УДК 616.37-002.1-036-08:615.832.9
DOI: 10.24061/1727-0847.16.1.2017.22

С.І. Іващук, О.Я. Стойка, Р.Р. Коваль, О.В. Бесединська*
Кафедра сімейної медицини (зав. – проф. Л.П. Сидорчук)
ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці;
**ОКМУ "Патологоанатомічне бюро", м. Чернівці*

СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ДИСКРЕТНИХ ФОРМ ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ ШЛЯХОМ ВИКОРИСТАННЯ ЛОКАЛЬНОГО КРІОВПЛИВУ

Резюме. В експерименті на білих щурах продемонстровано можливість дискретного моделювання різних форм (набрякова, некротична) гострого експериментального панкреатиту, шляхом використання локального кріовпливу на тканини підшлункової залози власним способом. Для кріовпливу використаний пристрій, створений на базі термоелектричного модуля Пельтьє. Виконані гістологічні дослідження засвідчили, що набрякова форма панкреатиту розвивається, якщо локальний кріовплив на підшлункову залозу запропонованим способом триває 10-20 секунд, а некротична – понад 25 секунд.
Ключові слова: експериментальний панкреатит, кріовплив, гістологія, модуль Пельтьє.

Гострий панкреатит (ГП) є однією з найважливіших проблем екстреної хірургії і посідає третє місце серед захворювань на гостру хірургічну патологію органів черевної порожнини. Попри поліпшення медичного лікування, летальність внаслідок гострого панкреатиту продовжує залишатися все ще високою (20-30%). Тому дуже важливо знайти модель експерименту на тваринах, яка б адекватно характеризувала перебіг цього серйозного захворювання. На сьогоднішній день відомі способи моделювання гострого панкреатиту, що ґрунтуються на застосуванні фізичних і хімічних факторів. Як фізичний вплив використовують лігування панкреатичної протоки, різке охолодження чи нагрівання тканини підшлункової залози та їх поєднання, дію ультразвуку [1-3]. Проте недоліком вказаних способів є те, що запропоновані способи впливу викликають не тільки локальну деструкцію дольок підшлункової залози, але й значну за площею та об'ємом руйнацію прилеглих тканин. Особливо неконтрольоване ушкодження може спостерігатися через використання ультразвуку, коли хвилі останнього поширюються у тканинах на 1,5 см і більше. Проте основним недоліком такого впливу є те, що у підшлунковій залозі виникає переважно гострий геморагічний панкреатит з переходом у вогнищевий некроз, а за перевищення останнім 30% усієї площі залози тварина гине. Тобто, ці способи не можуть забезпечити дискретно задану форму ГП: набрякову чи некротичну; і, тим паче, проблемним є моделювання вогнищевого панкреатиту з ураженням невеликих ділянок, з локалізацією ураження в головці, тілі чи хвості підшлункової залози.

За "хімічного" моделювання ГП найчастіше послуговуються внутрішньоочеревинним уведенням L-аргініну, церулеїну, автожовчі, розчину трипсину та ін. [4-8]

Серед способів "хімічного" моделювання ГП серед науковців найбільш популярним є використання L-аргініну, коли останній вводиться щурам інтраперитонеально у великій дозі [7]. Проте, попри дозозалежний ефект L-arginine за моделювання експериментального панкреатиту, у тварин виникає некротичний панкреатит, а іноді й загибель тварин. Також поміж експериментаторів існують розбіжності щодо схем уведення L-аргініну [9-11]. І, звісно, усі ці способи забезпечують, в основному, експериментальну модель некротичної форми панкреатиту і не гарантують чіткого моделювання окремих форм панкреатиту (набрякова, некротична), зазвичай, спостерігається їх поєднання. Тому актуальною є потреба в отриманні способу моделювання в експерименті на тваринах окремо набрякової і некротичної форм ГП.

Мета дослідження: розробити спосіб експериментального моделювання дискретних форм (набрякова, некротична) гострого панкреатиту.

Матеріал і методи. *Дослідження проведено*

© Іващук С.І., Стойка О.Я., Коваль Р.Р., Бесединська О.В., 2017

на 30 білих самцях щурів масою від 220 до 240 г. Експеримент проводився під кетаміновим наркозом (70 мг/кг маси тіла). Локальний кріовплив на дольки підшлункової залози щурів здійснювали за власним способом [12] з використанням пристрою власної розробки [13], побудованого на базі термоелектричного модуля Пельтьє. Вплив низьких температур здійснювався впродовж 5, 10, 15, 20 та 30 секунд. Час заморожування відслідковувався таймером. Температура наконечника термоелектричного модуля контролювалася (калібрувалася) пірометром. Використовувався температурний режим наконечника від -15° до -20° С. Після завершення кріовпливу підшлункова залоза занурювалася у черевну порожнину, а лапаротомна рана зашивалася пошарово наглухо. Виведення тварин з експерименту здійснювали на 2-3-4-5 добу після моделювання панкреатиту у стані кетамінового наркозу. Усі етапи експерименту виконували в умовах віварію відповідно до основних положень GLP (1981 р.) Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.; Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.) і Наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 р.

Після виведення тварин з експерименту проводили препарування та забір матеріалу (тканина підшлункової залози), який фіксували 48 годин у 10%-му розчині нейтрального забуференого формаліну, зневоднювали у висхідній батареї спиртів і проводили парафінову заливку при температурі 54°С (для збереження параметрів ядра). На санному мікротомі МС-2 робили серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. Після депарафінізації зрізів проводили забарвлення гематоксиліном-еозином (з оглядовою метою). При виконанні гістологічних досліджень використовували мікроскоп біологічний Delta Optical Evolution 300 Trino Plan LED; збільшення х40, х100, х400, х600, х1000 (окуляр х10; об'єктиви х4, х10, х40, х60, х100). Цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів отримували за допомогою цифрового фотоапарата Olympus C740UZ при використанні різних об'єктивів мікроскопа залежно від мети аналізу.

Результати дослідження та їх обговорення. При дослідженні мікропрепарату, який відповідав 5 с кріовпливу, виявлені нами зміни екзокринного, ендокринного та стромального компонентів тканини підшлункової залози були мінімальними і полягали у незначно вираженому перилобулярному набряку (рис. 1). Зміни виявлені у препаратах, що відповідали 10, 15 та 20 с кріовпливу характеризувалися пери- та інтралобулярним набряком і запальною інфільтрацією (рис. 2-4). Водночас, мали місце вогнищеві запальні інфільтрати, побудовані із сегментоядерних нейтрофілів. Прояв набряку і запальної інфільтрації у мікропрепаратах збільшувалась з 10 до 20 с кріовпливу. На 20 с були виявлені екзокриноцити з вираженими дистрофічними змінами, проте фокуси некрозів відсутні. На мікропрепаратах тканини ПЗ після 30 с кріовпливу виявлені поодинокі фокальні некрози (рис. 5).

Таким чином, запропонований спосіб кріовпливу на тканину підшлункової залози призводить до змін, характерних для гострого панкреатиту. А дотримання відповідних часових характеристик тривалості кріовпливу, за незмінного температурного режиму, забезпечує моделюваннянеобхідної форми (набрякова чи некротична) експериментального панкреатиту, що і було підтверджено проведеними гістологічними дослідженнями

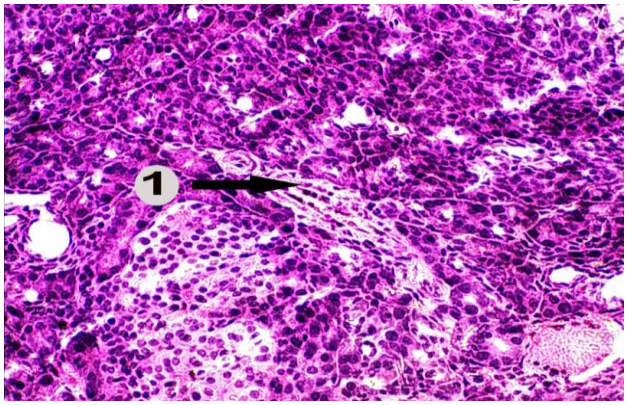

Рис. 1. Тканина підшлункової залози. Експозиція 5 с. Незначно виражений перилобулярний набряк (1). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Об. 40^x. Ок. 10^x

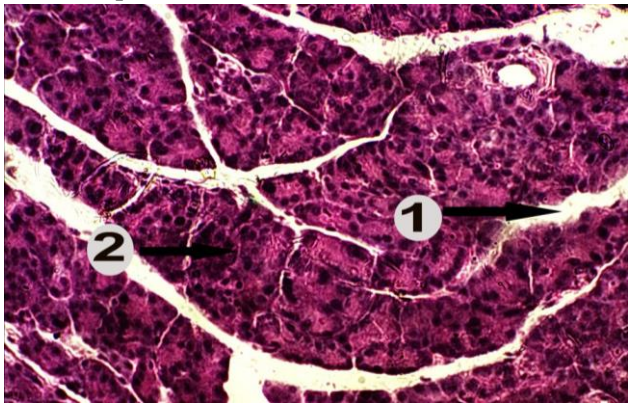

Рис. 2. Тканина підшлункової залози. Експозиція 10 с. Незначно виражений перилобулярний (1) та інтралобулярний набряк (2). Вогнищева запальна інфільтрація сегментоядерними нейтрофілами (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Об. 40^x. Ок. 10^x

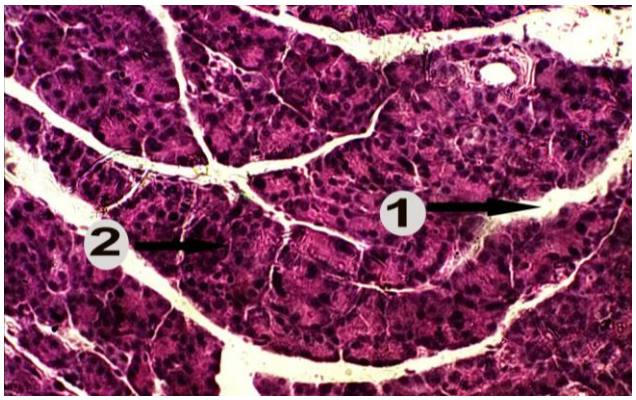

Рис. 3. Тканина підшлункової залози. Експозиція 15 с. Незначно виражений інтралобулярний набряк (1). Вогнищева запальна інфільтрація сегментоядерними нейтрофілами (2). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Об. 60^x. Ок. 10^x

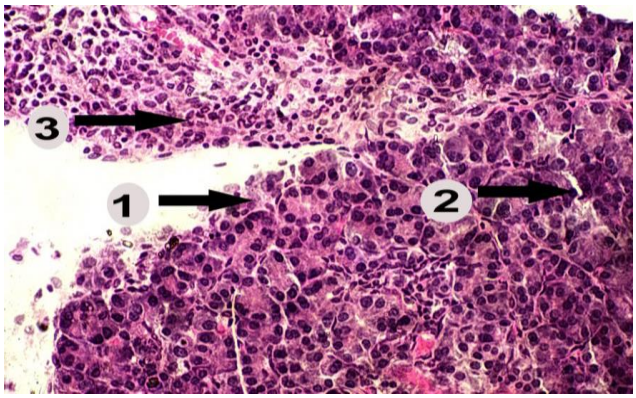

Рис. 4. Тканина підшлункової залози. Експозиція 20 с. Виражений перилобулярний набряк (1). Екзокриноцити з вираженими дистрофічними змінами (2). Виражена запальна інфільтрація сегментоядерними нейтрофілами (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Об. 40^x. Ок. 10^x

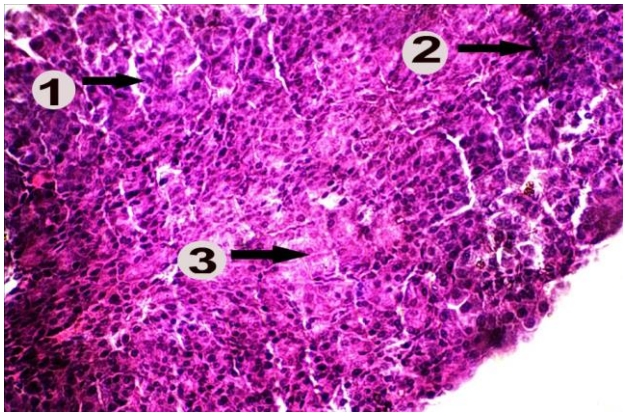

Рис. 5. Тканина підшлункової залози. Експозиція 30 с. Незначно виражений інтралобулярний набряк (1). Запальна інфільтрація сегментоядерними нейтрофілами (2). Поодинокі фокальні некрози (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Об. 60^x. Ок. 10^x

нями. Запропонований спосіб моделювання гострого експериментального панкреатиту може бути легко відтворений, тому його варто рекомендувати для подальшого вивчення етіології, патогенезу та пошуку нових методів лікування гострого панкреатиту.

Висновки. 1. Запропонований спосіб експериментального моделювання гострого панкреатиту на тваринах дозволяє отримувати дискретні форми гострого панкреатиту. 2. Набрякова форма панкреатиту виникає, якщо локальний кріовплив на підшлункову залозу запропонованим способом триває 10-20 с, а некротична – понад 25 с.

Перспективи подальших досліджень. Визначення змін мікробіоценозу товстої кишки щурів внаслідок гострого набрякового панкреатиту.

Список використаної літератури

1. А.с. 2195710 Российская Федерация, МПК G09B23/28, A61B18/00, A61B18/04. Способ моделирования острого панкреатита / Б.А. Рейс, В.В. Педдер, С.В. Морозов, Л.И. Ктениди, А.Б. Толкач (РФ). – № 98111112/14; заявл. 09.06.98; опубл. 29.12.02, Бюл. № 22. 2. Симаворян П.С. Показатели жироуглеводного обмена при экспериментальном панкреатите / П.С. Симаворян, Р.С. Тишенина // Патолог. физиолог. и эксперимент. терапия. – 1973. – № 2. – С.59-62. 3. Animal models for investigating chronic pancreatitis / A.A. Aghdassi, J. Mayerle, S. Christochowitz [et al.] / Fibrogenesis Tissue Repair. – 2011. – № 4. – P. 26. doi: 10.1186/1755-1536-4-26. 4. Эффективное воспроизведение острого панкреатита в эксперименте / В.Н. Федоренко, М.Г. Пустоветова, А.П. Надеев [и др.] // Медицина и образование в Сибири – 2014. – № 3. Режим доступу до журн.: http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1426. 5. dA-Cheng-Qi decoction protects against pancreatic damage in murine experimental acute pancreatitis. 44th European Pancreatic Club (EPC) Meeting June 20-23, 2012 Prague, Czech Republic [Електронний ресурс] / T. Jin, W. Huang, M.A.Javed [et al.] // The abstracts are only available online, free of charge, under www.epc2012.com. 6. Hyun J.J. Experimental Models of Pancreatitis / J.J. Hyun, H.S. Lee // Clin. Endosc. – 2014. – № 47(3). – P. 212-216. doi: 10.5946/ce.2014.47.3.212. 7. Mizunuma T. Effects of injecting excess arginine on rat pancreas / T. Mizunuma, S. Kawamura, Y. Kishino. // J. Nutr. – 1984. – № 114. – P. 467-471. 8. Su K.H. Review of experimental animal models of acute pancreatitis / K.H. Su, C. Cuthbertson, Christopher Christophi // HPB (Oxford). – 2006. – № 8(4). – P. 264-286. doi: 10.1080/13651820500467358. 9. L-

arginine-induced experimental pancreatitis / P. Hegyi, Z. Rakonczay J.R. Sári [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2004. – № 10(14). – P. 2003-2009. 10. Pancreatic atrophy: a new model using serial intraperitoneal injections of L-arginine / C.P. Delaney, K.F. McGeeney, P. Dervan, [et al.] / Scand. J. Gastroenterol. – 1993. – № 28. – P. 1086-1090. 11. Weaver C. Pancreatic changes elicited by chronic administration of excess L-arginine. / C. Weaver, A.E. Bishop, J.M. Polak // Exp. Mol. Pathol. – 1994. – № 60. – P. 71-87. 12. Пат. 80071 Україна, МПК G09B 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання гострого панкреатиту / Іващук С.І.: заявник і патентовласник Буковинський державний медичний університет. – № u201213805; заявл. 03.12.2012; надрук. 13.05.2013, Бюл. № 9. 13. Пат. 101633 Україна, МПК A61B 18/02 (2006.01), H01L 23/38 (2006.01), H01L 39/00, A61P 1/18 (2006.01). Пристрій для кріогенного моделювання гострого панкреатиту / Іващук С.І.: заявник і патентовласник Буковинський державний медичний університет. – № u201502580; заявл. 23.03.2015; надрук. 25.09.2015, Бюл. № 18.

СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДИСКРЕТНЫХ ФОРМ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА ПУТЁМ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛОКАЛЬНОГО КРИОВОЗДЕЙСТВИЯ

Резюме. В эксперименте на белых крысах продемонстрировано возможность дискретного моделирования разных форм (отёчная, некротическая) острого экспериментального панкреатита путём использования локального криовоздействия на ткани поджелудочной железы собственным способом. Для криовоздействия использовано устройство, созданное на базе термоэлектрического модуля Пельтье. Выполненные гистологические исследования засвидетельствовали, что отёчная форма панкреатита развивается, если локальное криовоздействие на поджелудочную железу предложенным способом длится 10-20 секунд, а некротическая – свыше 25 секунд.

Ключевые слова: экспериментальный панкреатит, криовоздействие, гистология, модуль Пельтье.

METHOD OF ACUTE PANCREATITIS DISCRETE FORMS MODELING USING LOCAL CRYOEFFECT

Abstract. The possibility of discrete modeling of experimental acute pancreatitis different forms (edematous, necrotic) using local cryoeffect on pancreatic tissue with our own method in the experiment on white rats was demonstrated. The device based at Peltier thermoelectric module was used for cryoeffect. The performed histological studies showed that the edematous form of pancreatitis develops if local cryoeffect on the pancreas with the suggetsed method lasts 10-20 seconds, and necrotic – more than 25 seconds.

Key words: experimental pancreatitis, cryoieffect, histology, Peltier module.

Higher State Educational Institution of Ukraine
"Bukovinian State Medical University" (Chernivtsi)

Надійшла 08.02.2017 р.
Рецензент – проф. Гринчук Ф.В. (Чернівці)