УДК 617-089

МОДЕЛИРОВАНИЕ РЕГУЛИРУЕМОЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Пахомова Р.А., Воронова Е.А., Родиков М.В.

ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России,(660022 Красноярск, Партизана Железняка 1), e-mail: PRA5555@mail.ru

Патология панкреатодуоденальной зоны, осложненная механической желтухой, среди всех хирургических заболеваний брюшной полости по частоте уступает лишь острому аппендициту и в последние годы не имеет тенденции к снижению. Послеоперационная летальность в хирургии желчевыводящих путей достигает 18-20%, а послеоперационная летальность от печеночной недостаточности, возникающей после декомпрессии ЖВП достигает 15-47%. С целью изучения адаптационных реакций и морфофункциональных возможностей печени и организма в зависимости от степени тяжести механической желтухи и после декомпрессии желчных путей мы моделировали механическую желтуху в эксперименте. В комплексной оценке тяжести механической желтухи исследовали уровень билирубина, гаммаглютамилтрансферазу, АСТ, АЛТ. Методом атомно-силовой микроскопии исследовали морфофункциональные изменения в эритроцитах. Авторами исследования было доказано, что при оценке состояния больного с механической желтухой высокой разрешающей способностью обладает своевременное выявление изменений структурно-плазматических мембран эритроцитов при разной степени механической желтухи, что может предупреждать хирурга, еще до появления необратимых изменений, о развитии печеночной недостаточности, а своевременно назначенное лечение позволит привести к более благоприятному прогностическому результату.

Ключевые слова: моделирование механической желтухи, печеночная недостаточность.

SIMULATION OF CONTROLLED OBSTRUCTIVE JAUNDICE IN THE EXPERIMENT

Pakhomova R.A., Voronova E.A., Rodikov M.B.

KrasGMU Medical University named after prof. V.F.Voyno-Yasenetsky Russian Ministry of Health, (660022 Krasnoyarsk, Partizana Zheleznyaka 1), e-mail: PRA5555@mail.ru

Pathology of pancreaticoduodenal zone complicated with obstructive jaundice, among all surgical diseases of the abdominal cavity frequency second only to acute appendicitis.And in recent years it has a tendency to decrease. Postoperative mortality in operations with biliary tract (BT) reaches 18-20%, and the postoperative mortality from liver failure occurring after decompression BT reaches 15-47%. In order to study the reactions of adaptation and morphofunctional liver possibilities and organism in general in relation to the severity of obstructive jaundice we simulated obstructive jaundice after decompression of the biliary tract in the experiment. In a comprehensive assessment of severity of jaundice we tested bilirubin, gammaglyutamiltransferaze, AST, ALT. With method of atomic force microscopy we examined morphological changes in red blood cells. By the authors of the study it was shown that in the assessment of condition of patients with obstructive jaundice high resolution has timely detection of changes in structural and plasma membrane of red blood cells with different degrees of jaundice, which may prevent the surgeon before the appearance of irreversible changes, the development of liver failure and promptly appointed treatment will lead to a more favorable prognostic outcomes.

Keywords: simulation of obstructive jaundice, liver failure.

Патология панкреатодуоденальной зоны, осложненная механической желтухой, среди всех хирургических заболеваний брюшной полости по частоте уступает лишь острому аппендициту и в последние годы не имеет тенденции к снижению. Послеоперационная летальность в хирургии желчевыводящих путей достигает 18-20%, а послеоперационная летальность от печеночной недостаточности, возникающей после декомпрессии ЖВП достигает 15-47%.

Одним из осложнений механической желтухи является формирование печеночной недостаточности и эндогенной интоксикации. Ни один из способов диагностики степеней механической желтухи не дают нам достаточную информативность в диагностике печеночной недостаточности, остается актуальным поиск новых методов диагностики печеночной недостаточности при разных классах механической желтухи. Одним из способов предоперационной диагностики функционального состояния печени и профилактики печеночно-клеточной недостаточности является АСМ.

Целью исследования являлось изучить адаптационные реакции и морфофункциональные возможности печени и организма в зависимости от степени тяжести механической желтухи и после декомпрессии желчных путей.

Материалы и методы

Моделировали регулируемую механической желтуху по авторской методике на 40 минипигах, для этого в пересеченный холедох животного устанавливали Т-образный дренаж Кера, проксимальный конец которого выводили на холку животного, подшивали и закрывали до достижения необходимого класса механической желтухи.

За животными устанавливали динамическое наблюдение, фиксировали общее состояние, активность, аппетит, цвет кожных покровов и слизистых, мочи, кала, наблюдали за продолжительностью жизни. Условия содержания и питания в группах были одинаковыми.

Все исследования проводили в одно и то же время суток с 8 до 12 ч. с соблюдением принципов, изложенных в конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986). Животных выводили из опыта декапитацией под эфирным наркозом. Для исследования у опытных животных брали кровь для определения биохимических показателей и ткань печени для гистологического исследования.

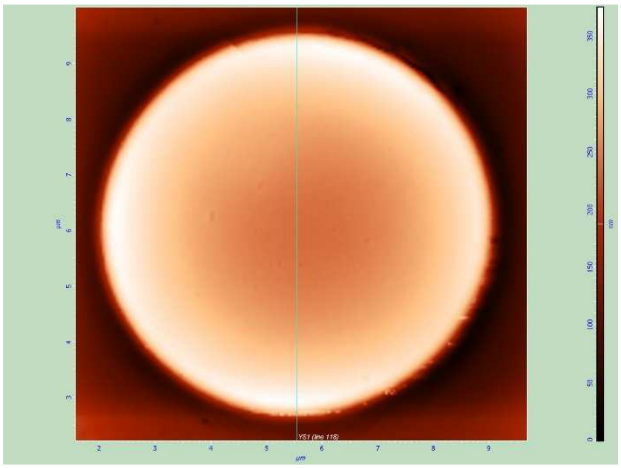
В комплексной оценке тяжести механической желтухи исследовали уровень билирубина, гаммаглютамилтрансферазу, АСТ, АЛТ. Методом атомно-силовой микроскопии исследовали морфофункциональные изменения в эритроцитах (относительный объем эритроцита V). Согласно классификации Гальперина М.Д.(2013г), животные были разделены на 3 группы: класс А, В и С. В классе А наблюдались животные с билирубином свыше 5 мкмоль/л и до 12 мкмоль/л. В классе В- животные с уровнем билирубина до 46 мкмоль/л, класс С-животные с уровнем билирубина свыше 46 мкмоль/л. После достижения необходимого класса механической желтухи, восстанавливали пассаж желчи путем простого открытия дренажа. На 10-е сутки после восстановления пассажа желчи, производилось

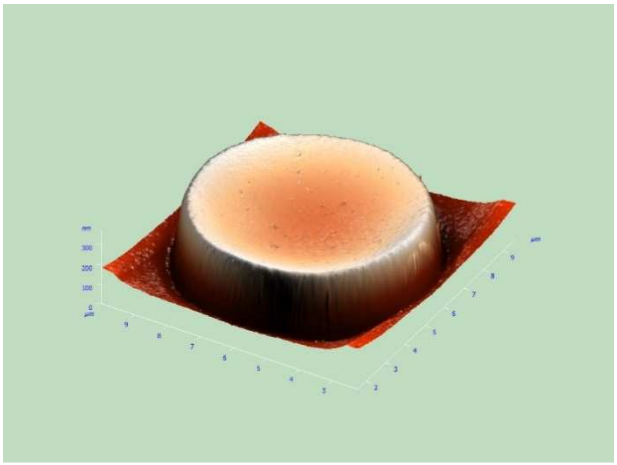
повторное взятие крови у животных. Критериями эффективной реадаптации организма служили значения Tbill, GGT, АСТ, АЛТ, относительный V эритроцита.

Результаты и обсуждения

У животных всех группы выявлено достоверное увеличение всех показателей. Значения Tbill при классе А увеличилось до 6-12 мкмол/л, GGT до 32-50 ЕД, АЛТ до 2,01мкмоль/л, АСТ до 2, 33 мкмоль/л. При классе В значение Tbill увеличилось до 13-46 мкмол/л, GGT до 51-93 ЕД, АЛТ до 2,33 мкмоль/л, АСТ до 2, 51 мкмоль/л. Класс С: Tbill свыше 46 мкмол/л, GGT свыше 193 ЕД, АЛТ свыше 2,83 мкмоль/л, АСТ свыше 3, 01 мкмоль/л. Таким образом, мы видим значительное увеличение маркеров холестаза и цитолиза. На 10-е сутки после восстановления пассажа желчи показатели цитолиза и холестаза при классе А и С находились в пределах верхней границы нормы. Класс В: значение Tbill оставались в пределах до 6-8 мкмол/л, GGT до 32-41 ЕД, АЛТ до 2,01мкмоль/л, АСТ до 2, 33 мкмоль/л. Адаптационные возможности организма после декомпрессии при классе В оказались значительно ниже, нежели при других классах механической желтухи.

Для получения информации о взаимосвязи морфологии с упругими свойствами мембраны и осмотическим давлением внутри и вне эритроцитов с помощью АСМ исследован мазок крови минипига с разным уровнем механической желтухи (МЖ), в котором были обнаружены эритроциты с нормальной и измененной формами (рис.1, 2, 3, 4). Как мы видим в норме эритроцит имеет форму - двояковогнутого сфероцита, при повышении билирубина эритроцит принимает форму двояковыпуклого овала.





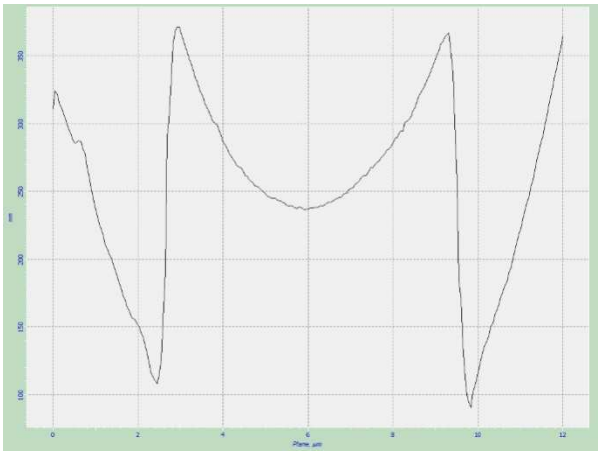
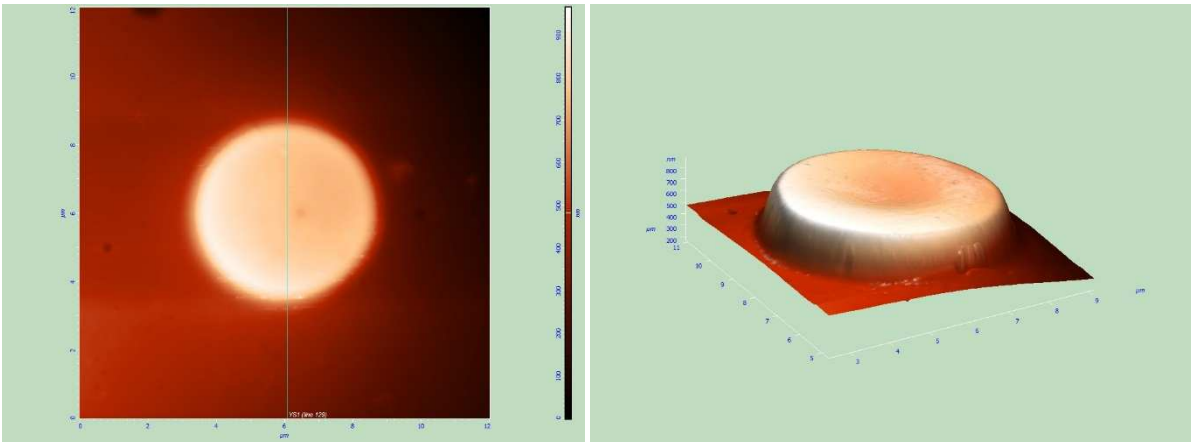


Рис. 1.Эритроцит норма



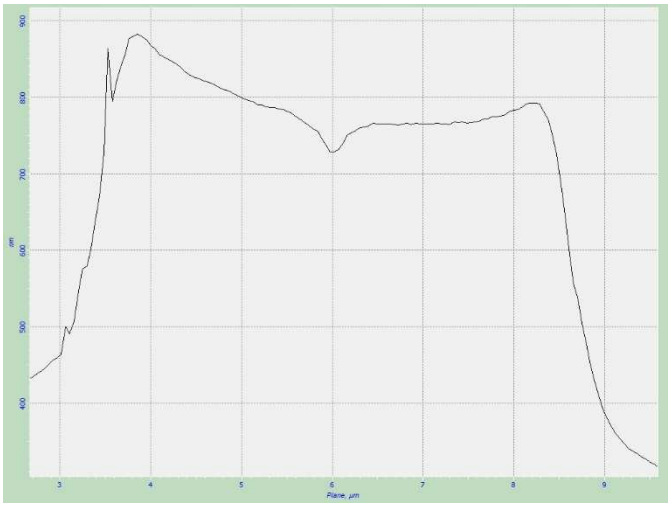


Рис. 2.Эритроцит при МЖ класса А

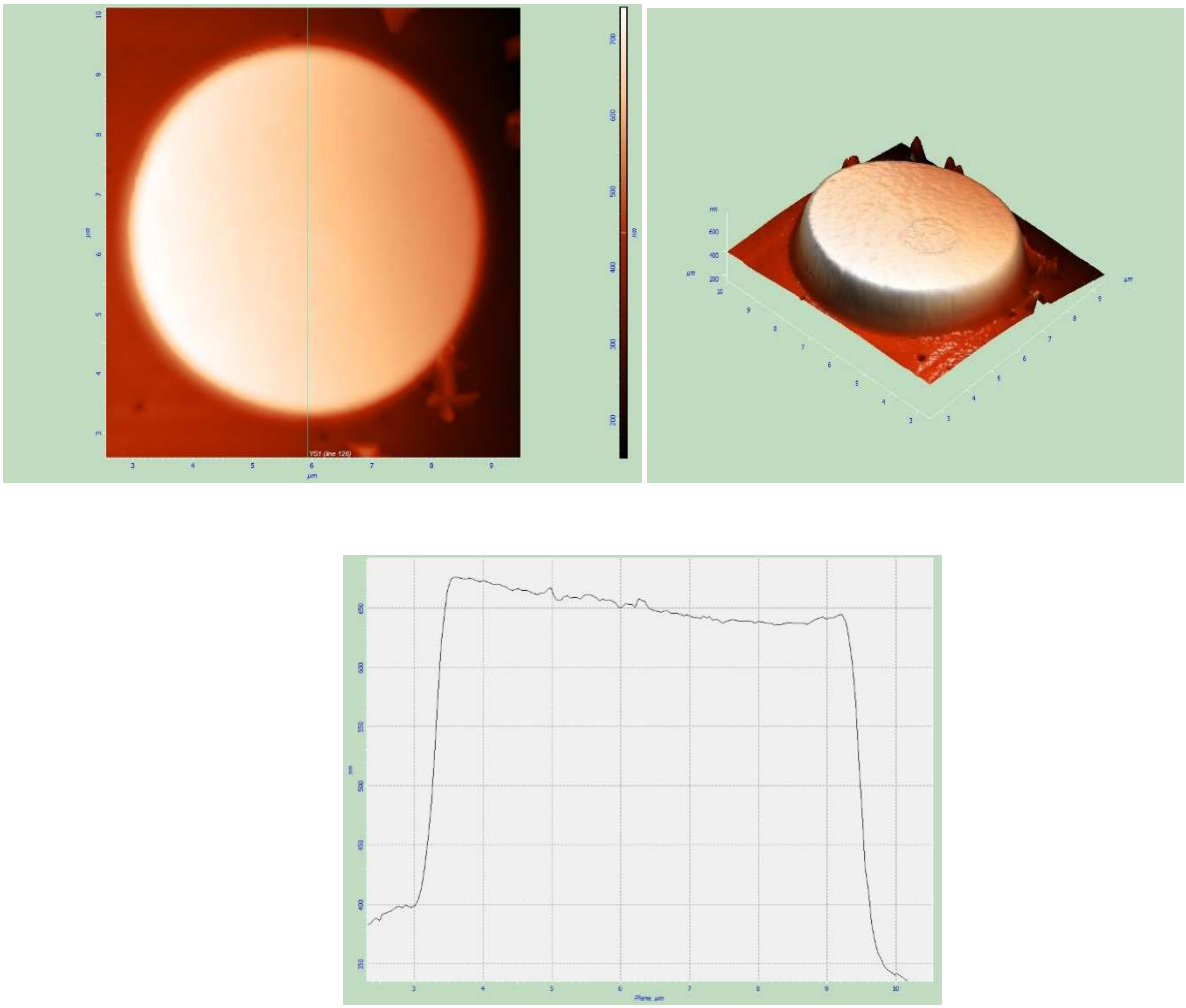
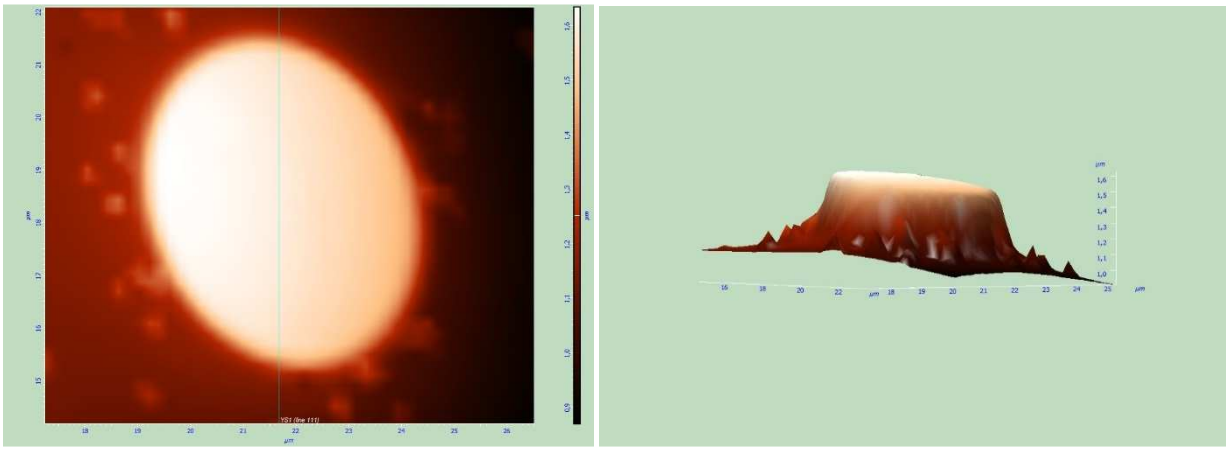


Рис. 3.Эритроцит при МЖ класса В



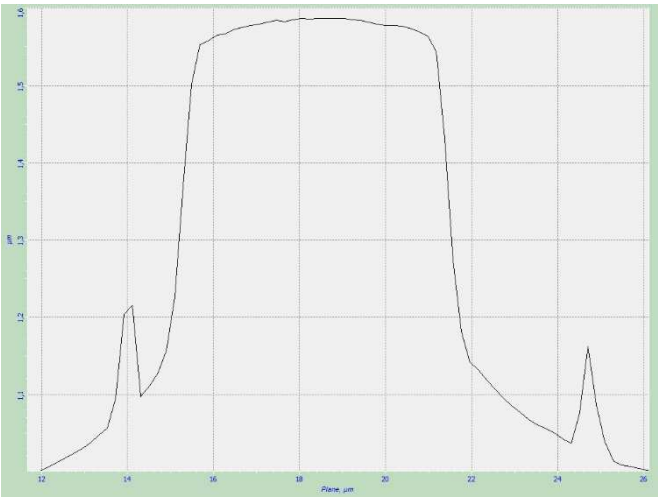


Рис. 4.Эритроцит при МЖ класса С

Для анализа геометрических характеристик разрезов эритроцитов мы высчитывали объем эритроцита (ширина, длина, высота и наличие ямки) (табл. 1.)

Таблица 1

Размеры эритроцита при разной степени МЖ

Степень МЖ	Площадь эритроцита (M±m, μкм^2)	Глубина впадины (M±m, ηм)	Объем эритроцита (M±m, μкм^3)
Норма	24,97±1,31	185,5±9,84	7,09±0,34
Класс А	23,75±1,24	92±6,63	8,56±0,39
Класс В	25,38±1,38	27,5±2,5	10,17±0,61
Класс С	26,73±0,88	-20,0±0	12,37±0,46

Таким образом мы видим, что в норме эритроцит имеет форму двояковогнутого сфероцита, при нарастании гипербилирубинемии эритроцит меняет форму: из сфероцита превращается в овал, из двояковогнутого – становится двояковыпуклым. По геометрическим характеристикам разрезов эритроцитов был рассчитан объем эритроцита и его геометрические характеристики (ширина, длина, высота и глубина впадины). Сравнивая данные в таблице можно оценить величину внутриклеточного давления в эритроцитах, поскольку давление однозначно определяет величину выпуклости мембраны эритроцита. Полученные значения показывают, что с увеличением степени механической желтухи происходит с одной стороны рост среднего объема эритроцита и уменьшение его внутриклеточного давления по отношению к норме. Причем при МЖ класса С происходит фактически разрушение эритроцита, поскольку его постепенно разрывает давлением изнутри.

Таким образом, в клинической практике нет пока единого метода прогнозирования и развития тяжести печеночной недостаточности при механической желтухе. Предлагаемый способ позволяет смоделировать разную степень механической желтухи и ликвидировать ее без повторного оперативного вмешательства на одном и том же животном, путем открытия дренажа, с целью исследования упруго-вязкостных свойств клеточных мембран, поскольку именно они являются наиболее общими, интегральными показателями функционального состояния мембран, мембранных органелл и клеток в целом. В клинической практике своевременное выявление изменений структурно-плазматических мембран эритроцитов при разной степени механической желтухи может предупреждать хирурга, еще до появления необратимых изменений, о развитии печеночной недостаточности, а своевременно назначенное лечение позволит привести к более благоприятному прогностическому результату.

Список литературы

1. Винник Ю.С., Пахомова Р.А., Серова Е.В. и др. Хирургическая коррекция синдрома механической желтухи. Сибирский медицинский журнал. - 2012. - Т. 27. - № 3.- С.116-119.
2. Гальперин Э.И., Момунова О.Н. Классификация тяжести механической желтухи Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2014. № 1. С. 5-9.
3. Ившин В. Г., Якунин А. Ю., Макаров Ю. И. Чрескожные чреспеченочные диагностические и лечебные вмешательства у больных с механической желтухой //Анналы хир. гепатологии. 1996. Т. 1. С. 121-131.
4. Каримов Ш. И. Эндобилиарные вмешательства в диагностике и лечении больных с механической желтухой. Ташкент: Издательство им. Ибн Сины, 1994. 239 с.
5. Прокубовский В. И., Капранов С. А. Чреспеченочное эндопротезирование желчных протоков //Хирургия. 1990. № 1. С.18-23.
6. Савельев В. С., Прокубовский В. И., Филимонов М. И. и др. Чрескожное чреспеченочное дренирование желчных путей при механической желтухе //Хирургия. 1988. № 1. С. 3-7.
7. Хрусталева М. В. Современные эндоскопические транспапиллярные методы лечения механической желтухи //Анналы НЦХ РАМН. 1997. С. 39-42.
8. Шаповальянц С. Г., Цкаев А. Ю., Грушко Г. В. Выбор метода декомпрессии желчных путей при механической желтухе //Анналы хир. гепатологии. 1997. Т. 2. С. 117-122.
9. Cotton P. B. Endoscopic management of biliary strictures //Annu gastrointes. endoscopy. 1993. P. 6.

10. Guschieri A., Buess G., Perissat J. Operative manual of endoscopic surgery //Springer-Verlag. 1993. V. 2. P. 273.
11. Murai R., Hashig Ch., Kusujama A. Percutaneus stenting for malignant biliary stenosis //Surgical endoscopy. 1991. V. 5. P. 140.

Рецензенты:

Черданцев Д.В., профессор, д.м.н., заведующий кафедрой и клиникой хирургических болезней им. проф. А.М.Дыхно с курсом эндоскопии и эндохирургии ПО, ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России, г.Красноярск;

Здзитовецкий Д.Э., д.м.н., заведующий кафедрой и клиникой хирургических болезней им. проф. Ю.М. Лубенского, ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России, г.Красноярск.