель ОХ с целью максимального приближения моделируемой патологии по своему развитию к клиническим условиям. С этой целью авторы воспроизводили постоянное инфицирование желчевыводящих протоков кишечным содержимым, забрасываемым из 12-перстной кишки [6]. Способ осуществляется выполнением кролику верхнесрединной лапаротомии, супрадуоденальной холедохотомии, производимой через микрохоледохотомическое отверстие антеградной папилосфинктеротомии стандартным папиллотомом под контролем лапароскопа, введенным через гастротомическое отверстие. Затем ниже впадения устья общего желчного протока выделялась 12-перстная кишка, вокруг которой проводилась и завязывалась лавсановая лента. При этом просвет

12-перстной кишки суживался на 1/2 ее диаметра. Уже на 14-е сутки эксперимента у лабораторных животных было доказано развитие ОХ – морфогистологическим исследованием общего желчного протока (выраженная лейкоцитарная инфильтрация слизистой и подслизистого слоя, очаговые кровоизлияния), посевом желчи на микрофлору, макроскопическим исследованием холедоха (утолщение стенки до 0,12 см, ее отечность и гиперемия).

Существует ряд способов моделирования экспериментального холестаза и ОХ, суть которых сводится к созданию в холедохе препятствия оттоку желчи с последующим ее инфицированием.

Годлевский А. И. в 2011-м году предложил способ моделирования ОХ, предусматривающий, также как и в предыдущем способе, введение в просвет холедоха содержимого двенадцатиперстной кишки и полную обтурацию общего желчного протока раствором полимера «Харизма химическая РРФ» [9]. Дополнительно для развития ОХ автор травмировал слизистую оболочку и стенку общего желчного протока механическим способом (зондом выше места обтурации через холедохотомическое отверстие или же путем пережимания стенки холедоха зажимом). Химический метод моделирования ОХ включал введение выше места обтурации 24–48% раствора этанола и последующее введение в просвет холедоха содержимого двенадцатиперстной кишки. Установлено, что 48% раствор спирта является наиболее целесообразным для моделирования ОХ, так как уже на 3–5 сутки у 100% подопытных собак возникает данная патология.

Полную обтурацию общего желчного протока в модели экспериментального ОХ у лабораторных животных в 2005 году предложил также Ярош А. Л. с соавт [8, 13]. Лабораторным крысам выполняется лапаротомия и мобилизация участка общего желчного протока, последний фиксируется на двух держалках. Инсулиновым шприцом в проксимальном направлении в холедох вводится микробная взвесь *E. Coli* в концентрации 1×10^5 КОЕ в 1 мл физиологического раствора (в расчете 0,2 мл/кг массы). Тот час после инъекции перевязывается проток на игле выше места пункции. Представленная модель позволяет на 7-е сутки эксперимента получить ОХ у 84% животных, а на 9-е – у 100%. На вскрытии в эти сроки эксперимента у крыс не обнаруживали гипертрофии стенки ОЖП, а его расширение достигало лишь 0,4 см. Представленный пункционный способ моделирования ОХ хоть и является одним из наиболее технически простым, но не гарантирует герметизма протока при проведении инъекции. Ограничение распределения микроорганизмов по желчевыводящим протокам, а также недостаточная концентрация вводимой их взвеси не позволяли развиваться билиарному сепсису у лабораторных животных. Воспроизведение экспериментального ОХ по данной методике позволило авторам изучить показатели иммунитета на фоне холангита и активности нейтрофилов периферической крови.

Модель ОХ, предложенная в 1994 году Ахаладзе Г. Г. для изучения объемной скорости локального кровотока печени [1], включала лигирование интрапанкреатической части холедоха экспериментальных крыс с предварительным введением в него в проксимальном направлении тонкого полиэтиленового катетера с запаянным концом. После канюлирования ОЖП формировалась холедохостома, через которую в желчное дерево вводилась микробная взвесь *E. Coli* в концентрации $0,95 \times 10^5$ КОЕ в 1 мл (в расчете 0,4 мл/кг массы). В завершении производилось запаивание катетера. Техническими особенностями воспроизведения ОХ данным способом является необходимость использования микрохирургической техники и инструментария, а также невозможность восстановить естественный отток желчи в кишку из-за полного пересечения холедоха. В сформированную холедохостому вводился



Рис. 1. Способ моделирования острого холангита Попова А. Б.

большой объем микробной взвеси, из-за чего происходило ее подтекание в свободную брюшную полость и гидравлическая травматизация желчного протока. Длительный период выполнения операции делали данную модель ОХ сложной в реализации.

В способе, предложенном Заря И. Л. в 1994 году [3], помимо пункции холедоха и инфицирования его просвета, производили его механическую травматизацию зажимом, вызывая некроз стенки протока. Однако этот способ не соответствует естественным механизмам развития ОХ.

При анализе литературы отмечено, что ряд авторов для моделирования желтухи и холангита суживали просвет холедоха не полностью, а частично. Попов А. Б. с соавт. (2011) представили модель ОХ, позволившую изучить закономерности течения ОХ на фоне купирующейся МЖ [7]. Из структур печеночно-двенадцатиперстной связи мобилизовался участок холедоха длиной 1,0 см проксимальнее места впадения его в двенадцатиперстную кишку. Под размер ОЖП формировалась силиконовая манжетка для обтурации ей 2/3 диаметра холедоха (рис. 1).

После наложения и фиксации манжетки механически опорожняется желчный пузырь для объемной перегрузки холедоха. Происходящая при этом дилатация ОЖП позволяет выполнить пункцию протока инсулиновой иглой на 0,5 см выше нахождения манжетки. Таким образом, в желчное дерево вводилось 0,5 мл взвеси *E. Coli* в разведении $0,95 \times 10^5$ КОЕ/мл на стерильном растворе 0,9% натрия хлорида. При подтекании желчи через пункционное отверстие накладываются серозный шов на холедох для достижения его герметичности. В разработанной авторами схеме сочетаются постоянное дозированное сужение холедоха и введение взвеси *E. Coli* в его просвет. Эксперимент продолжался 12 суток: на ранних сроках гипертрофии стенки ОЖП не отмечалось, на поздних сроках проявлялись общая интоксикация, печеночная недостаточность и билиарный сепсис.

Визгалов С. А. с соавторами (2007) предложили способ моделирования механической желтухи в эксперименте у млекопитающих, включающий лапаротомию, мобилизацию общего желчного протока и проведение вокруг последнего синтетической нити на расстоянии 2–2,5 см от латерального края двенадцатиперстной кишки [5]. В дальнейшем концы нити проводились через полихлорвиниловую трубку с внутренним диаметром 0,5 см, введенную в брюшную полость между желчным протоком и кожным покровом. С помощью такой «конструкции» автор осуществлял компрессию желчного протока дозированным натяжением нити, которую затем фиксировал узлом на трубке подкожно (рис. 2).

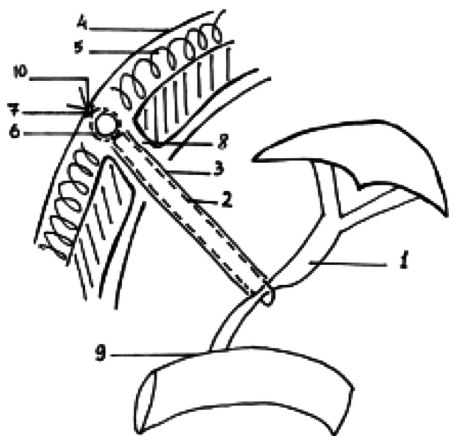


Рис. 2. Способ моделирования МЖ и острого холангита Визгалова С. А.

В ходе изучения МЖ, в частности вопросов ее трансформации в ОХ и билиарный сепсис, а также механизмов развития бактериохолии, бактериемии и эндотоксемии у пациентов с желтухой, Борисенко В. Б. с соавторами (2009) провели свое экспериментальное исследование. Авторы предложили транспапиллярное моделирование острого гнойного холангита, позволившее изучить феномен бактериальной транслокации микроорганизмов из желудочно-кишечного тракта в развитии билиарного сепсиса [2]. Для этой цели после образования тонкокишечного резервуара в зоне Фатерова сосочка шприцом нагнетается в него взвесь *E. Coli* в концентрации 1×10^8 КОЕ в 1 мл физиологического раствора. После расширения холедоха этой взвесью приблизительно до 1,5 мм под ОЖП затягивается лигатура для формирования механического блока оттоку желчи, а лигатуры с тонкой кишки удаляются, т.е. восстанавливается проходимость тонкой кишки. Дополнительно травмируется слизистая холедоха кончиком иглы шприца (рис. 3).

Экспериментальная работа с применением такой модели холангита позволила авторам без пункции через рефлюкс с двенадцатиперстной кишки ее содержимого в желчное дерево инфицировать ОЖП. В модели с 3-х суток у лабораторных животных развивался ОХ с последующей трансформацией в билиарный сепсис. В результате своей работы установлен феномен повреждения слизистой холедоха как третий фактор патогенеза ОХ, а также объяснено клиническое различие в сроках и частоте возникновения ОХ на фоне МЖ.

Результаты и обсуждение. С учетом полученного опыта экспериментального воспроизведения ОХ у различных авторов и выявленных недостатков в каждой модели нами была разработана своя модель ОХ, позволяющая изучать эффективность антимикробной фотодинамической терапии данной патологии [12]. В ходе операции экспериментальным кроликам производили верхнесрединную лапаротомию и гастротомию в антральном отделе желудка. Через образованное в же-

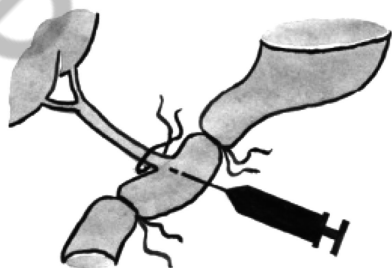


Рис. 3. Способ моделирования острого холангита и билиарного сепсиса Борисенко В. Б.

лудке отверстие проводили катетер Fogarty 4F с обрезанным баллоном в своей дистальной части через двенадцатиперстную кишку в ОЖП. В желудке дренаж погружался и фиксировался по Штамму тремя кисетными швами. Затем холедох в своей дистальной части перевязывался на проведенном катетере узловым швом для фиксации и предотвращения возможности попадания желчи в 12-перстную кишку мимо дренажа. В катетер Fogarty после извлечения металлического проводника вводили микробную взвесь *E. Coli* в концентрации 1×10^5 КОЕ/мл в объеме 1 мл (в расчете 0,2 мл/кг массы), и далее вставляли проводник обратно в катетер. В просвете двенадцатиперстной кишки в катетере делали боковое отверстие. При наличии в катетере металлического проводника достигается механический блок для желчи, а при подтягивании его внутри катетера, освобождая при этом боковое отверстие, обеспечивается отток желчи в просвет двенадцатиперстной кишки. Причем, диаметр отверстия соответствует диаметру холедоха (1-2 мм), тем самым моделируется естественная скорость движения желчи у животного. Проксимальный конец катетера Fogarty располагали в пространстве между кожей и мышцами для профилактики его повреждения животным в послеоперационном периоде. Операционная рана послойно ушивалась. В нашем эксперименте использовался красный катетер Fogarty (размер – 4F), т.к. у него минимальный внутренний диаметр, в который, при извлечении проводника, проходит световод от лазерного аппарата для проведения лазерной и фотодинамической терапии ОХ.

Таким образом, при анализе литературы установлено, что авторы разрабатывали экспериментальные модели ОХ исходя из конкретных поставленных задач в своих исследованиях. Анализируемые модели острого холангита имеют свои особенности воспроизведения, позволяют изучать разные аспекты патогенеза и лечения данного заболевания, каждая из них имеет ряд преимуществ и недостатков, и заменить одна другую в каждом конкретном случае не может.

Разработанный нами способ моделирования ОХ позволяет вводить в просвет желчного протока лекарственные вещества и световоды лазерных аппаратов, а также создавать механический блок для оттока желчи в 12-перстную кишку или же убирать его на разных стадиях течения холангита (патент на изобретение №21306 «Способ моделирования острого гнойного обтурационного холангита») [10]. Это дает возможность моделировать как внутреннее, так и наружное дренирование желчного протока после развития холангита и, соответственно, изучать острый холангит на разных этапах его лечения, препятствовать развитию острой печеночной недостаточности. В нашей модели сохраняется анатомическая целостность желчевыводящей системы, а также существует возможность производить забор желчи для исследования через катетер в необходимые сроки эксперимента. Благодаря представленному способу моделирования ОХ у кроликов созданы условия для изучения эффективности антимикробной фотодинамической и лазерной терапии ОХ с различными фотосенсибилизаторами.

Таким образом, разработанный способ моделирования острого холангита позволяет изучать эффективность фотодинамической терапии острого холангита с различными фотосенсибилизаторами.

Литература

1. Ахаладзе, Г. Г. Клинические стадии острого гнойного холангита / Г. Г. Ахаладзе, Н. Ф. Кузовлев, Г. Р. Сакеварашвили и др. // Анналы хирургической гепатологии. – 1997. Т. 2. – С. 103-109.
2. Борисенко, В. Б. Транспапиллярное моделирование острого гнойного холангита и билиарного сепсиса / В. Б. Борисенко, Б. М. Дадченко, Т. И. Тамм и др. // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2013. – Т.13. – С. 41-43.
3. Заря, И. Л. Пути оптимизации диагностики и лечения больных острым гнойным холангитом / И. Л. Заря // Автореф. дис. на соиска-

ние ученой степени канд. мед.наук: спец. 14.00.27 «Хирургия». – Харьков. – 1994. – С. 24.

4. Лопухин, Ю. М. Экспериментальная хирургия / Ю. М. Лопухин // М.: Медицина, 1971. – С. 344.

5. Патент ВУ № 11088 С1, 2008.08.30, МПК (2006) G09В 23/00, опубл. 30.12.2007.

6. Патент ВУ № 8106 С1, 2006.06.30, МПК G09В 23/28, опубл. 30.09.2004.

7. Патент RU № 2434307 С1, МПК G09В 23/28 (2006.01), опубл. 20.11.2011.

8. Патент RU № 2232430 С1, МПК G09В 23/28, опубл. 10.07.2004.

9. Патент UA № 64502 U, МПК G09В 23/28 (2006.01), опубл. 10.11.2011.

10. Патент ВУ № 21306С1, 2017.08.30, МПК G09В 23/28 (2006.01), опубл. 25.05.2017.

11. Шалимов, С. А. Руководство по экспериментальной хирургии / С. А. Шалимов // М.: Медицина, 1989. – С. 272.

12. Шило, Р. С. Фотодинамическая терапия заболеваний гепатобилиарной зоны / Р. С. Шило, Н. И. Батвинков // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – № 3. – 2016. – С. 54.

13. Ярош, А. Л. Разработка способа моделирования острого гнойного холангита у экспериментальных животных. / А. Л. Ярош, Н. А. Конопля, С. В. Иванов // Успехи современного естествознания № 12. – 2005. – С. 62.