

Людмила Николаевна Рогова ✉, **Мария Владимировна Ермак**,
Наталья Владимировна Григорьева, **Мария Рафаэловна Экова**,
Дмитрий Алексеевич Попов, **Наталья Владимировна Шестернина**,
Виктория Николаевна Поветкина

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

✉ rogova.ln@mail.ru

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МЕТОДОВ МОДЕЛИРОВАНИЯ ОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАНКРЕАТИТА

УДК 616.37-002+616.21-002+616.61-002:546.46

Аннотация. В эксперименте на крысах линии «Вистар» в соответствии с современным представлением о этиопатогенезе острого панкреатита разработали два метода моделирования экспериментального острого панкреатита, и на основе морфологических признаков, выявленных у животных, провели их сравнительную оценку. Анализ полученных результатов показывает возможность использовать для моделирования острого панкреатита обе модели.

Ключевые слова: моделирование острого экспериментального панкреатита, аутологичная лейкоцитарная масса, морфологические показатели

ORIGINAL ARTICLE

Lyudmila Nikolaevna Rogova ✉, **Maria Vladimirovna Ermak**,
Natalya Vladimirovna Grigorieva, **Maria Rafaelovna Ekova**, **Dmitry Alekseevich Popov**,
Natalia Vladimirovna Shesternina, **Victoria Nikolaevna Povetkina**

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia,

✉ rogova.ln@mail.ru

COMPARATIVE EVALUATION OF METHODS FOR MODELING ACUTE EXPERIMENTAL PANCREATITIS

Abstract. In experiment on Wistar rats, in accordance with the modern concept of the etiopathogenesis of acute pancreatitis, two methods were developed for modeling experimental acute pancreatitis, and on the basis of morphological signs identified in animals, they were compared.

Analysis of the results obtained shows the possibility of using both models for modeling acute pancreatitis.

Keywords: modeling of acute experimental pancreatitis, autologous leukocyte mass, morphological parameters

Несмотря на достижения современной науки в области диагностики и лечения панкреатита, заболеваемость неуклонно растет и является актуальнейшей проблемой ургентной медицины. Распространенность острого панкреатита составляет 389 человек на 1 млн населения, смертность от этого заболевания колеблется от 6 до 12 человек на 1 млн населения [1, 2]. Хронизация механизмов развития панкреатита приводит к длительному ухудшению пищеварения и качества жизни. Высокие цифры статистики по заболеваемости и смертности свидетельствуют о необходимости детального изучения механизмов развития заболевания, а также поиска новых методов патоген-

нетического лечения. Поиски патогенетических методов коррекции становятся возможными при экспериментальном изучении патогенеза на разных уровнях возникновения, развития и исходов названной патологии, а при этом на фоне адекватного моделирования острого и хронического панкреатита.

С целью оптимизации временных и финансовых затрат требуется быстрый, простой, дешевый и эффективный метод моделирования острого и хронического панкреатита.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Проанализировать разработанные и запатентованные нами методы моделирования острого

и хронического экспериментального панкреатита у крыс на основе критериев морфогенеза названной патологии.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте на белых крысах линии «Вистар» под рометаром и лидокаином с соблюдением требований гуманного обращения с животными, предусмотренные Европейской комиссией по надзору за проведением лабораторных и других опытов с участием экспериментальных животных разных видов, после обработки операционного поля проводили верхнесрединную лапаротомию по белой линии живота. В рану выводили желудок, панкреас и петлю двенадцатиперстной кишки. По поверхности паренхимы железы, иглой от инсулинового шприца, на глубину среза иглы, наносили две параллельные надсечки длиной по 1 см.

После нанесения травмы органы погружали в брюшную полость, которую наглухо ушивали узловыми шелковыми швами. Рану обрабатывали 0,02%-м раствором фурациллина. Животные находились в условиях свободного доступа к воде и пище.

Экспозиция моделирования составляла 7 дней. По завершении моделирования вводили летальную дозу рометара и забирали ткани поджелудочной железы для морфологического исследования, так как одним из самых надежных способов верификации панкреатита является морфологический [3].

Клетки крови, в частности лейкоциты, продуцируют провоспалительные цитокины, стимулирующие механизмы развития воспаления [5]. В соответствии с ведущей ролью в патогенезе панкреатита воспаления и продукцией лейкоцитами провоспалительных цитокинов для усиления механизмов воспаления после травмы поджелудочной железы по ранее описанной методике выполняли аппликацию зоны повреждения аутологичной лейкоцитарной массой в объеме 0,2 мл.

После моделирования органы погрузили обратно в брюшную полость и послойно ушивали переднюю брюшную стенку узловыми шелковыми швами.

По истечении срока эксперимента, через 7 суток, крыс повторно наркотизировали, производили забор тканей для морфологического исследования [4].

Фрагменты ткани поджелудочной железы крысы фиксировали в 10%-м забуференном формалине, проводили по серии восходящих спиртов, заливали в парафин. Срезы ткани толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином

и эозином. Световая микроскопия выполнялась при увеличении $\times 100$ и $\times 400$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Панкреатит – полиэтиологическое заболевание поджелудочной железы воспалительно-деструктивной природы, ведущими звеньями которого являются процессы ферментативного аутолиза, некроза и эндогенного инфицирования с вовлечением в процесс тканей забрюшинного пространства, брюшной полости и систем экстраперитонеальной локализации [1]. Таким образом, пусковым механизмом панкреатита является деструкция тканей, ферментативный аутолиз и асептическое воспаление. В клинической практике известны несколько теорий и, соответственно, пусковых механизмов развития панкреатита: самопереваривания, общего протока и обструкции сфинктера Одди.

В теории самопереваривания под действием повреждающих факторов, таких как вирусы, гипоксия, травма происходит повреждение клеток и высвободившаяся цитокиназа активирует трипсиноген, вызывая аутолитическое повреждение тканей поджелудочной железы. В рассматриваемой модели повреждающим фактором выступает механическая травма, активирующая механизмы воспаления и аутолиза.

Технической задачей предлагаемого нами способа было создание простой, быстрой, легко воспроизводимой модели, морфологически и патогенетически адекватной изменениям, происходящим при остром деструктивном панкреатите. Для решения задачи наносили механическое повреждение ткани поджелудочной железы, которое инициализирует механизмы воспаления.

Одним из самых надежных методов верификации панкреатита является морфологический метод. Через 7 суток с момента моделирования морфологически выявляются очаговые дистрофические изменения панкреатитов.

Отдельные клетки уменьшены в размерах, некоторые клетки с очаговой вакуализацией цитоплазмы.

Неравномерно окрашенная цитоплазма экзокриноцитов: базальная часть окрашена базофильно, апикальная – оксифильно. В отдельных участках выявляются лимфоциты, макрофаги воспалительного инфильтрата тесно расположены к базальной мембране ацинарных клеток. В междольковой строме – умеренно выраженное полнокровие сосудов, очаговое разволокнение стенок сосудов, очаговый отек, периваскулярная слабо выраженная ин-

филтрация эозинофилами, макрофагами и лимфоцитами.

В парапанкреатической клетчатке определяются расширенные, полнокровные капилляры и венулы, очаговый отек очаговые кровоизлияния (рис. 1). В гистологических образцах выявляется воспалительная инфильтрация, кровоизлияние и некроз паренхиматозных клеток.

Анализ полученных данных позволяет сделать заключение, что предлагаемая модель адекватна для моделирования острого панкреатита.

В связи с тем, что лейкоциты продуцируют цитокины, регулирующие интенсивность воспаления, после механической травмы железы было определено влияние на морфологические характеристики тканей аппликации аутологичной лейкоцитарной массы.

Через 7 суток с момента моделирования с применением аутологичной лейкоцитарной массы определяется морфологическая картина более выраженного воспаления, чем в первой описанной модели. Это проявляется усилением сосудистой и клеточной воспалительной реакции, что проявляется выраженным полнокровием капилляров и венул, в отдель-

ных капиллярах эритро- и лейкостазами, выраженным отеком, умеренно выраженной и выраженной инфильтрацией эозинофилами, нейтрофилами макрофагами, лимфоцитами, очаговым лейкопедезом и гибелью экзокриноцитов (рис. 2).

Анализ показывает, что патоморфоз острого экспериментального панкреатита на фоне аппликации лейкоцитарной массой характеризуется усилением (по сравнению с предшествующей моделью острого экспериментального панкреатита) сосудистой и клеточной воспалительной реакций, с очаговым лейкопедезом и гибелью отдельных экзокринных панкреатоцитов, с наличием очаговых кровоизлияний в междольковой строме и парапанкреатической клетчатке и очаговых некрозов в парапанкреатической клетчатке с развитием макрофагальной реакции в виде скоплений макрофагов и ксантомных клеток.

Таким образом, можно сделать заключение, что моделирование острого панкреатита на фоне аппликации зоны повреждения лейкоцитарной массой приводит к развитию более выраженного воспаления в поджелудочной железе.

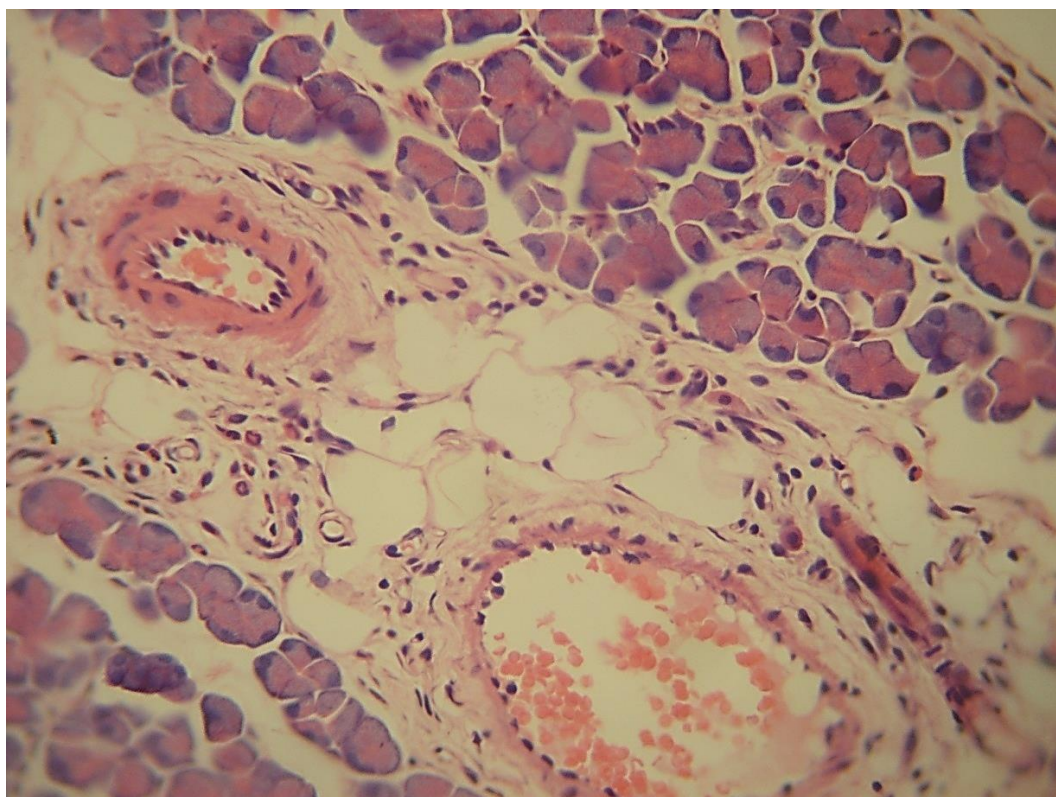


Рис. 1. Умеренно выраженное полнокровие сосудов поджелудочной железы животного с острым экспериментальным панкреатитом, с очаговым разволокнением стенок сосудов, с умеренно выраженным отеком, с умеренно выраженной воспалительной инфильтрацией эозинофилами, макрофагами, лимфоцитами. Очаговые дистрофические изменения клеток ацинусов. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×400

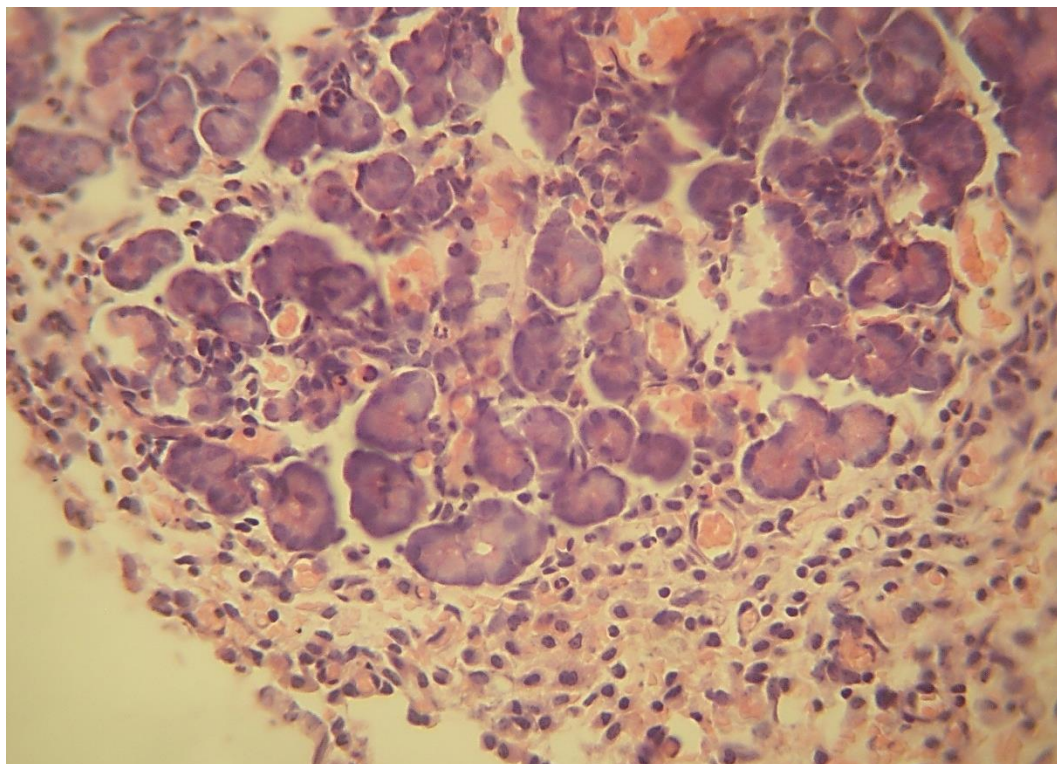


Рис. 2. Патоморфоз острого экспериментального панкреатита на фоне аппликации лейкоцитарной массой: выраженное полнокровие капилляров и венул, в отдельных капиллярах – эритро- и лейкостазы, очаговый, умеренно выраженный отек, очагово-диффузные кровоизлияния, очагово-диффузная умеренно выраженная и выраженная инфильтрация эозинофильными и нейтрофильными лейкоцитами, макрофагами, лимфоцитами, очаговый лейкопедез, очаговая гибель экзокриноцитов. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×400

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С патогенетической точки зрения обе предлагаемые методики моделирования острого панкреатита морфологически проявляются развитием острого панкреатита, но повреждение железы с последующей аппликацией зоны механической травмы аутологичной лейкоцитарной массой приводит к развитию более выраженных проявлений воспаления.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Воробьева А. С., Наумова О. Н., Стяжкина С. Н. Острый панкреатит – проблема 21 века // LII Международный научный обзор проблем и перспектив современной науки и образования. Париж, Франция, 2018. № 18. 42 с.
2. Национальные клинические рекомендации по острому панкреатиту / В. А. Кубышкин, И. И. Затевахин, С. Ф. Багненко [и др.] / Российское общество хирургов. Официальный сайт «Российское общество хирургов». 2015. 38 с.
3. Рогова Л. Н., Ермак М. В., Шестернина Н. В. Метод моделирования острого панкреатита. Патент на изобретение № 2749563, приоритет от 03 августа 2020.
4. Рогова Л. Н., Ермак М. В., Попов Д. А. Способ моделирования панкреатита путем нанесения

механической травмы с последующей аппликацией дефекта аутологичной лейкоцитарной массой. Патент на изобретение № 2749564, приоритет от 03 августа 2020.

5. Зайчик А. Ш., Чурилов Л. Основы общей патологии. СПб.: Элби-СПб. 1999. Ч. 1. 618 с.

References

1. Vorob'eva A. S., Naumova O. N., Styazhkina S. N. Acute pancreatitis – the problem of the 21st century. LII International Scientific Review of the Problems and Prospects of Modern Science and Education. Paris, France. 2018;18:42. (In Russ.).
2. Kubyshkin V. A., Zatevakhin I. I., Bagненко S. F. et al. National clinical guidelines for acute pancreatitis. Russian Society of Surgeons. Official website of the Russian Society of Surgeons. 2015;38. (In Russ.).
3. Rogova L. N., Ermak M. V., Shesternina N. V. Method of modeling acute pancreatitis. Patent for invention no. 2749563, priority dated August 03, 2020. (In Russ.).
4. Rogova L. N., Ermak M. V., Popov D. A. A method for modeling pancreatitis by applying a mechanical injury followed by the application of an autologous leukocyte mass defect. Patent for invention no. 2749564, priority dated August 03, 2020. (In Russ.).
5. Zajchik A. Sh., Churilov L. Fundamentals of general pathology. SPb.: Elbi-SPB; 1999;1:618 (In Russ.)

Информация об авторах

Л. Н. Рогова – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии, клинической патофизиологии, rogovaln@mail.ru

М. В. Ермак – ассистент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии, gmv18@mail.ru

Н. В. Григорьева – доктор медицинских наук, профессор кафедры патанатомии, ngrigoievavsona@gmail.com

М. Р. Экова – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патанатомии, maria.ekova@mail.ru

Д. А. Попов – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии

Н. В. Шестернина – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии, chemordakova.nat@mail.ru

В. Н. Поветкина – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии, vnpovetkina@gmail.com

Статья поступила в редакцию 24.09.2021;

одобрена после рецензирования 25.10.2021;

принята к публикации 12.11.2021.

Information about the authors

L. N. Rogova – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pathophysiology, Clinical Pathophysiology, rogovaln@mail.ru

M. V. Ermak – Assistant of the Department of Pathophysiology, Clinical Pathophysiology, gmv18@mail.ru

N. V. Grigorieva – Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Pathological Anatomy, ngrigoievavsona@gmail.com

M. R. Ekova – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy, maria.ekova@mail.ru

D. A. Popov – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pathophysiology, Clinical Pathophysiology

N. V. Shesternina – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pathophysiology, Clinical Pathophysiology, chemordakova.nat@mail.ru

V. N. Povetkina – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pathophysiology, Clinical Pathophysiology, vnpovetkina@gmail.com

The article was submitted 24.09.2021;

approved after reviewing 25.10.2021;

accepted for publication 12.11.2021