

© Прокопець К.О., 2011

УДК 616.149-008.341.1.001.57

МОДЕЛЮВАННЯ ПОРТАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ НА ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРАХ

К.О.Прокопець

*Кафедра оперативної хірургії та топографічної анатомії (зав. – проф. М.П.Ковальський)
Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, м. Київ*

Резюме. У статті наведені морфологічні зміни селезінки в лабораторних щурів лінії Вістар при експериментальній портальній гіпертензії.

Ключові слова: ворітна вена, селезінка, експериментальна портальна гіпертензія, щури.

Проблема порушень портальної гемодинаміки привокє увагу дедалі більшого числа теоретиків і практиків сучасної медицини, оскільки портальна гіпертензія (ПГ) – незмінний супутник численних захворювань з тяжкими наслідками для здоров'я і життя хворих. Прогноз при ПГ несприятливий [1, 2]. Утруднена діагностика ПГ і зростання її частоти потребують всебічного вивчення даної проблеми, зокрема в експерименті [3]. Відомі способи моделювання ПГ можна поділити на моделювання гострого портального блоку та моделювання хронічного порушення портального кровообігу.

Гострий блок портального кровообігу створюють шляхом повного звуження просвіту ворітної вени стороннім тілом (ззовні або введеним у просвіт судини). Найбільше розповсюдження одержав порівняно простий метод створення блоку портального кровообігу шляхом накладання лігатури на основний стовбур ворітної вени (Н.Н.Бурденко, 1909).

Хронічне порушення ворітного кровообігу моделюють двома способами. Перший полягає у створенні внутрішньопечінкового блоку з повільним розвитком ознак ПГ. У печінку шляхом черезшкірної пункції чи лапаротомії вводять 33% розчин саліциловокислого натрію, 5% розчин формаліну, 96 % етиловий спирт [4]. При цьому починається асептичний гепатит з наступним розвитком цирозу печінки. Крім склерозуючих речовин, застосовуються сполуки, які токсично впливають на паренхіму печінки (чотирихлористий вуглець, диметилнітрозамін) [5, 6]. Другий спосіб моделювання хронічного портального блоку полягає в поступовому звуженні

основного стовбура ворітної вени (С.А.Шалимов и др., 1989) з наступним розвитком підпечінкової форми ПГ.

У теперішній час вибір методик експерименту та підбір лабораторних тварин диктуються необхідністю виконання вимог біоетики, зокрема "концепції трьох R" (W.M.S.Russell, R.L.Birch, 1959): replacement – заміна, reduction – зменшення, refinement – підвищення якості. Тому для моделювання ПГ нами використовуються не собаки, а лабораторні щури.

Мета дослідження. Вивчити зміни портальної гемодинаміки та селезінки у щурів лінії Vistar albicans при підвищенні тиску у ворітній вені.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 30 щурах-самцях лінії Vistar albicans, віком 7 місяців, масою 300-320 г. Утримання експериментальних тварин відповідало вимогам СНІП для віваріїв НДІ (1973). Щурят вирощували в умовах віварію в контрольованих умовах (12-годинний світловий період, кімнатна температура – $20 \pm 2^\circ\text{C}$, вологість – 50-70%, стандартний режим і раціон годівлі). Під час експерименту керувалися положеннями GLP (1981), Правилами проведення робіт з використанням експериментальних тварин (1977), Конвенцією Ради Європи про охорону хребетних тварин (1986), наказом МОЗ України № 281 (2000), а також Законом України "Про захист тварин від жорстокого ставлення" (2006). При проведенні експерименту користувалися відомостями про будову щура, викладену в праці А.Д.Ноздрачєва [7].

Тваринам основної групи (рис. 1) моделювали гостру та хронічну підпечінкову ПГ. Гостру

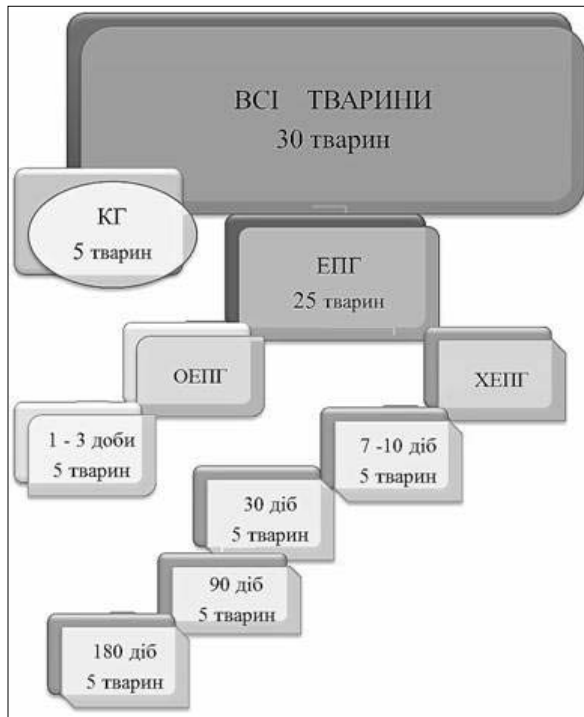


Рис. 1. Розподіл експериментальних тварин на групи. КГ – контрольна група; ЕПГ – основна група (змодельована портальна гіпертензія); ОЕПГ – група тварин зі змодельованою гострою портальною гіпертензією; ХЕПГ – група тварин зі змодельованою хронічною портальною гіпертензією.

підпечінкову ПГ моделювали шляхом одномоментного повного звуження стовбура ворітної вени накладеною лігатурою (5 тварин). Цей спосіб технічно простий, але його основним недоліком є те, що не відтворюється динаміка розвитку патологічного процесу. Тому він застосовувався нами для моделювання патологічних змін, характерних для малого терміну ПГ.

Для моделювання гострої підпечінкової ПГ під наркозом (10 % розчин тіопенталу натрію підшкірно, в основу хвоста щура, 0,5 мл на 100 г маси тварини) проводили серединну лапаротомію, виділяли стовбур ворітної вени в межах печінково-дванадцятипалокишкової зв'язки. Дистальніше місця впадання краніальної підшлунково-дванадцятипалокишкової вени під ворітну вену підводили шовкову лігатуру (№ 1), яку повністю затягували.

Хронічну підпечінкову ПГ (20 тварин) моделювали завдяки неповному звуженню стовбура ворітної вени за методом А.Д.Бекова і С.И.Бондаря (пат. № 1583963; ССРСР, 1988). Для цього під наркозом проводили серединну лапаротомію. Дистальніше місця впадання кра-

ніальної підшлунково-дванадцятипалокишкової вени під ворітну вену підводили шовкову лігатуру. У ворітну вену вводили провідник діаметром 1 мм. Лігатуру зав'язували на провіднику, після чого останній видаляли. При цьому ворітна вена звужувалася на половину її діаметра. Ворітну вену проколювали пункційною голкою, яку з'єднували з апаратом Вальдмана. Скляні трубки заміняли еластичними поліхлорвініловими трубками діаметром 2,5 мм. Виміряли портальний тиск. При цьому лігатуру додатково затягували або послабляли, досягаючи такого рівня портального тиску (180-190 мм вод. ст.), при якому найповніше відтворюються характерні для хронічної ПГ зміни внутрішніх органів [8]. Після цього голку витягали. Для припинення кровотечі місце пункції притискали марлевою кулькою протягом 15-20 с.

Для дослідження морфологічних змін обрано селезінку як один з органів басейну ворітної вени. Контролем слугував матеріал від 5 тварин без будь-яких оперативних втручань.

Всіх тварин основної і контрольної груп, які вижили до закінчення експерименту, піддавали етаназії через 1, 3, 7, 10, 30, 90 і 180 діб шляхом підвищення концентрації загального анестетика після проведення лапаротомії та вимірювання тиску у ворітній вені. Виведені з експерименту тварини, а також ті, що загинули в післяопераційному періоді, ретельно оглянуті і досліджені макроскопічно. Їм видаляли селезінку, з різних відділів якої брали шматочки для гістологічного дослідження (мікроскопія гістологічних препаратів, пофарбованих гематоксилином і еозином, за методом van Gieson). Для світлової мікроскопії та мікрофотографування препаратів нами використані мікроскопи "Axioskop" ("Carl Zeiss Jena") та "Биолам-70" ("ЛОМО").

У всіх випадках для морфометричного дослідження шматочки селезінки брали одномоментно. Визначали такі морфометричні параметри селезінки при ПГ: 1) питому вагу капсули і трабекул селезінки; 2) питому вагу паренхіми селезінки – клітинних елементів червоної і білої пульси; 3) питому вагу сполучної тканини селезінки; 4) діаметр просвіту і товщину стінки центральних артерій лімфодіних фолікулів. Морфометричне дослідження мікропрепаратів проводили за допомогою високочутливої відеокамери з комп'ютерною системою цифрового аналізу і

оброблення зображень Hitachi SK-214XA1 на персональному комп'ютері LG LS50 [5]. Вираховували середню арифметичну величину згрупованого ряду (M) та середню похибку середньої арифметичної (m). Для оцінки суттєвості різниці між середніми та відносними величинами розраховували коефіцієнт вірогідності (p) за критерієм Стьюдента [4].

Результати дослідження. При моделюванні гострої ПГ досягали швидкого 4-5-разового підвищення тиску у ворітній вені. Якщо у щурів контрольної групи тиск у ворітній вені становив 76 ± 15 мм вод. ст., то після операції він досягав 351 ± 42 мм вод. ст.

Після оперативних втручань всі тварини перебували в тяжкому стані. Час виходу тварин з наркозу значно збільшувався. Протягом 2-3 діб щури були в'ялі, адинамічні, не вживали корм та воду. Частина тварин гинула в ранньому післяопераційному періоді (до 3 діб), практично не виходячи з наркозу. В момент виведення тварин з експерименту через 1-3 доби порталний тиск знижувався незначно (287 ± 32 мм вод. ст.), що можна пояснити розвитком колатерального відтоку.

При моделюванні хронічної ПГ кров'яний тиск у ворітній вені під час операції підвищувався лише до 173 ± 11 мм вод. ст., тому щури легше виходили з наркозу, в ранньому післяопераційно-

му періоді в них не було ознак явної інтоксикації. Після 7-10 діб у більшості тварин спостерігали діарею (іноді з домішками крові), зниження маси та апетиту, в'ялість. Кров'яний тиск у ворітній вені при виведенні тварин з експерименту через 7-10 діб становив 174 ± 18 мм вод. ст., через 30 діб досягав максимальних цифр (178 ± 15 мм вод. ст.), а через 90-180 діб знижувався до 154 ± 21 мм вод. ст.

В умовах експериментальної порталної гіпертензії (ЕПГ) в селезінці виникали значні альтеративні та компенсаторно-приспосувальні зміни. В ранні терміни ЕПГ в результаті вираженого венозного застою виникало розширення внутрішньоорганних судин селезінки. Підвищення судинної проникності призводило до набряку селезінки, геморагічної та лімфоїдно-гістіоцитарної інфільтрації (рис. 2). Через 7-10 діб спостерігалось поглиблення гемоциркуляторних порушень та набряку структурних компонентів селезінки. До 30-ї доби експерименту судинна ємність селезінки збільшувалася максимально з деяким зменшенням набряку (рис. 3). Даний період характеризувався збільшенням питомої ваги білої пульпи. Через 90 діб виявлено незначне покращення стану селезінки (зникав набряк тканин, зменшувалася ємність судин), але незмінно зростали процеси облітерації ділянок гемоциркуляторного русла, фіброз строми і паренхіми органа. Через 180 діб в ре-

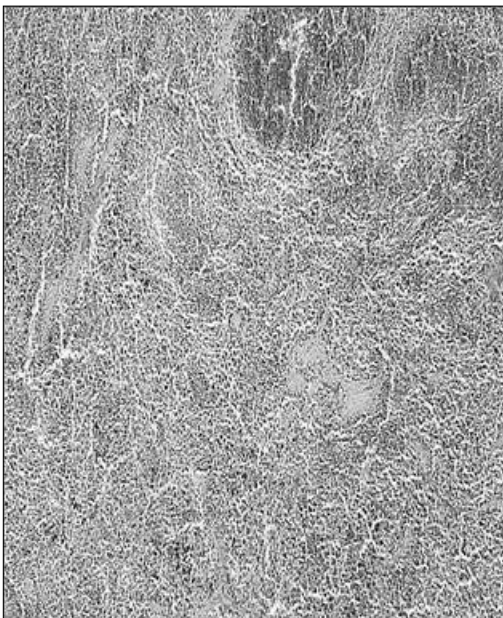


Рис. 2. Набряк трабекул, повнокров'я червоної пульпи, чітке розмежування червоної та білої пульпи селезінки через 3 доби експерименту. Мікропрепарат. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення $100\times$.

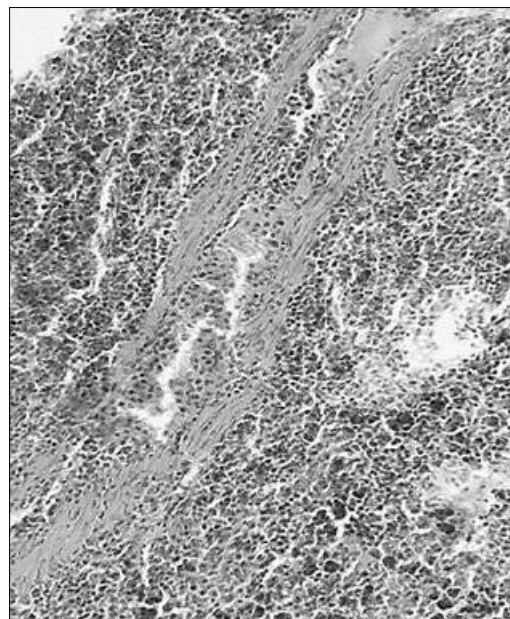


Рис. 3. Набряк та розширення колагенових волокон капсули селезінки через 30 діб експерименту. Мікропрепарат. Забарвлення за методом van Gieson. Збільшення $200\times$.

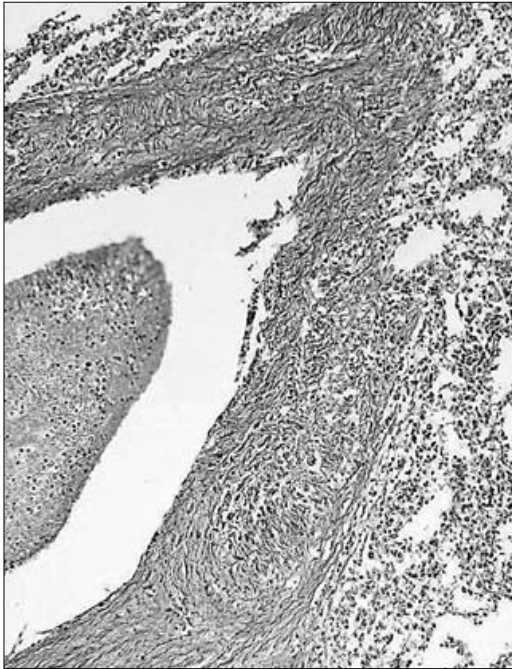


Рис. 4. Порушення цілісності стінки трабекулярної вени селезінки через 180 діб експерименту. Мікропрепарат. Забарвлення за методом van Gieson. Збільшення 100[×].

зультаті часткової облітерації ланок гемоциркуляторного русла, тривалої гіпоксії тканин посилювалися атрофія білої пульпи, фіброз червоної пульпи і судин, склероз строми (рис. 4). При морфометричному дослідженні виявлено зростання питомої ваги строми, зменшення питомої ваги червоної пульпи. У структурі показників питомої ваги білої пульпи спостерігалось зменшення площі лімфоїдних фолікулів, практично повернення до норми площі просвіту центральної артерії і зростання площі її стінки. Розвиток сполучної тканини в селезінці мав тенденцію до зростання.

Висновки. 1. При використанні методики Бекова і Бондаря на лабораторних щурах відтворюються зміни (гемодинамічні та морфологічні), які характерні для портальної гіпертензії. 2. Характер морфологічних змін селезінки може свідчити про розвиток альтеративних та компенсаторно-приспосувальних процесів, ступінь вираженості яких залежить не лише від рівня портального тиску, але й від тривалості патологічного стану.

Література

1. Мамчич В.И. Портальная гипертензия / В.И.Мамчич // Лікування та діагностика. – 2003. – № 3. – С. 21-24.
2. Сипливый В.А. Современные подходы к хирургическому лечению больных циррозом печени / В.А.Сипливый // Врач. практика. – 2007. – № 1. – С. 55-62.
3. Грубник В.В. Эмболизация селезеночной артерии как метод лечения осложненной портальной гипертензии / В.В.Грубник, О.Н.Загороднюк, В.Ю.Грубник [и др.] // Харків. хірург. школа. – 2009. – № 2. – С. 107-109.
4. Абросимова Т.Н. Количественные показатели портальной гемодинамики у крыс с экспериментальной портальной гипертензией / Т.Н.Абросимова // Укр. ж. клін. та лабор. медицини. – 2008. – № 4. – С. 53-56.
5. Кушнир И.Э. Портальная гипертензия: от патофизиологии к лечению / И.Э.Кушнир // Суч. гастроентерол. – 2009. – № 1. – С. 86-92.
6. Ноздрачев А.Д. Экспериментальная хирургия лабораторных животных / Ноздрачев А.Д. – СПб.: Лань, 2007. – 255 с.
7. Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы (Лабораторные животные) / А.Д.Ноздрачев, Е.Л.Поляков / под ред. А.Д.Ноздрачева. – СПб.: Лань, 2001. – 464 с.
8. Бюрроуз Э. Портальная гипертензия / Э.Бюрроуз // Росс. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2001. – № 4. – С. 74-75.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ НА ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫСАХ

Резюме. В статье приведены морфологические изменения селезёнки у лабораторных крыс линии Вистар при экспериментальной портальной гипертензии.

Ключевые слова: воротная вена, селезенка, экспериментальная портальная гипертензия, крысы.

MODELING EXPERIENCE OF PORTAL HYPERTENSION ON LABORATORY RATS

Abstract. The paper presents morphologic changes of the spleen on laboratory rate of the Wistar line in experimental portal hypertension.

Key words: portal vein, spleen, experimental portal hypertension, rats.

O.O.Bohomolets National Medical University (Kyiv)

Надійшла 18.01.2011 р.
Рецензент – проф. Ю.Є.Роговий (Чернівці)