

Окончание таблицы 2

Показатели	Контроль	Динил	Динил + таурин
Треонин	94 ± 19	217 ± 58	728 ± 30*†
Фосфоэтанолламин	383 ± 80	480 ± 122	1190 ± 76*†
Аргинин	80 ± 3,5	83 ± 5,8	117 ± 6,5*†
Гомованилиновая кислота	2,9 ± 0,26	2,3 ± 0,24	1,9 ± 0,15*†
Серотонин	1,75 ± 0,17	2,62 ± 0,35*	2,49 ± 0,51†
Гипоталамус			
Цистеиновая кислота	19,6 ± 0,94	31,5 ± 3,27	33,8 ± 2,88*†
Аспарагиновая кислота	1533 ± 49	1517 ± 41	1386 ± 39*†
Глутаминовая кислота	8571 ± 259	9419 ± 349	8158 ± 348†
Аспарагин	143 ± 3	120 ± 8*	84 ± 4*†
Глутамин	1768 ± 137	1629 ± 157	1204 ± 73*†
Гистидин	51 ± 3	58 ± 2,8	63 ± 2,2*†
Глицин	728 ± 39	679 ± 26	632 ± 14*†
Треонин	746 ± 45	719 ± 45	604 ± 27*†
Фосфоэтанолламин	1321 ± 54	1467 ± 46	1614 ± 76*†
β-аланин	56 ± 3	61 ± 5	41 ± 2*†

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с группой «контроль», † — $p < 0,05$ при сравнении с группой «динил».

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Березин, В. И. Некоторые вопросы гигиены труда при работе с динилом и малеиновым ангидридом / В. И. Березин // Гигиена труда и профессиональные заболевания. — 1968. — № 11. — С. 38–39.
2. Информативность таурина и фосфоэтанолламина в модельных ситуациях гипо- и гиперкортицизма / Л. И. Нефедов [и др.] // Вести Академии наук Беларуси — сербиол. наук. — 1993. — № 4. — С. 37–41.
3. Капустина, А. Н. Два случая острой интоксикации динилом / А. Н. Капустина // Гигиена труда и профессиональные заболевания. — 1983. — № 3. — С. 50–51.
4. Шейбак, Л. Н. Биологическая роль таурина в организме млекопитающих / Л. Н. Шейбак, В. М. Шейбак // Медицинские новости — 2005. — № 10. — С. 15–18.
5. Hammer, M. β-alanine but not taurine can function as an organic osmolyte in preimplantation mouse embryos cultured from fer-

tilized eggs / M. Hammer, J. Baltz // Mol. Reprod. Devel. — 2003. — Vol. 66. — P. 153–161.

6. Holecek, M. Glutamine and branched-chain amino acids—practical importance of their metabolic relations / M. Holecek // Cas Lek Cesk. — 2005. — Vol. 144, № 1–3. — P. 9–12.

7. Kerai, M.D.J. The effect of taurine depletion by β-alanine treatment on the susceptibility to ethanol-induced hepatic dysfunction in rats / M.D.J. Kerai, C.J. Waterfield, S.H. Kenyon // Alcohol. Alcoholism. — 2001. — Vol. 36, № 1. — P. 29–38.

8. Modi, P. Myocardial taurine, development and vulnerability to ischemia / P. Modi, M.-S. Suleiman // Amino Acids. — 2004. — Vol. 26. — P. 65–70.

9. Regulation of taurine transport at the blood-brain barrier by tumor necrosis factor-α, taurine and hypertonicity / Y. Kang [et al] // J. Neurochem. — 2002. — V. 83. — P. 1188–1195.

Поступила 16.05.2007

УДК 616.37-031.3-092.9

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПОТЕРМИИ (экспериментальное исследование)

С. В. Дорошкевич Е. Ю. Дорошкевич

Гомельский государственный медицинский университет

Изучено в эксперименте криовоздействие на поджелудочную железу белой крысы. Выявлены особенности альтеративных, дисциркуляторных и регенерационных процессов.

Ключевые слова: поджелудочная железа, гипотермия, патоморфология.

STRUCTURAL CHANGES IN A PANCREAS AT LOCAL HYPOTHERMIA (experimental research)

S. V. Doroshkevich, E. Yu. Doroshkevich

Gomel State Medical University

We investigated cryoinfluence on a pancreas of a white rat in the experiment. Features of alterative, discirculatory and reclaiming processes are revealed.

Key words: pancreas, hypothermia, pathomorphology.

Введение

Проблема острого панкреатита остается актуальной в современной неотложной хирургии [1–3]. Предлагаемые методы лечения отечных форм панкреатита дают положительные результаты, но летальность при деструктивных формах заболевания продолжает оставаться высокой, несмотря на многообразие методов активной терапии [4–7].

Эффективность лечения зависит от ясного понимания причин возникновения и последствий патологического процесса [8–10]. Поэтому при решении проблемы острого панкреатита в основу должно быть положено глубокое изучение патогенеза заболевания.

Цель исследования: изучить динамику морфологических изменений поджелудочной железы после локального криовоздействия.

Материал и методы

Исследование выполнено на нелинейных белых крысах весом 160–180 г в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологическими исследований с использованием лабораторных животных от 1989 г.». Все животные были разделены на три группы: крысы, подвергнутые экспериментальной локальной гипотермии поджелудочной железы, ложнооперированные и интактные животные.

В стерильных условиях под эфирным наркозом производили срединную лапаротомию. В разрез выводили селезеночный сегмент поджелудочной железы вместе с сальником и селезенкой.

Для локальной гипотермии поджелудочной железы использовали криохирургический комплекс КСН 3А/В, применяемый для местного замораживания тканей. Криохирургический инструмент охлаждался путем испарения жидкого азота. Гипотермию железы осуществляли интраоперационно, путем непосредственного соприкосновения криохирургического наконечника собственной конструкции, с определенными параметрами его рабочей части, позволяющей осуществить точечные воздействия.

Использовался температурный режим: -20°C . Воздействие низких температур осуществлялось в течение 1 минуты. Выбор времени воздействия обусловлен, с одной стороны, теплопроводностью криохирургического наконечника, а с другой — анатомическими параметрами поджелудочной железы крысы.

Рабочий режим инструмента, а также мгновенную и предельную температуру измеряли с помощью контрольных вкалываемых термометров.

При проведении локальной гипотермии поджелудочной железы сальник и селезенка оставались вне зоны действия повреждающего агента.

Охлажденный участок железы оттаивал в течение 30 секунд, после чего селезеночный сегмент поджелудочной железы вместе с сальником и селезенкой погружали в брюшную полость. Операционную рану ушивали послойно наглухо. Сразу после операции животные получали пищу и питье в неограниченных количествах.

Забой животных проводился спустя 5, 30 и 60 минут, через 3, 6, 12 и 24 часа, на 3, 7, 14, 21, 30, 45, 60, 75 и 90 сутки после локальной гипотермии поджелудочной железы. Указанные сроки предусмотрены для того, чтобы более детально проследить динамику структурных изменений в поджелудочной железе с самого начала, после первичного экзогенного повреждения органа и запуска аутокаталитических процессов до их логического завершения.

Для гистологических исследований брали поджелудочную железу, фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине. После промывки в проточной воде проводили через спирты возрастающей концентрации, заливали в парафин с воском. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5 мкм, которые были окрашены гематоксилин-эозином, пикрофуксином по Ван Гизону и по Вейгерту.

Результаты и обсуждение

Поджелудочная железа в очаге гипотермии через 5 минут после криовоздействия в температурном режиме -20°C гиперемирована и отечна.

Цитоплазма ацинарных клеток поджелудочной железы выглядит диффузно эозинофильной, деление ее базальных и апикальных отделов нарушено. В части ацинусов определяются бледно окрашенные клетки с диффузно-базофильной цитоплазмой. Обнаруживаются группы вакуолизированных ацинарных клеток.

Междольковая соединительная ткань отечна, межацинарные капилляры расширены и полнокровны. В строме обнаруживаются эритроцитарные экстравазаты. Наблюдаются кровоизлияния в просвет отдельных ацинусов.

На 30 минуте эксперимента в зоне гипотермии отмечалась дисконфлексация ацинусов. Возросло число ацинарных клеток с оксифильной, лишенной гранул зимогена цитоплазмой. Ядра этих клеток преимущественно крупные, гиперхромные, кроме того, увеличивалось количество клеток с диффузно базофильной, бледно окрашенной цитоплазмой.

Отмечается рост числа вакуолизированных ацинарных клеток. Строма отечна, выявляются кровоизлияния.

При микроскопическом исследовании поджелудочной железы спустя 60 минут после повреждения в зоне гипотермии определяется выраженный субкансулярный и междольковый отек.

Ацинарное строение долек преимущественно сохранено, местами определяется дисконкомплексация ацинусов. Наблюдается резко выраженный полиморфизм ацинарных клеток. В некоторых дольках, а также в части ацинусов в пределах одной дольки сохраняется деление цитоплазмы ацинарных клеток на базальный и апикальный отделы. В других участках описываемой зоны замечается полная деструкция ацинарных клеток, при этом среди клеточного детрита выявляются хорошо сохранившиеся ядра. Кроме того, обнаруживаются ацинарные клетки с резко вакуолизированной пенистой цитоплазмой. Подобные ацинусы локализованы преимущественно в периферических отделах долек. В отдельных участках зоны повреждения цитоплазма ацинарных клеток распалась на крупные гомогенные глыбки. Ядра ацинарных клеток в зоне повреждения хорошо сохранены и имеют крупные ядрышки, а глыбки хроматина четко контурируются. Изредка выявляются гиперхромные ядра и ядра с краевой конденсацией хроматина. По всей зоне повреждения ацинарные клетки лишены гранул зимогена. Гранулы зимогена обнаруживаются в отдельных ацинарных клетках и сохраняют свою апикальную ориентацию. Местами в просвете ацинусов и строме замечены редкие мелкоочаговые кровоизлияния. В отечной строме сохраняются жизнеспособные фибробласты и немногочисленные дегранулирующие тучные клетки. На фоне стромы выявились очаги мукоидного набухания. Сосуды упомянутой зоны полнокровны, местами в межацинарных капиллярах замечен стаз эритроцитов.

Спустя 3 часа после криовоздействия степень выраженности субкапсулярного и междолькового отека оставалась без изменений. Дистрофические изменения ацинарных клеток возросли. Отмечается полная деструкция отдельных групп ацинусов. Наблюдаются участки крупно-глыбчатого распада цитоплазмы ацинарных клеток. Деструкция ацинарных клеток проявляется в виде зернистого распада, а также лизиса цитоплазмы. Основная масса ацинусов приобрела мешковидную форму, заполненную эозинофильной цитоплазматической массой. Обнаруживаются крупные многоядерные ацинарные клетки, образованные слиянием расположенных рядом друг с другом 2–3 клеток. Ацинарные клетки лишены гранул зимогена. Отмечается нарастание дистрофических изменений ядер ацинарных клеток. Большинство ядер находится в состоянии пикноза, встречаются просветленные ядра с краевой конденсацией хроматина. Значительно реже обнаруживаются неизменные ядра.

Наблюдается дисконкомплексация ацинусов, при этом они приобретают округлую форму,

их цитоплазма интенсивно базофильная, лишена гранул зимогена. Кровоизлияния имеют очаговый характер и локализуются преимущественно в центрoацинарных отделах. Эритроциты оттесняют ацинарные клетки к базальной мембране. На отдельных участках отмечается имбибиция кровью межацинарных пространств. Ацинусы приобретают форму тяжей или островков, образованных атрофическими ацинарными клетками.

В междольковой строме обнаружены мелкоочаговые кровоизлияния, а также очаги мукоидного набухания. Сосуды полнокровны, заметны эритроцитарные сладжи в капиллярах, а также тромбоз отдельных вен среднего калибра.

Через 6 часов после охлаждения зона гипотермии приобретала мономорфный характер. Определяются отдельные очаги коагуляционного некроза и глыбчатого распада ацинарных клеток. Обнаруживаются группы ацинусов, клеточные элементы которые находятся в состоянии аутолиза или мелкозернистого распада. Описанные варианты некроза ацинарной ткани наблюдаются одновременно с некробиотическими изменениями паренхимы железы. Основная масса ацинарных клеток характеризуется компактной диффузно-эозинофильной цитоплазмой, отсутствием гранул зимогена и пикнотичными, гиперхромными ядрами. Контуры ацинусов стерты, в результате чего дольки имеют вид гомогенной эозинофильной массы, наблюдаются очаговые кровоизлияния в паренхиме поджелудочной железы. Отмечается отечность стромы. Строма железы инфильтрирована палочкоядерными лейкоцитами, местами они проникают и в некробиотически измененную паренхиму. Наблюдается тромбоз отдельных вен среднего калибра, очаговое полнокровие и стаз в капиллярах.

Спустя 24 часа после криовоздействия обнаруживаются отдельные очаги коагуляционного некроза ацинарной ткани. По периферии очагов некроза отмечаются единичные ацинусы в состоянии некробиоза. Обнаруживается очаговый отек стромы и некоторое полнокровие сосудов. Очаги некроза окружены воспалительной инфильтрацией.

На третьи сутки эксперимента при микроскопическом исследовании определяются поля коагуляционного некроза, которые окружены зоной перифокального воспаления. Палочкоядерные лейкоциты инфильтрируют очаги некротизированных тканей, вызывая их лизис. По периферии участков некроза выявляются пролиферирующие фибробласты.

На 7 сутки после воздействия холодом – 20°C определяется интенсивная воспалительная инфильтрация очагов омертвевших тканей.

Палочкоядерные лейкоциты внедрялись в очаги некроза, разделяя их на отдельные фрагменты. Увеличилась популяция фибробластов.

По периферии зоны гипотермии наблюдается вторичная дифференцировка эпителиальных трубок в выводные протоки. Определяется образование панкреатических островков.

Через 14 суток от начала эксперимента в зоне повреждения очаги некроза были полностью инфильтрованы палочкоядерными лейкоцитами, макрофагами. Определяются фибробласты, а также лимфоциты, тучные и плазматические клетки. Некротизированные ткани сохранились в виде мелких островков, разделенных прослойками из клеток инфильтрата и грануляционной ткани.

На 21 сутки наблюдались интенсивные процессы расплавления и элиминации некротических масс. Участок поджелудочной железы, соответствующий зоне повреждения, был представлен железистой паренхимой с прослойками соединительной ткани. В соединительной ткани отмечается преобладание клеточных элементов над волокнистыми структурами. Паренхима представлена полиморфными по размерам дольками. Определяются ацинарные клетки, находящиеся на разных стадиях секреторного цикла. Кроме дефинитивных ацинусов встречаются реконструированные ацинусы, а также пролиферирующие мелкие выводные протоки и разного размера панкреатические островки.

Спустя 30 суток в зоне воздействия холодом паренхима железы атрофична, представлена дольками неодинаковых размеров и форм. Дольки разделены широкими прослойками соединительной ткани. Ацинусы отличаются полиморфизмом: имеют округлую, овальную, а иногда и удлинённую форму, многие из них уменьшены в размерах. В значительном числе ацинусов сохраняется дисконкомплексация. Ацинарные клетки уплощены, ядра сдвинуты к базальной мембране. Дифференцировка цитоплазмы на базальную и ацинарную части не выражена. Островковая ткань сохранена, соединительнотканная капсула островков утолщена. Междольковые выводные протоки местами расширены, стенки сосудов также утолщены и склерозированы.

На 45 суток эксперимента при гистологическом исследовании обнаружены дольки железы небольших размеров, разделенные широкими прослойками соединительной ткани. Определяется дисконкомплексация ацинусов. Сре-

ди обширных полей соединительной ткани обнаруживаются единичные атрофичные и структурно измененные ацинусы в виде эпителиальных трубок. Островковая часть железы имеет обычное строение.

На протяжении с 60 по 90 сутки эксперимента гистологическая картина не претерпела существенных изменений. В зоне повреждения дольки железы небольших размеров, разделены прослойками грубоволокнистой соединительной ткани. В соединительной ткани отмечено преобладание волокнистых элементов над клеточными. Определяются как дефинитивные, так и реконструированные ацинусы.

Заключение

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что криовоздействие в температурном режиме -20°C и времени экспозиции — 1 минута характеризуется сочетанием различных патоморфологических изменений в поджелудочной железе.

Гипотермия вызывает очаговые некрозы в поджелудочной железе, а также нарушения в микроциркуляторном русле в виде расширения капилляров и кровоизлияний.

Очаг криовоздействия имеет незначительную перифокальную реакцию.

Зона гипотермии постепенно замещается пролиферирующей соединительной тканью, что в конечном итоге приводит к рубцовой атрофии паренхимы.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Богер, М. М.* Панкреатиты / М. М. Богер. — Новосибирск: Наука, 1984. — 216 с.
2. *Савельев, В. С.* Острый панкреатит / В. С. Савельев, В. М. Буянов, Ю. В. Огнев. — М.: Медицина, 1983. — 240 с.
3. Surgical results for severe acute pancreatitis — comparison of the different surgical procedures/ T. L. Hwang [et al.] // *Hepatogastroenterology*. — 1995. — Vol. 42. — P. 1026–1029.
4. *Вальтер, Э. О.* Лечение больных острым панкреатитом/ Э. О. Вальтер // *Хирургия*. — 1979. — № 5. — С. 78–82.
5. Основные принципы лечения больных острым панкреатитом / Ю. А. Нестеренко [и др.] // *Хирургия*. — 1994. — № 1. — С. 3–6.
6. *Bradley, E.L.* A clinical based classification system of acute pancreatitis/ E.L. Bradley // *Arch. Surg.* — 1993. — Vol. 128. — P. 586–590.
7. *Дмитриев, А. В.* Этиология, патогенез и лечение панкреатита / А. В. Дмитриев, В. А. Юдин, Н. А. Арапов // *Клиническая медицина*. — 1989. — Т. 67, № 7. — С. 66–69.
8. *Владимиров, В. Г.* Острый панкреатит: Экспериментальное клиническое исследование / В. Г. Владимиров, В. И. Сергиенко. — М.: Медицина, 1986. — 238 с.
9. Опыт 426 операций на поджелудочной железе и ее протоковой системе/ М. В. Данилов [и др.] // *Актуальные вопросы хирургии поджелудочной железы*. — Киев, 1988. — С. 76–78.
10. *Кузин, М. И.* Экспериментальная оценка интраоперационной окклюзии протоков поджелудочной железы аллопластическим материалом / М. И. Кузин, Д. Ф. Благовидов, Ф. И. Тогуа // *XXX Всесоюзный съезд хирургов*. — Минск, 1985. — С. 328–329.