

*І.О. Іващук¹,
І.С. Давиденко²,
І.К. Морар¹*

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

МОРФОЛОГІЧНЕ ТА БІОХІМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ДЕЯКИХ СПОСОБІВ МОДЕЛЮВАННЯ ГОСТРОГО ДЕСТРУК- ТИВНОГО ПАНКРЕАТИТУ НА ДРІБНИХ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИНАХ

Ключові слова: *гострий де-
структивний панкреатит, дрібні
лабораторні тварини.*

Резюме. *У статті представлено спосіб моделювання гострого деструктивного панкреатиту із використанням 10% розчину хлористого кальцію. Використовуючи морфологічний та біохімічний методи дослідження вивчено та порівняно подразнюючу дію 10% розчину хлористого кальцію з розчинами L-аргініну та 70% етиловим спиртом при моделюванні гострого деструктивного панкреатиту на дрібних лабораторних тваринах. Встановлено майже однакову ефективність застосування вищеперерахованих речовин з метою моделювання гострого деструктивного панкреатиту. Проте застосування 10% розчину хлористого кальцію має певні переваги, а саме: переважання активності амілази ексудату черевної порожнини та порівняно низька летальність тварин.*

Вступ

Гострий деструктивний панкреатит (ГДП) продовжує залишатися найактуальнішою проблемою сучасної хірургії тим самим привертас увагу багатьох дослідників.

З метою вивчення нових патогенетичних аспектів перебігу ГДП запропоновано різноманітні способи його експериментального відтворення із використанням дрібних лабораторних тварин. Це інтраперитонеальне уведення розчину L-аргініну 4 г/кг, ін'єкції етилового спирту в загальну жовчну протоку, тимчасова перев'язка жовчного та панкреатичного протоків тощо [1].

Але всі існуючі способи моделювання ГДП поруч із своїми перевагами мають певні недоліки. Це насамперед відсутність комплексу умов необхідних для відтворення ГДП, які максимально відповідають реальному клінічному перебігу захворювання, розкриття просвіту дванадцятипалої кишки часто супроводжується розвитком перитоніту, виконання більшості способів технічно складно, що робить їх використання обмеженим [2].

Нами запропоновано модель ГДП, яка полягає у безпосередньому уведенні 10% розчину хлористого кальцію в тканину підшлункової залози, що дозволяє отримати вогнища гострого некрозу в ділянці його застосування. Проте залишається невивчена дія 10% розчину хлористого кальцію у порівнянні з вже відомими подразнюючими речовинами, які широко застосовуються.

Проведення порівняльного аналізу дії 10% розчину хлористого кальцію із розчинами L-аргініну та 70% етиловим спиртом, з метою

моделювання ГДП, дасть змогу визначити оптимальну експериментальну модель.

Мета дослідження

Дослідити та порівняти подразнюючу дію 10% розчину хлористого кальцію з розчинами L-аргініну та 70% етиловим спиртом при моделюванні гострого деструктивного панкреатиту на дрібних лабораторних тваринах.

Матеріал і методи

Експеримент виконано на статевозрілих нелінійних щурах середнього віку обох статей, масою не менше 180 г, які розподілені на дві групи – контрольну та основну. Контрольну групу утворило 6 абсолютно здорових тварин. Основну групу утворило 34 щурів, яким було змодельовано ГДП. Основна група, залежно від уведеної подразнюючої речовини в тканину підшлункової залози, розподілена на три підгрупи. Дослідні щури першої підгрупи отримували розчин L-аргініну в дозі 2,5 г/кг, другої – 70% розчин спирту та третьої – 10% розчину хлористого кальцію.

Тваринам основної групи під загальним внутрішньом'язовим знеболенням (каліпсол 125 мг/кг), після обробки операційного поля, виконували верхню середню лапаротомію, довжиною до 1,5-2,0 см. У рану виводили шлунок з дванадцятипалою кишкою та підшлунковою залозою. За допомогою інсулінового шприца, між листками брижі дванадцятипалої кишки, в ділянці підшлункової залози, вводили відповідний розчин, кількістю 0,5 мл. Виведені органи занурювали в червну порожнину, лапаротомну рану пошаро-

во запивали.

Виконання експериментальної роботи проводили згідно із методичними підходами, прийнятими в експериментальній хірургії, та Гельсінського акту гуманного поводження з експериментальними тваринами. Тварин годували один раз на добу вранці, енергетична цінність їжі складала від 5,6 до 6,2 кДж на кг маси на добу, воду давали в необмеженій кількості. Напередодні операції тварин переводили на голодну дієту [1].

Забір крові проводили, на першу добу експерименту, шляхом взяття крові з нижньої порожнистої вени після виконання лапаротомії під загальним знеболенням (тіопентал-натрію в дозі 10 мг/кг).

Визначали активність амілази сироватки крові та ексудату черевної порожнини амілокласичним методом за Каравесом [1].

Евтаназію щурів здійснювали згідно етичних стандартів та діючих рекомендацій, у стані глибокого наркозу, шляхом введення надлишкової кількості наркотичного препарату, згідно закону України № 3447-1 від 21.02.2006 р. "Про захист тварин від жорстокого поводження".

Для світлооптичного дослідження, при гістологічному дослідженні, біоптати тканини підшлункової залози фіксували в 10% нейтральному формаліні. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином.

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень проведено на персональному комп'ютері з використанням формул із теорії статистики. Оцінювали середні значення активності амілази сироватки крові та ексудату черевної порожнини (M), їхні стандартні відхилення (m), достовірність статистичних показників (p) за t-критерієм Стьюдента.

Обговорення результатів дослідження

При автопсії тварин основної групи, на першу добу після моделювання ГДП, у всіх випадках макроскопічно виявлялись ознаки даного захворювання.

В черевній порожнині, в більшості випадків, мало місце помірна кількість геморагічного ексудату та потовщення великого сальника. Підшлункова залоза набрякла з вогнищами крововиливу та ділянками деструкції тканини. В органах черевної порожнини мали місце ділянки стеатонекрозів. Печінка щільна, повнокровна. Селезінка візуально незмінена. Тонкий кишечник атонічний роздутий, судини його брижі переповнені кров'ю. В плевральних порожнинах незначна кількість геморагічного випоту. Нижні відділи обох легень змінені по

типу червоного спечінкування. Трахея та бронхи містили слиз в невеликій кількості. Міокард на розрізі дещо тьмянний. В порожнинах серця рідка кров (рис. 1).

При гістологічному дослідженні підшлункової залози відмічалися великі осередки коліваційного некрозу з чіткою відмежованістю від неуражених тканин, центральні відділи яких характеризувалися переважанням каріолізісу, а периферійні каріорексису. Місцями відмічалися дрібні осередки жирового некрозу з накопиченням вільних крапель жиру. Навколо ділянок некрозу спостерігалися явища перифокального запалення та ділянки крововиливів. Збережена тканина підшлункової залози мала ознаки інтерстиційного набряку, епітелій екзокринного апарату з ознаками дистрофії, яка більш виражена у безпосередній близькості до некротичних ділянок (рис. 2, рис. 3).

Летальність у першій підгрупі тварин становила 70% (7 летальних випадків), в другій – 83,3% (10 випадків), а в третій – 66,7% (8 випадків). Летальність на першу добу експерименту становила 11,8% (4 летальних випадків), проте в третій дослідній групі вона відсутня.

У віддалені терміни спостереження спостерігається виражений спайковий процес в черевній порожнині, зокрема в ділянці підшлункової залози, який відмежовує ділянки некрозу від інших органів (рис. 4).

Одним із біохімічних критеріїв, який відображає характер та розповсюдженість запального процесу у підшлунковій залозі є зміна активності амілази різних біологічних середовищ організму [1].

Наведені результати дослідження в таблиці 1 свідчать, що на першу добу після моделювання ГДП відмічається достовірне зростання активності амілази сироватки крові в усіх дослідних підгрупах тварин. Достовірної різниці між показниками трьох дослідних підгруп тварин немає. Проте найвищі показники відмічено в тварин третьої підгрупи, а найменші – в першій.

При автопсії тварин першої дослідної підгрупи було відмічено помірну кількість геморагічного ексудату в черевній порожнині, абсолютно у всіх дослідних тварин. У другій підгрупі тварин геморагічний ексудат було відмічено в 83,3%, а в третій – в 66,7%.

Представлені результати дослідження в таблиці 2 вказують на достовірне переважання активності амілази ексудату черевної порожнини в тварин третьої підгрупи. Найменшу активність амілази відмічено в першій дослідній підгрупі тварин.

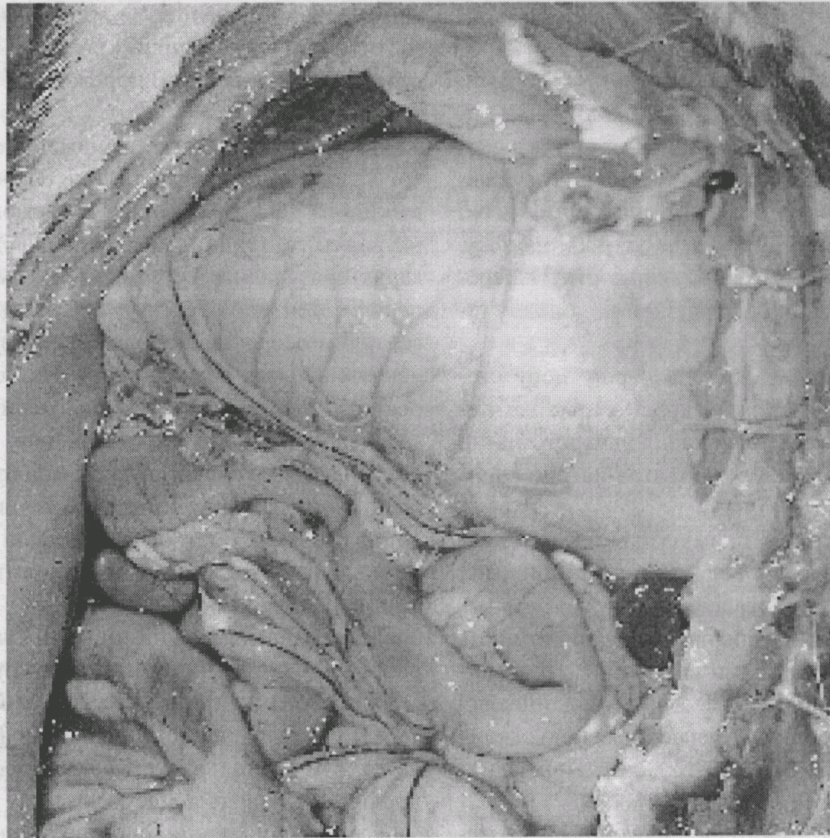


Рис. 1. Ділянки стеатонекрозів на першу добу після моделювання гострого деструктивного панкреатиту за допомогою 10% розчину хлористого кальцію

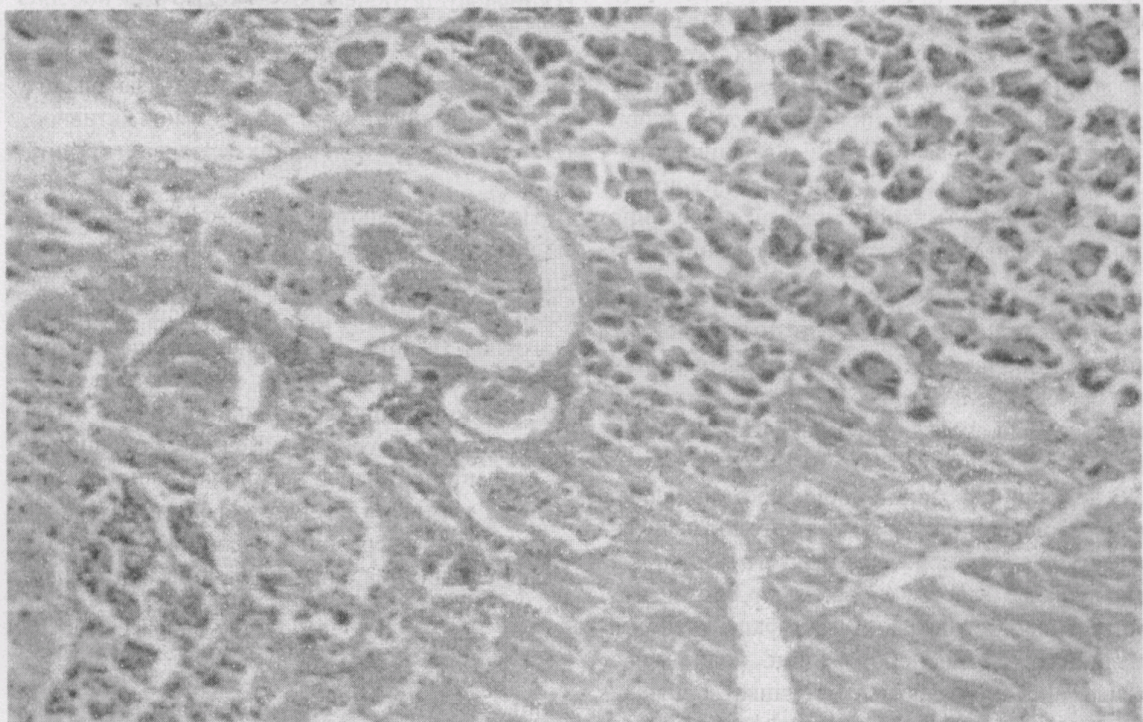


Рис. 2. Підшлункова залоза. У нижній частині знімка ділянка некрозу з каріопікнозом та каріорексисом. У верхній частині знімка збережена тканина залози з ознаками інтерстиційного набряку та дистрофії епітелію. Гематоксилін і еозин. Об.9х.Ок.10 х

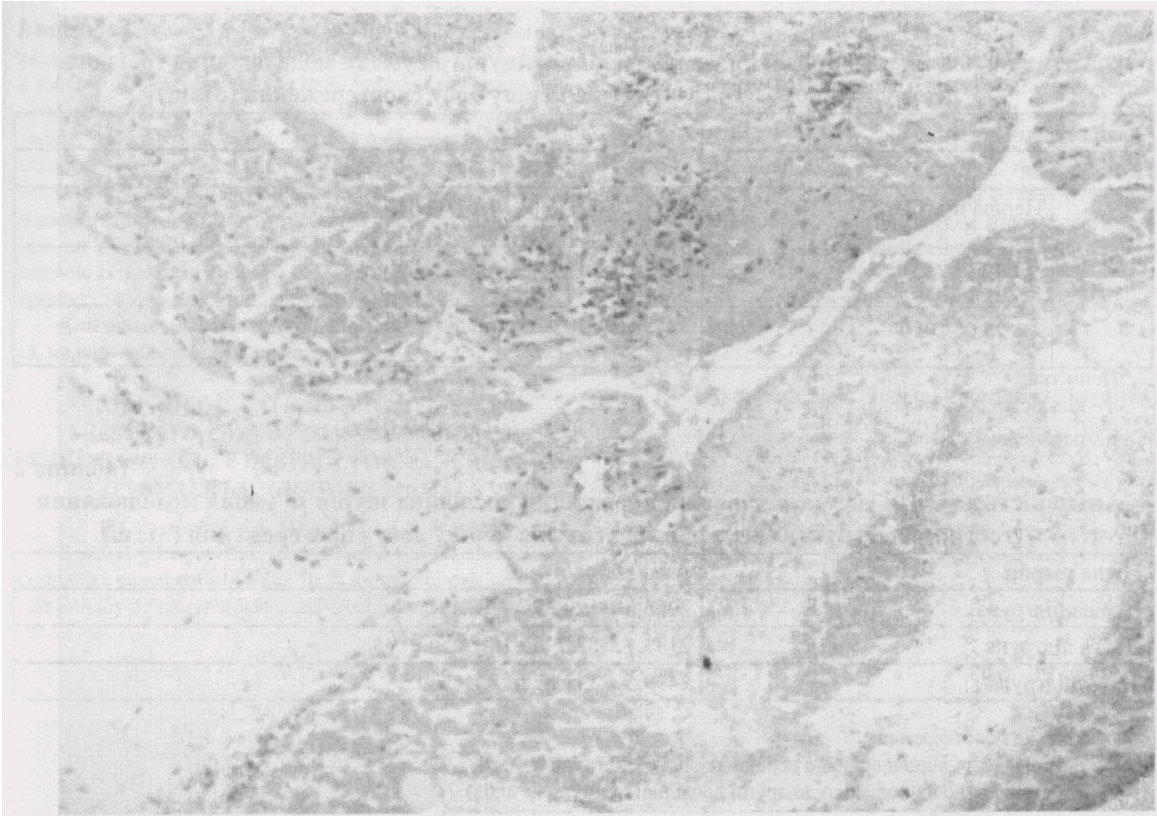


Рис. 3. Підшлункова залоза. Осередок запалення зі значними крововиливами. Гематоксилін і еозин. Об.9х.Ок.10 х

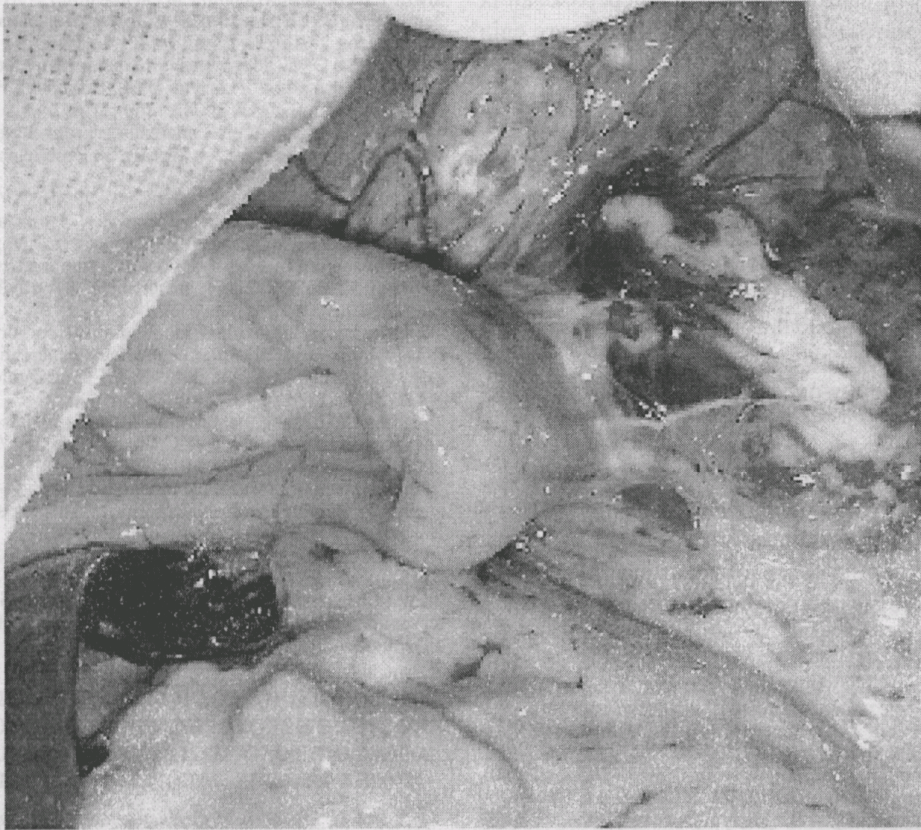


Рис. 4. Виразений спайковий процес в ділянці підшлункової залози на 14-ту добу після моделювання гострого деструктивного панкреатиту за допомогою 10% розчину хлористого кальцію

Таблиця 1

Активність амілази сироватки крові дослідних шурів за умови моделювання гострого деструктивного панкреатиту на першу добу спостереження (M±m)

Група тварин		Амілаза од/л
Контрольна		186,5± 10,19 n=6
Основна	Перша підгрупа	1988,7 ± 95,16 n=10; p<0,001
	Друга підгрупа	2025,92 ± 146,99 n=12; p<0,001
	Третя підгрупа	2215,58 ± 102,25 n=12; p<0,001

Примітки:

n – кількість спостережень;

p – порівняно з контролем

Таблиця 2

Активність амілази ексудату черевної порожнини дослідних шурів за умови моделювання гострого деструктивного панкреатиту на першу добу спостереження (M±m)

Група тварин		Амілаза од/л
Перша підгрупа		2056,6 ± 129,37 n=10
Друга підгрупа		2133,7 ± 82,79 n=10
Третя підгрупа		2499,5 ± 131,87 n=8 *,**

Примітки:

n – кількість спостережень;

* – достовірно по відношенню до першої дослідної підгрупи (p<0,01);

** – достовірно по відношенню до другої дослідної підгрупи (p<0,05).

Отже, підсумовуючи результати проведеного дослідження слід зазначити майже однакову ефективність застосування вищеперерахованих речовин з метою моделювання ГДП. Проте слід відмітити, що застосування 10% розчину хлористого кальцію має певні переваги. Це переважання активності амілази ексудату черевної порожнини та порівняно низька летальність.

Таким чином, запропонований спосіб моделювання гострого деструктивного панкреатиту із використанням 10% розчину хлористого кальцію дозволяє технічно нескладно створити експериментальну модель гострого деструктивного панкреатиту, на дрібних лабораторних тваринах, з метою вивчення окремих ланок його патогенезу.

Перспективи подальших досліджень

Вважаємо за доцільне, в експерименті на дрібних лабораторних тваринах, дослідити вплив внутрішньочеревної гіпертензії на перебіг гострого деструктивного панкреатиту.

Література

1. Береговенко І.М. Мікроциркуляторні й патоморфологічні зміни у розвитку експериментального гострого панкреатиту у шурів / І.М. Береговенко, Д.Ю. Зінченко // Морфологія. – 2008. – Т. II, № 1. – С. 33-40.
2. Лабораторні тварини в медико-біологічних експериментах: метод. посібн. / [В.П. Пішак, В.Г. Висоцька, В.М. Магальяс та ін.]. – Ч.: Медуніверситет, 2006. – 350 с., іл.
3. Клинико-лабораторные критерии деструктивных форм острого панкреатита / В.А. Слипливый, С.Н. Тесленко, Г.Д.

Петренко [та ін.] // Вісн. морської медицини. – 2001. – № 2 (14). – С.

4. Способ моделирования острого деструктивного панкреатита (Экспериментальное исследование) / Луговой, С.А. Заринская, В.Г. Владимиров [и др.] // Анналы хирургической гепатол. – 2007. – Т. XII, № 4. – С. 84-90.

5. Плегуща О.М. Деструктивный панкреатит: основы комплексного лікування / Плегуща О.М., Сидорчук Р.І., Плегуща М.Д.; Чернівці: БДМУ, 2008. – 260 с. (іл.).

6. Managment of Acute Pancreatitis: From Surgery to Interventional Intensive Care / J. Werner, S. Feuerbach, W. Uhl [et al.] // Gut. – 2005. – № 54. – P. 426-436.

7. Пат. 24584 Україна, МПК G 09 B 23/28. Спосіб моделювання гострого панкреатиту / Ничитайло М.Ю., Підмурняк О.О., Берегова Т.В., Фалалєєва Т.М.; заявник та патенто власник Інститут хірургії та трансплантології АМН України. - № u200700464; заявл. 17.01.07; опубл. 10.07.07, Бюл. № 10.

8. Intravenous antioxidant modulation of end-organ damage in L-arginine-induced experimental acute pancreatitis / J. Hardman, C. Shields, D. Schofield [et al.] // Pancreatology. – 2005. – Vol. 21, № 11 (15). – P. 2340-2345.

9. Chan Y.C. Acute pancreatitis: Animal models and recent advances in basic research / Y.C. Chan, P.S. Leung // Pancreas – 2007. - Vol. 34, № 1. – P. 1 – 14 .

10. Intravenous antioxidant modulation of end – organ damage in L – arginine – induced experimental acute pancreatitis / J. Hardman, C. Shields, D. Schofield [etal.]//

11. Pancreatology. – 2005. – Vol. 21, № 11(15). – P. 2340 – 2345.

12. 11. Managment of Acute Pancreatitis: From Surgery to Interventional Intensive Care / J. Werner, S. Feuerbach, W. Uhl [et al.] // Gut. – 2005. – № 54. – P. 426-436.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И БИОХИМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ СПОСОБОВ МОДЕЛИРОВАНИЯ ОСТРОГО ДЕСТРУКТИВНОГО ПАНКРЕАТИТА НА МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

А.И. Ивацук, И.С. Давиденко, И.К. Морар

Резюме. В статье представлено способ моделирования острого деструктивного панкреатита с использованием 10 % раствора хлористого кальция. Используя морфологические

и биохимические методы исследования, изучено в сравнении раздражающее действие 10 % раствора хлористого кальция с растворами L – аргинина и 70 % этиловым спиртом при моделировании острого деструктивного панкреатита на мелких лабораторных животных. Установлено почти одинаковую эффективность применения вышеперечисленных веществ с целью моделирования острого деструктивного панкреатита. Но использование 10 % раствора хлористого кальция имеет некоторые преимущества, а именно приобретение активности амилазы экссудата брюшной полости и сравнительно низкая летальность животных.

Ключевые слова: острого деструктивного панкреатита, мелких лабораторных животных.

**MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL
SUBSTANTIATION OF SOME METHODS OF
SIMULATING ACUTE DESTRUCTIVE PANCREATITIS
ON SMALL LABORATORY ANIMALS**

O.I. Ivashchuk, I.S. Davydenko, I.K. Morar

Abstract. The paper presents a method of modeling acute destructive pancreatitis by using 10 % solution of calcium chloride. Employing morphological and biochemical methods of re-

search, we have studied and compare the irritant action of a 10 % solutions of calcium chloride with solutions of L – arginine and 70 % ethanol when simulating acute destructive pancreatitis on small laboratory animals. Almost identical efficacy of using the above-cited substances for the purpose of modeling acute destructive pancreatitis has been established. However, the use of 10 % solution of calcium chloride has certain advantages, namely, a predominance of the activity of amylase of the exudates of the abdominal cavity and a comparatively low animal lethality.

Key word: acute destructive pancreatitis, small laboratory animals.

Bukovinian State Medikal University (Chernivtsi)

Clin. and exp. pathol. - 2011. - Vol. 10, №4 (38). - P. 40-45

Надійшла до редакції 17.09.2011

Рецензент - проф. І. Ю. Полянський

© I.O. Іващук, I.S. Давиденко, I.K. Морар, 2011