

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

УДК 611.746.3 – 053.9

ІННОВАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ МОРФОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ СФІНКТЕРНОГО АПАРАТУ ПОЗАПЕЧІНКОВИХ ЖОВЧНИХ ПРОТОК

Цигикало О.В., Ахтеміччук Ю.Т., Олійник І.Ю.¹, Коваль Ю.І.²*Кафедра анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії¹ кафедра патоморфології та судової медицини Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці;**²Чернівецьке обласне патологоанатомічне бюро, м Чернівці*

РЕЗЮМЕ: дотримання відповідного алгоритму, удосконалення та оптимізація етапів морфологічного дослідження сфінктерного апарату позапечінкових жовчних проток сприяють уникненню спотворень одержаних результатів, забезпечують їх високу вірогідність, а також раціональне використання матеріалу.

Ключові слова: позапечінкові жовчні протоки, анатомія, методи досліджень

З'ясування закономірностей морфогенезу сфінктерного апарату позапечінкових жовчних проток є актуальним напрямком морфологічних досліджень [22, 23]. Сфінктерологія та мікрохірургічна анатомія протягом останнього десятиліття виокремились в перспективні галузі морфологічної науки, які мають вагоме прикладне значення для удосконалення новітніх методів ранньої діагностики варіантів будови та хірургічної корекції природжених вад в перинатальному періоді онтогенезу людини [14, 20, 21]. Можливості сучасної оперативної хірургії обмежені браком комплексних досліджень мікроанатомії окремих порожнистих органів і трубчастих структур, які завдяки сфінктерним комплексам забезпечують періодичність надходження вмісту чи продуктів екскреції з одного сегмента в інший [19, 26]. Аналіз літератури свідчить про суперечливість сучасних уявлень про будову замикальних пристроїв між ланками позапечінкових жовчних проток, в місці їх сполучення з кишкою та головною протокою підшлункової залози, а також про відсутність комплексних морфологічних досліджень сфінктерного апарату позапечінкових жовчних проток у віковій динаміці [1].

У вивченні анатомічних особливостей позапечінкових жовчних проток людини у віковому аспекті неабияке значення набувають методологія морфологічного дослідження, раціональність алгоритму задіяних методик, адекватність поєднання та наукова результативність зіставлення класичних методів досліджень із сучасними методами медичної діагностичної візуалізації [18, 24, 25, 27]. Виконання етапів наукового дослідження у раціональній послідовності забезпечує не тільки високу репрезентативність і статистичну цінність отриманих результатів, але й раціональне використання матеріалу [3]. Безсумнівно, кожен зародок, передплід, плід чи труп новонародженої людини є без-

цінним біологічним матеріалом, який необхідно дослідити комплексно – не тільки з погляду обсягу охоплених науковим дослідженням органів та систем, а й стосовно кількості задіяних інформативних методів дослідження.

Отже, вивчення закономірностей морфогенезу позапечінкових жовчних проток людини потребує раціонального алгоритму застосування методів морфологічного дослідження.

Початковим етапом є макроскопічне дослідження нефіксованих трупів зародків, передплідів, плодів та новонароджених. Застосовуються послідовно такі методи: соматоскопія, антропометрія, оглядова рентгенографія, рентгенографія з рентгеноконтрастними мітками та аплікаційними сумішами, магнітнорезонансна томографія та комп'ютерна томографія. На кожен об'єкт оформляли паспорт-протокол. Анамнестично з'ясовували патологію матері, яка призвела до викидня чи перинатальної смерті плода. Під час соматоскопії визначали характер можливих зовнішніх пошкоджень, мацерацій, а також варіантів будови і природжених вад.

Важливим етапом анатомічного дослідження є антропометрія, яка дозволяє визначити вік та особливості соматотипу плода. Вимірювали поздовжні розміри (тім'яно-куприкову довжину, тім'яно-п'яткову довжину, висоту тулуба) за допомогою сантиметрової стрічки; поперечні розміри (поперечний розмір грудей, відстань між передніми верхніми клубовими остями) – за допомогою штангельного чи товстотного циркулів; кути (надчревний, надлобковий тощо) – за допомогою транспортирів, гоніометрів чи спеціальних кутомірів [4, 12, 15]; обводи тіла та кінцівок – за допомогою сантиметрової стрічки. За результатами вимірювань обчислювали коефіцієнти соматотипу.

Оглядові рентгенологічні методики, зокрема, з використанням контрастних міток, дозволяють

з'ясувати особливості форми, синтопію, скелетотопію, голотопію, проекційну та рентгенанатомію органів [2]. Для якісної рентгенографії трупів плодів та новонароджених нами запропоновані експозиційні параметри (Посвідчення на раціоналізаторську пропозицію № 9/99 БДМА). Значно більший обсяг інформації може надати магнітно-резонансна томографія.

Наступним етапом дослідження нефіксованих трупів є ін'єкційні методи з наступною рентгено-чисто томографією. Сучасні комп'ютерні інформаційні технології тривимірної візуалізації та реконструювання [5] витісняють методи ін'єкції порожнистих органів та трубчастих структур швидкозтвердіючими полімерами з наступною корозією для вивчення об'ємної будови органоконструкцій. Крім того, метод корозії, під час якого біологічні тканини елімуються у розчині концентрованої соляної чи азотної кислот, унеможливує подальше дослідження плода. Метод ін'єкції передбачає введення сумішей для рентгенологічного та/або хроматичного контрастування судин [2]. Поліхроматичні рентгеноконтрастні суміші [8] значно полегшують ідентифікацію, фотодокументування та макроскопію судин. Ін'єкцію артерій трупів плодів та новонароджених ми здійснювали через грудну частину аорти людини за допомогою торакотомії зліва в шостому міжреберному проміжку по верхньому краю ребра від паравертебральної до парастернальної лінії, а катетер встановлювали в аорту через контрапертуру в правому третьому міжреберному проміжку на рівні паравертебральної лінії. Такий доступ до заднього відділу лівої плевральної порожнини мінімально травмує дрібні судини, що попереджає витіканню розчину із судинного русла. Контроль за проведенням ін'єкції судин здійснювали за допомогою лапароскопа для морфологічних досліджень трупів плодів та новонароджених [9, 17].

Ін'єкція вен плодів здійснюється, зазвичай, через пупкову вену, в яку встановлювали запропонований нами спеціальний металевий гудзикуватий катетер. Після закріплення його у пуповині лігатурами у венозну систему вводили контрастну речовину.

Розроблена нами рентгеноконтрастна суміш має такий склад: свинцевий сурик – 30 частин, гліцерин – 50 частин, спирт етиловий 96° – 20 частин. Завдяки оптимальній в'язкості вона заповнює найдрібніші кровоносні судини, добре контрастується на рентгенограмі, має яскраво-червоний колір, що забезпечує візуалізацію процесу ін'єкції та подальше мікроморфологічне дослідження препарату, добре утримується в судинному руслі, не перешкоджає подальшому гістологічному дослідженню. Слід зазначити, що компоненти суміші мають бальзамувальні властивості, завдяки гліцерину макропрепарат після фіксації у формаліні зберігає колір (не темніє), що покращує його зов-

нішній вигляд і сприяє кращим результатам фотодокументування та ілюстрування дослідження.

Для одночасного контрастування артерій та вен ми застосовували поліхромні та рентгенополіконтрастні суміші: ін'єкцію артеріального русла проводили сумішшю на основі свинцевого сурика, а венозного – сумішшю барію та синього гелевого чорнила. Поліхромну та рентгенополіконтрастну корозію здійснювали за запропонованою нами методикою [8].

Після ін'єкції судин трупів плодів та новонароджених проводили другий етап рентгенологічного чи комп'ютернотомографічного дослідження, в результаті чого отримували контрастовані рентгенограми чи серії томограм, вивчали особливості кровопостачання та синтопію судин.

Перед наступним етапом дослідження трупи плодів та новонароджених фіксували у 5% розчині формаліну протягом 20-25 діб із заміною розчину на першу і п'яту добу [3]. Для уникнення деформації матеріалу застосовували розроблені нами спеціальні фіксатори, які надавали препарату певне положення, наближене до фізіологічного, що також значно полегшувало подальше його препарування та морфометрію.

Макроскопічне дослідження та морфометрію позапечінкових жовчних проток проводили з використанням запропонованих нами інструментів [7] та обладнання для вимірювань. Анатомічні структури ретельно вимірювали, всі етапи препарування фотодокументували, використовуючи лінійку, закріплену на спеціальному штативі, який забезпечує її фіксацію у горизонтальній площині та зберігає геометричні пропорції препарату та вимірювальної лінійки на фотографічному зображенні.

Для наступного етапу морфологічного дослідження – гістологічних, гістотопографічних та мікроморфологічних методів – органоконструкції, який включає жовчний міхур з його вмістом, фрагмент паренхіми печінки в ділянці її воріт, печінково-дванадцятипалокишково та праву частину печінково-шлункової зв'язки, верхню частину нижнього відділу аорти з черевним стовбуром, воротар шлунка, дванадцятипалу кишку, голівку підшлункової залози, обережно вилучали єдиним блоком, проводили мікроморфологічне дослідження під контролем бінокулярної лупи.

Гістологічне дослідження сфінктерного апарату позапечінкових жовчних проток та гістотопографічне дослідження органоконструкцій здійснювали за допомогою виготовлення та вивчення під мікроскопом серій зрізів товщиною 8 мкм. Проводили мікроморфологію, з окремих зрізів виготовляли мікрофотографії.

З кожної серії гістотопографічних зрізів виготовляли графічні реконструкції для вивчення просторової будови та вікових топографо-анатомічних перетворень позапечінкових жовчних проток. Для їх тривимірного реконструювання та морфометрії

використовували запропонований нами спосіб [5]. Для цього за загальноприйнятою методикою виготовляли парафіновий блок з тотально забарвленим борним карміном препаратом і контрастованими судинами, закріплювали його в об'єктотримачі мікроматома, задавали товщину виконання послідовних зрізів. На штативі об'єктотримача мікроматома закріплювали освітлювач та цифрове мікрофотографічне устаткування, далі фотографували поверхню парафінового блоку після кожного зрізу. На перший кадр фотографували мікрометричну шкалу в площині виконання останнього зрізу з метою масштабування та калібрування морфометричного модуля комп'ютерної програми для реконструювання та морфометрії, надалі фотографували кожний шар препарату в парафіновому блоці після кожного робочого руху мікроматомного лека, яке зрізає попередній шар. Система автофокусу компенсує незначне збільшення відстані між мікрооб'єктивом та препаратом. Із зрізів виготовляли серії гістологічних препаратів. Із серії цифрових зображень за допомогою відповідного програмного забезпечення виготовляли тривимірну реконструкцію досліджуваних структур і проводили морфометрію. Головними перевагами способу є: 1) простота виготовлення послідовної серії цифрових зображень анатомічного препарату; 2) вирішення проблеми дотримання послідовності та точного

зіставлення зображень; 3) можливість точно вимірювати кути між анатомічними структурами та їх розміри у потрібних площинах.

Фотодокументування анатомічного та гістологічного досліджень здійснювали за нашою методикою (Посвідчення на раціоналізаторську пропозицію № 27/96 БДМА) та запропонованого нами устаткування [6, 10, 11, 13, 16]. Розроблені нами способи фотографування анатомічних об'єктів зі складним рельєфом [10], фокусувальний екран для мікрофотографії [13] та безтіньовий освітлювач для фотографування анатомічних макропрепаратів [11, 16] значно покращують результати фотодокументування та виготовлення демонстраційних матеріалів для наукового та навчального процесів.

Висновки. Дотримання відповідного алгоритму, удосконалення та оптимізація етапів морфологічного дослідження сприяють уникненню спотворень одержаних результатів, забезпечують їх високу вірогідність, а також раціональне використання матеріалу.

Перспективи наукового пошуку. Вважаємо доцільним розробити протоколи морфологічного дослідження вікової динаміки топографо-анатомічних перетворень органів і систем людини та мікрохірургічної анатомії сфінктерних сегментів травної системи людини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ахтемійчук Ю.Т. Історія вивчення анатомії сфінктерного апарату позапечічкових жовчних проток людини / Ю.Т.Ахтемійчук, О.В.Цигикало // Таврический медико-биологический вестник. – 2008. – Т. 11, ч. II. – С. 166-168.
2. Ахтемійчук Ю.Т. Методика вивчення топографічної анатомії органокомплексів плодів та новонароджених людини рентгенполіконтрастною ін'єкцією судин та порожнистих органів / Ю.Т.Ахтемійчук, О.В.Цигикало, С.О.Лісничок // Матер. наук.-практ. конф. «Сучасні проблеми клінічної та теоретичної медицини». – Суми, 2005. – С. 42-43.
3. Ахтемійчук Ю.Т. Методика фіксації препаратів плодів людини для комплексного морфологічного дослідження / Ю.Т.Ахтемійчук, О.В.Цигикало, П.М.Скорейко // Матер. наук.-практ. конф. «Сучасні проблеми клінічної та теоретичної медицини». – Суми, 2005. – С. 42.
4. Ахтемійчук Ю.Т. Пристрій для вимірювання кутів та розмірів анатомічних структур / Ю.Т.Ахтемійчук, О.В.Цигикало, І.В.Тетірко // Тези науково-практичної конференції «Сучасні методи в дослідженні структурної організації органів та тканин» / Проблеми, досягнення і перспективи розвитку медико-біологічних наук і практичного здоров'я. Труды Крымского гос. мед. ун-та им. С.И.Георгиевского. – 2006. – Т. 142, ч. 1. – С. 128-129.
5. Ахтемійчук Ю.Т. Спосіб тривимірного реконструювання мікроскопічних анатомічних структур / Ю.Т.Ахтемійчук, О.В.Цигикало, Д.М.Лівак // Тези науково-практичної конференції «Сучасні методи в дослідженні структурної організації органів та тканин» / Проблеми, досягнення і перспективи розвитку медико-біологічних наук і практичного здоров'я. Труды Крымского гос. мед. ун-та им. С.И.Георгиевского. – 2006, Т. 142, ч. 1. – С. 128.
6. Ахтемійчук Ю.Т. Фотодокументування морфологічних досліджень / Ю.Т.Ахтемійчук, О.В.Цигикало // Вісник морфології. – 2000. – Т.6, № 2. – С. 327- 329.
7. Деклар. пат. 12130 Україна, МПК (2006) B23B 23/00, A61B 17/94. Інструмент для препарування / Ахтемійчук Ю.Т., Заволович А.Й.; заявник і патентоволодар Буковинський державний медичний університет. – № u2005 07775; заявл. 05.08.05; опубл. 16.01.06. Бюл. № 1.
8. Деклар. патент № 12632 Україна. МПК (2006) A 61B 17/00, G01N 33/00, F04B 39/02, F25B 31/00. Спосіб поліхромної та рентгенполіконтрастної корозії / Ахтемійчук Ю.Т., Цигикало О.В.; заявник і патентоволодар Буковинський державний медичний університет. – № u2005 08248; Заявл. 22.08.2005; Опубл. 15.02.2006. Бюл. № 2.
9. Деклар. патент № 12633 Україна. МПК (2006) A61B 17/00, A21D 8/04. Лапароскоп для морфологічних досліджень плоду людини / Ахтемійчук Ю.Т., Цигикало О.В., Скорейко П.М.; заявник і патентоволодар Буковинський державний медичний університет. – № u 2005 08251; Заявл. 22.08.2005; Опубл. 15.02.2006. Бюл. № 2.
10. Деклар. патент № 12635 Україна. МПК (2006) A 61B 17/00, G01N 33/00, A62C 13/00. Спосіб фотодокументування анатомічних об'єктів зі складним рельєфом / Ахтемійчук Ю.Т., Цигикало О.В.; заявник і патентоволодар Буковинський державний медичний університет. – № u2005 08255; Заявл. 22.08.2005; Опубл. 15.02.2006. Бюл. № 2.
11. Деклар. патент № 13553 Україна. МПК (2006) G03B 15/14. Безтіньовий освітлювач для фотографування анатомічних макропрепаратів / Ахтемійчук Ю.Т., Цигикало О.В., Лісничок С.О.; заявник і патентоволодар Буковинський державний медичний університет. – № u2005 07777; Заявл. 05.08.2005; Опубл. 17.04.2006. Бюл. № 4.

12. Деклар. патент № 13554 Україна, МПК (2006) А61В 1/00. Пристрій для вимірювання кутів та розмірів анатомічних структур / Ахтемійчук Ю.Т., Цигикало О.В., Тетірко І.В.; заявник і патентоволодар Буковинський державний медичний університет. – № u2005 07790; Заявл. 05.08.2005; Опубл. 17.04.2006. Біол. № 4.
13. Деклар. патент № 14417 Україна, МПК (2006) А61В 5/00. Фокусувальний екран для мікрофотографії / Ахтемійчук Ю.Т., Цигикало О.В., Яковець К.І.; заявник і патентоволодар Буковинський державний медичний університет. – № u2005 10932; Заявл. 18.11.2005. Опубл. 15.05.2006. Біол. № 5.
14. Колесников Л.Л. Сфинктерные аппараты человека. Новый взгляд на проблему / Л.Л.Колесников // VIII конгресс Междунар. ассоциации морфологов (15 сент. 2006 г.): материалы докл. // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 4. – С. 65.
15. Патент на винахід № 76519 Україна, МПК (2006) G01С 1/00, А61В 1/00. Пристрій для вимірювання кутів анатомічних об'єктів (кутомір) / Олійник І.Ю.; заявник і патентовласник Буковинський державний медичний університет. – № 20040503411; заявл. 06.05.2004; опубл. 15.08.2006. Біол. № 8. – 3 с.
16. Цигикало О.В. Безтіньовий освітлювач для фотографування анатомічних макропрепаратів / О.В.Цигикало, Ю.Т.Ахтемійчук, С.О.Лісничок // Тези науково-практичної конференції «Сучасні методи в дослідженні структурної організації органів та тканин» / Проблеми, досягнення и перспективи развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. Труды Крымского гос. мед. ун-та им. С.И.Георгиевского. – 2006, Т. 142, ч. 1. – С. 134.
17. Цигикало О.В. Лапароскоп для морфологічних досліджень плодів людини / О.В.Цигикало, Ю.Т.Ахтемійчук, П.М.Скорейко // Тези науково-практичної конференції «Сучасні методи в дослідженні структурної організації органів та тканин» / Проблеми, досягнення и перспективи развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. Труды Крымского гос. мед. ун-та им. С.И.Георгиевского. – 2006, Т. 142, ч. 1. – С. 133-134.
18. Abdominal virtual ultrasonographic images reconstructed by multi-detector row helical computed tomography / [Hirooka M., Iuchi H., Kurose K. et al.] // European J. of Radiology. – 2005. – № 53. – P. 312-317.
19. Adkins R.B. Jr. Embryology, anatomy, and surgical applications of the extrahepatic biliary system / R.B.Adkins Jr., W.C.Chapman, V.S.Reddy // Surg. Clin. of North Am. – 2000. – Vol. 80, № 1. – P. 363-379.
20. Avisse C. Ampulla of Vater. Anatomic, embryologic, and surgical aspects / C. Avisse, J.B.Filament, J.F.Delattre // Surg. Clin. North. Am. – 2000. – Vol. 80, № 1. – P. 201-212.
21. Desmet V.J. Pathogenesis of ductal plate abnormalities / V.J.Desmet // Mayo Clin. Proc. – 1998. – Vol. 73. – P. 80-89.
22. Gilmore I. Investigating and imaging the liver and biliary tract / I.Gilmore, C.J.Garvey // Medicine. – 2006. – Vol. 35, №1. – P. 5-12.
23. Karaliotas C.Ch. Liver and biliary tract surgery: embryological anatomy to 3D-imaging and transplant innovations / C.Ch.Karaliotas, C.E.Broelsch, N.A.Habib. – Wien: Springer-Verlag, 2006. – 640 p.
24. Larobina M. Extrahepatic biliary anatomy at laparoscopic cholecystectomy: is aberrant anatomy important? / M.Larobina, P.D.Nottleanz // 2005. – J. Surg. – Vol. 75. – P. 392-395.
25. Main pancreatic duct, common bile duct and sphincter of Oddi structure visualized by optical coherence tomography: An ex vivo study compared with histology / P.A.Testoni, A.Mariani, B.Mangiavillano [et al.] // Digestive and Liver Disease. – 2006. – Vol. 38. – P. 409-414.
26. Roskams T. Embryology of extra- and intrahepatic bile ducts, the ductal plate / T.Roskams, V.Desmet // Anat. Rec. – 2008. – Vol. 291. – P. 628-635.
27. Vijayan V. Computer-generated three-dimensional morphology of the hepatic hilar bile ducts in biliary atresia / V.Vijayan, C. El Tan // J Pediatr Surg. – 2000. – Vol. 35. – P. 1230-1235.

SUMMARY

INNOVATION TECHNOLOGIES OF MORPHOLOGICAL INVESTIGATIONS OF THE EXTRAHEPATIC BILE DUCTS SPHINCTERIC APPARATUS

Tsyhykalo O.V., Achtemiichuk Yu.T., Oliinyk I.Yu., Koval' Yu.I.

The conformity of the algorithm, constantly improvement and optimization of the stages of morphological investigation of the extrahepatic bile ducts sphincteric apparatus are guarantee nondistortion and high reliability of the outcomes as well, as efficient utilization of research material.

Key words: extrahepatic bile ducts, anatomy, methods of investigations