

рукция «Формирование групп риска по развитию туберкулеза у ВИЧ-инфицированных больных», разработанная ассистентом кафедры фтизиопульмонологии Гомельского государственного медицинского университета Бондаренко В. Н. и заведующим этой кафедрой, к.м.н., доцентом Рузановым Д. Ю. На первом этапе определили, входит ли больная в группу риска по развитию туберкулеза. Приводим формулы расчета риска развития туберкулеза у ВИЧ-инфицированных.

Туберкулез разовьется = 23,8(стадия ВИЧ-инфекции) + 6,98(степень иммуносупрессии) + 3,65 (возраст больного) + 9,74 (тюремное заключение) + 3,97(место проживания) + 5,38 (наркомания в настоящее время) + (алкоголизм в настоящее время) – 63,12.

Туберкулез не разовьется = 13,23(стадия ВИЧ-инфекции) + 0,77(степень иммуносупрессии) + 2,15 (возраст больного) + 6,98 (тюремное заключение) + 1,69 (место проживания) — 0,01 (наркомания в настоящее время) + 1,37 (алкоголизм в настоящее время) – 20,0.

У больной: туберкулез разовьется = 168,24 > туберкулез не разовьется = 89,24, это говорит о высоком риске развития туберкулеза.

На втором этапе определяется наиболее вероятная форма туберкулеза.

Все формы туберкулеза разделены на 3 группы:

Группа 1 — локальные формы туберкулеза легких (очаговый, ограниченный инфильтративный, туберкулема, кавернозный, ограниченный фибринозно-кавернозный).

Группа 2 — остро прогрессирующие формы туберкулеза легких (казеозная пневмония, диссеминированный, легочной вариант милиарного туберкулеза).

Группа 3 — формы туберкулеза с мультиорганным поражением (милиарный туберкулез с поражением нескольких органов, внелегочной туберкулез).

Группа 1 = 50,27 [кол-во лейкоцитов] + 7,72 [ВИЧ-кахекия] – 51,37 [кол-во эритроцитов] + 9,78[гемоглобин] – 2,46 [кол-во CD4] + 0,02 [кол-во лимфоцитов] – 374,48.

Группа 2 = 45,37[кол-во лейкоцитов] +7,83 [ВИЧ-кахекия] – 25,50 [кол-во эритроцитов] +

9,29 [гемоглобин] – 2,55 [кол-во CD4] + 0,01 [кол-во лимфоцитов] – 367,28.

Группа 3 = 49,62 [кол-во лейкоцитов] + 4,71 [ВИЧ-кахекия] – 35,0 [кол-во эритроцитов] + 9,89 [гемоглобин] – 2,71 [кол-во CD4] + 0,00 [кол-во лимфоцитов] – 364,67.

При расчете предполагаемой формы туберкулеза получены следующие данные: группа 1 = 434,47 < группа 2 = 452,58 < группа 3 = 486, 54, т. е., у больной риск возникновения туберкулеза с мультиорганным поражением.

21.10.08 г. консультирована фтизиатрами. Заключение консилиума фтизиаров: на момент осмотра данных за туберкулез не выявлено. Через 2 дня проведено КТ грудной клетки. Заключение: милиарный туберкулез легких. Больная переведена в Гомельскую областную клиническую больницу для специфического лечения.

Таким образом, туберкулез у больной диагностирован по расчетам линейных дискриминационных функций раньше, чем появились другие доказательства этой инфекции. Этот метод не имеет побочных действий, не требует сложных дорогостоящих способов обследования, позволяет значительно повысить эффективность диагностики у ВИЧ-инфицированных лиц при подозрении на туберкулез.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бондаренко, В. Н. Формирование групп риска по развитию туберкулеза легких у ВИЧ-инфицированных больных / В. Н. Бондаренко, Д. Ю. Рузанов // Инструкция по применению. — Гомель, 2008.
2. ВИЧ-инфекция клиника, диагностика, лечение / В. В. Покровский [и др.]; под общ. ред. В. В. Покровского. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. — 488 с.
3. ВИЧ-инфекция / А. Г. Рахманова [и др.]; под общ. ред. А. Г. Рахмановой. — СПб.: Питер, 2004. — 696 с.
4. Щелканова, А. И. Особенности течения туберкулеза, сочетанного с ВИЧ-инфекцией / А. И. Щелканова, А. В. Кравченко // Терапевтический архив. — 2004. — № 4. — С. 20–24.
5. Течение туберкулеза у больных с ВИЧ-инфекцией / А. И. Щелканова [и др.] // Терапевтический архив. — 2002. — № 11. — С. 46–49.
6. Туберкулез у ВИЧ-инфицированных и больных СПИДом / А. Г. Рахманова [и др.] // Клиническая медицина. — 2003. — № 12. — С. 71–73.
7. Пневмоцистная пневмония, туберкулез легких и их сочетание у больных ВИЧ-инфекцией / Т. Н. Ермак [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2008. — № 3. — С. 34–38.

Поступила 05.02.2009

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА И БИОЛОГИЯ

УДК 616.37-002-092.9.001.57(047)

ТРАВМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТА

С. В. Дорошкевич, Е. Ю. Дорошкевич

Гомельский государственный медицинский университет

Обобщены хирургические методы моделирования острого и хронического панкреатита, дана его критическая оценка. Предложен оригинальный травматический способ воспроизведения экспериментального

панкреатита, в основу которого положено локальное холодное воздействие на поджелудочную железу белой крысы с помощью криохирургического комплекса КСН 3А/В. Работу проводили с соблюдением правил, предусмотренных Европейской комиссией по надзору за проведением лабораторных и других опытов с участием экспериментальных животных разных видов.

Охлаждение выполнялось интраоперационно, путем непосредственного соприкосновения криохирургического наконечника с тканью железы.

Установлены особенности морфологических изменений в зависимости от температуры охлаждения. Предложенная травматическая модель острого и хронического панкреатита дает возможность изучить механизмы возникновения данной патологии и апробировать способы лечения.

**Ключевые слова:** экспериментальная модель, острый и хронический панкреатит, белая крыса.

## TRAUMATIC MODEL OF ACUTE AND CHRONIC PANCREATITIS

S. V. Doroshkevich, E. Yu. Doroshkevich

Gomel State Medical University

Surgical methods of modeling of cysts of the acute and chronic pancreases are generalized, the critical estimation is given. The original traumatic way of reproduction of the experimental pancreas, where the basis is the local cold influence on the pancreas of white rat with the help of cryosurgical complex КСН 3А/В is offered. The work was done with the observance of the rules stipulated by the European Commission on supervision of carrying out laboratory and other experiments with participation of experimental animals of different kinds.

Cooling was carried out intraoperatively, by the direct contact of the cryosurgical tip with the tissue of the pancreas.

The features of morphological changes, depending on the cooling temperature are established. The offered traumatic model of acute and chronic pancreas gives an opportunity to study mechanisms of the origin of the pathology and to approve the ways of the treatment.

**Key words:** experimental model, acute and chronic pancreas, white rat.

### **Введение**

Проблема острого панкреатита чрезвычайно актуальна, что определяется многообразием его форм, тяжестью течения, трудностью диагностики, отсутствием единства взглядов на способы лечения и еще достаточно высокой смертностью при этом заболевании. Исходя из этого изучение вопросов этиологии, патогенеза и лечения острого и хронического панкреатитов представляет одну из важных задач медицины.

Для решения этих важных проблем большое значение имеют экспериментальные исследования, которые позволяют раскрыть сущность патогенеза и обосновать этапы развития заболевания. Это привело к появлению большого количества экспериментальных моделей.

В настоящее время все известные модели острого панкреатита разделяют на четыре группы [1]: 1) каналикулярно-гипертензионные; 2) сосудисто-аллергические; 3) травматические; 4) токсико-инфекционные.

Каналикулярно-гипертензионные модели острого панкреатита предусматривают легирование главного выводного протока. При этом в начальной стадии возникает отек поджелудочной железы, отождествляемый с интерстициальным панкреатитом. Наблюдается лейкоцитарная инфильтрация и дезорганизация ацинусов, изменяется субмикроскопическое строение ацинарных клеток, значительно увеличивается концентрация панкреатических ферментов в сы-

воротке. Эти явления особенно выражены при одновременной стимуляции секреции. При дальнейшем течении процесса происходит атрофия ацинарного эпителия, образование эпителиальных трубок, значительное развитие соединительной ткани. Однако подобные изменения не аналогичны хроническому панкреатиту человека.

Перевязку панкреатического протока обычным способом нельзя производить у крыс, так как у них протоки отдельных участков поджелудочной железы самостоятельно впадают в общий желчный проток. Вместе с тем, часто задача эксперимента требует использования мелких лабораторных животных: изучение эффективности терапии, серийные морфологические исследования и др.

Сосудистые модели острого панкреатита относительно сложны для воспроизведения. Это связано с тем, что перевязка экстраорганных сосудов поджелудочной железы очень редко сопровождается развитием острого панкреатита. Необходима окклюзия мелких интраорганных артерий. Межартериальные анастомозы в паренхиме железы функционально неполноценны и при их окклюзии, особенно множественной, появляются мелкоочаговые ишемические некрозы, служащие основой деструктивного панкреатита. Окклюзия экстраорганных и магистральных артерий или вен к развитию острого панкреатита не приводят. Только одномоментная их перевязка сопровождается острой ишемией с последующим тотальным некрозом.

Ю. Г. Бойко [2] моделировал острый панкреатит путем проведения быстро наступающей, проходящей ишемии ткани поджелудочной железы кошки, вызванной спазмом сосудов. Это достигается путем инъекции 0,1 % раствора адреналина по ходу артерий железы по типу ползучего инфильтрата. Спазм мелких артерий и заметное сужение крупных ветвей вызывал очаговые некрозы. Очаги некробиоза и некроза не имели отчетливой границы и захватывали группы долек.

Аллергические модели острого панкреатита основаны на воспроизведении местного феномена Артюса или Санарелли-Шварцманна.

В настоящее время считают, что иммунизация животного тканевыми антигенами или введение панкреатоцитотоксических сывороток без дополнительных воздействий вызывает в железе лишь хронический процесс. Кроме того, эти модели не позволяют объяснить большинство клинических проявлений и требуют более длительного времени.

М. Н. Молоденков [3] моделировал острый панкреатит следующим образом. Четырехкратно проводилась сенсibilизация кроликов нормальной лошадиной сывороткой с интервалом в 5 дней. Затем накладывали лигатуру на поджелудочную железу, перетягивая на пуговчатом зонде ее протоки у места впадения в двенадцатиперстную кишку или же в средней ее трети. Через два-три дня после начала эксперимента были обнаружены изменения, характерные для острого панкреатита (отек, геморрагический выпот, кровоизлияния). По мнению автора, наложение на железу лигатуры, явилось разрешающим фактором.

Токсико-инфекционные модели предусматривают введение в протоки или (и) паренхиму поджелудочной железы желчи, бактерий, оливкового масла, скипидара, спирта, ферментов, токсинов и т. д. Эти способы пригодны для работы на мелких лабораторных животных и вызывают тяжелые поражения поджелудочной железы. К отрицательным свойствам этих методов следует отнести неблагоприятные влияния вводимых веществ на другие органы и системы и на весь организм в целом. Это относится, в частности, к этиониновой модели. Синтетическая аминокислота этионин является антиметаболитом метионина, при введении в больших дозах вызывает у животных резкие деструктивные изменения в паренхиматозных органах, в том числе, некроз ацинарных клеток поджелудочной железы, из-за торможения белкового синтеза. Этионин вызывает повреждение не только поджелудочной железы, но также и печени, желудка и слюнных желез.

Травматические модели обладают высокой специфичностью, так как изначально поражается только поджелудочная железа.

### **Цель исследования**

Изучить возможность применения метода локального криовоздействия для моделирования острого и хронического панкреатита.

### **Материал и метод**

Экспериментальные исследования проводились на нелинейных белых крысах весом 160–180 грамм. Работу проводили с соблюдением правил, предусмотренных Европейской комиссией по надзору за проведением лабораторных и других опытов с участием экспериментальных животных разных видов.

Для локальной гипотермии поджелудочной железы использовали криохирургический комплекс КСН 3А/В, применяемый для местного замораживания тканей. Охлаждение железы осуществляли интраоперационно, путем непосредственного соприкосновения криохирургического наконечника. Операции выполнялись с соблюдением правил асептики и антисептики. Под эфирным наркозом производили срединную лапаротомию, отступив на 1 см от мечевидного отростка по белой линии живота длиной 3 см. В разрез выводили селезеночный сегмент поджелудочной железы вместе с сальником и селезенкой.

Воздействие низких температур осуществлялось в течение 60 секунд. Выбор времени воздействия обусловлен, с одной стороны, теплопроводностью криохирургического наконечника, а с другой — анатомическими параметрами поджелудочной железы крысы.

Использовались температурные режимы:  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $-60^{\circ}\text{C}$ ,  $-100^{\circ}\text{C}$ ,  $-140^{\circ}\text{C}$  и  $-180^{\circ}\text{C}$  позволяющие в совокупности полно изучить воздействие низких температур в диапазоне отрицательных значений.

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

Воздействие температур свыше  $-180^{\circ}\text{C}$  не изучалось из-за технических возможностей используемого криохирургического комплекса.

Снижение температуры поджелудочной железы почти до  $+5^{\circ}\text{C}$  не оказывает заметного влияния на структуру, отмечено лишь обратимое угнетение экзокринной функции.

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 во всех сериях проводился путем декапитации. Животных забивали 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.

### Результаты и обсуждение

Локальное охлаждение ткани поджелудочной железы в температурных режимах:  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-140\text{ }^{\circ}\text{C}$  и  $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 60 секунд вызывает образование ледяного пятна соответственно диаметрам:  $3,99 \pm 0,11\text{ мм}$ ,  $5,98 \pm 0,11\text{ мм}$ ,  $8,00 \pm 0,12\text{ мм}$ ,  $9,00 \pm 0,12\text{ мм}$  и  $10,02 \pm 0,12\text{ мм}$ . Структурные изменения, вызванные криовоздействием, могут быть определены как отечно-геморрагическая форма острого панкреатита. Последовательность развития экспериментального острого панкреатита, вызванного локальным криовоздействием, включает стадии: отечно-геморрагическую; некротическую; расплавления и элиминации; стадию склерозирования и атрофии.

Отечно-геморрагическая стадия (5 мин – 3 часа) характеризуется отеком соединительной ткани железы, дистрофическими изменениями панкреатитов различной степени выраженности и кровоизлияниями.

Морфологические проявления некротической стадии (6–24 часа) заключаются в наличии различной величины участков паренхиматозного некроза при слабо выраженной лейкоцитарной реакции.

На стадии расплавления и элиминации (3–14 сутки) выявляется лейкоцитарная инфильтрация очагов некроза, наблюдается рассасывание некротизированной ткани железы макрофагами, определяется разрастание молодой соединительной ткани.

Стадия склерозирования и атрофии (21–90 сутки) характеризуется пролиферацией соединительной ткани. Вторичная дифференцировка трубчато-эпителиальных структур поджелудочной железы неполноценна и завершается преимущественно атрофией.

Морфологическая картина острого экспериментального панкреатита зависит от температурного режима криовоздействия. Патоморфологические изменения после охлаждения в температурном режиме  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  являются локальными, ограниченными областью криовоздействия и завершаются рубцовой атрофией.

Морфологические изменения после воздействия холодом от  $-60$  до  $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$  более выражены, что обусловлено увеличением площади криогенного повреждения поджелудочной железы. Локальное криовоздействие в температурном режиме  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  приводит к развитию отечно-геморрагической формы острого панкреатита с исходом в хронический панкреатит с явлениями склероза и липоматоза органа. В патологический процесс вовлекается парапанкреатическая клетчатка. Очаги некроза в ней подвергаются лейкоцитарной инфильтрации и рассасыванию. К завершению эксперимента здесь выявляются скопления зрелой соединительной ткани.

Локальная гипотермия в температурных режимах  $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$  и  $-140\text{ }^{\circ}\text{C}$  кроме развития острого деструктивного панкреатита, более выраженного при криовоздействии  $-140\text{ }^{\circ}\text{C}$ , приводит к формированию распространенных жировых некрозов в парапанкреатической клетчатке. Охлаждение в температурном режиме  $-180\text{ }^{\circ}\text{C}$  вызывает геморрагический панкреонекроз, сочетающийся с поражением парапанкреатической клетчатки, клетчатки брыжейки тонкой и толстой кишки и большого сальника. Развитие серозно-геморрагического перитонита приводит к гибели животных на 1–3 суток после начала эксперимента.

В определенной степени аналогичные травматические модели использованы для воспроизведения поражения поджелудочной железы.

Д. Ф. Благовидов и соавторы [4] производили точечную термокоагуляцию паренхимы железы металлической гребенкой. В течение 10–12 дней после эксперимента наблюдалась острая воспалительная реакция тканей поджелудочной железы с переходом в дальнейшем в хроническое воспаление.

Имеется способ моделирования острого панкреатита путем однократного воздействия местного повреждающего фактора, в качестве которого используют субкапсулярное введение в области тела поджелудочной железы 3,0 мл 70 % раствора этилового спирта.

П. С. Симоварян [5] разработал способ моделирования экспериментального панкреатита, основанный на охлаждении поджелудочной железы крыс хлорэтилом. В стерильных условиях под эфирным наркозом выполняли срединную лапаротомию. В разрез выводили селезеночный сегмент поджелудочной железы вместе с сальником и селезенкой. Между средним и указательным пальцами правой руки растягивали сальник и селезеночный сегмент поджелудочной железы. В течение 1,0–1,5 минут проводили охлаждение селезеночного отдела струей хлорэтила с обеих сторон органа. Во время охлаждения температура доходила до  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Затем в течение 30 секунд охлажденный участок полностью оттаивал между пальцами до восстановления температуры и погружали в брюшную полость. Предложенная модель имеет ряд очевидных недостатков. Она не позволяет изучить особенности локальных морфологических изменений в зависимости от температуры охлаждения, а также установить параметры криовоздействия. Предложенная методика не исключает общего и местного химического воздействия хлорэтила.

Указанные модели могут быть использованы в большей степени для изучения эффективности лечения панкреатита и в меньшей мере для исследования отдельных сторон его патогенеза.

**Заключение**

Модель острого и хронического панкреатита основана на локальном криовоздействии и является удачным воспроизведением поражения поджелудочной железы. С помощью этой модели можно изучать вопросы патогенеза и патоморфологии панкреатитов и добиться различной степени поражения поджелудочной железы. В отличие от представленных моделей, данная модель отличается стабильностью воспроизведения и высокой специфичностью, так как при этом первоначально поражается лишь поджелудочная железа, она позволяет выполнить эксперимент на мелких лабораторных животных.

**БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

1. Шалимов, С. А. Руководство по экспериментальной хирургии / С.А. Шалимов, А.П. Рудзиковский, Л.В. Кейсевич. — М.: Медицина, 1989. — С. 190–205.
2. Бойко, Ю. Г. Патологическая анатомия и патогенез острого панкреатита / Ю. Г. Бойко. — Мн.: Беларусь, 1970. — С. 84–110.
3. Молоденков, М. Н. О патогенезе и лечении острого панкреатита / М. Н. Молоденков // Хирургия. — 1964. — № 11. — С. 72.
4. Благовидов, Д. Ф. Компенсаторные процессы после резекции поджелудочной железы / Д. Ф. Благовидов, Д. С. Саркисов. — М.: Медицина, 1976. — С. 23–31.
5. Канаян, А. С. Влияние тиосульфата натрия на поджелудочную железу при экспериментальном панкреатите / А. С. Канаян, П. С. Симаворян // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1978. — № 11. — С. 548–552.

Поступила 10.12.2008

УДК (546.173+546.215):612.014+612.111

**ИНДУЦИРОВАННЫЙ ПЕРОКСИНИТРИТОМ АПОПТОЗ ЭРИТРОЦИТОВ**

М. Н. Стародубцева

Гомельский государственный медицинский университет

Хотя эритроциты не содержат ядер и митохондрий, необходимых для протекания апоптоза, однако при действии различных факторов у них проявляются черты, характерные для апоптотических процессов. В работе показано, что апоптоз-подобная форма гибели эритроцитов запускается пероксинитритом. Она сопровождается увеличением пассивного потока ионов через эритроцитарные мембраны за счет открытия катионных каналов, включая АТФ-чувствительные  $K^+$ -каналы, и образования дефектов в мембране, а также изменениями в структуре мембранного скелета.

Ключевые слова: эритроциты, апоптоз, пероксинитрит.

**PEROXYNITRITE-INDUCED RED BLOOD CELL APOPTOSIS**

M. N. Starodubtseva

Gomel State Medical University

Though red blood cells contain no apoptotic organelles like nuclei and mitochondria, under the action of various factors these cells are characterized by many features peculiar to apoptotic cells. In the paper we show that «apoptosis-like» cell death program is triggered by peroxynitrite and is accompanied by the increase in passive ionic flux through red blood cell membrane mainly due to opening the cationic channels including ATP-sensitive  $K^+$  channels and membrane defect formation, as well as by the changes in membrane skeleton structure.

Key words: red blood cells, apoptosis, peroxynitrite.

**Введение**

Окончание жизненного цикла любой клетки происходит различными путями, наиболее общими из которых считаются апоптоз и некроз [1, 2]. Некроз является формой гибели клеток, которая запускается в клетках со значительными нарушениями, вызванными различными физическими и химическими стимулами. Некроз, как правило, начинается с нарушения способности клетки поддерживать гомеостаз, что ведет к избыточному поступлению в нее молекул воды и ионов, набуханию и лизису внутренних органелл и самой клетки в целом. В большинстве случаев некроз *in vivo* затрагивает группу близлежащих клеток и сопровождается выраженной воспалительной реакцией.

Апоптоз представляет собой форму гибели клетки, посредством которой происходит удаление опасных и ненужных клеток из организма. При апоптозе происходит нарушение транспорта ионов, в основном, ионов  $Na^+$  и  $K^+$ . В результате клетки теряют воду и сжимаются, что приводит к нарушению их контактов с субстратом и с другими клетками. Наблюдаются вздутия на поверхности клеток из-за перестройки структуры цитоскелета и локальные отделения структуры цитоскелета от мембраны клетки. Кроме того, происходит конденсация хроматина и фрагментация ДНК. Образуются апоптотические тельца, содержащие рибосомы, морфологически интактные митохондрии и ядерный материал. *In vivo*, апоптотические тельца быстро распознаются и фагоцитируются макрофагами и