

Abstract

V. M. Chumakov,
O. L. Sytnik,
M. S. Lyndin,
*Sumy State University, 2,
Rimskogo-Korsakova Str., 40007
Sumy, Ukraine*

CHEMICAL VAGOTOMY IN EXPERIMENTAL ACUTE PANCREATITIS

According to modern conceptions, acute pancreatitis is a multifactorial disease with complex multicomponent pathogenesis. Regardless of the improvement of surgical treatment, mortality in complicated forms of acute pancreatitis is from 25 to 85 % according to different studies without a significant downward trend.

The purpose of the research is to investigate the dynamic of morphological changes in the pancreas after chemical vagotomy at acute experimental pancreatitis in rabbits.

Materials and Methods. The experiment was carried out with 55 rabbits – males with a weight of at least 3.0 kg. Induction of acute pancreatitis was provided by laparotomy, ligating of the pancreatic duct and 5 injections of solution with pharmaceutical bile and trypsin to the parenchyma of all parts of the pancreas in dose 0.4–0.5 ml/kg [9, 10]. For the purpose of performing chemical vagotomy in animals of the main group paraesophageal space was infiltrated with a 30 % solution of ethyl alcohol in dose 1.5–2 ml. After 14 days of the experiment, the animals from both groups underwent a programmed relaparotomy with autopsy of material from pancreas for the further morphological investigation.

Results. The pathomorphological changes in pancreas in the modeling of the acute pancreatitis demonstrate significant inflammatory changes with the development of subtotal and total pancreatic necrosis. Based on the morphological investigation, it was found, that in the comparison group the pathomorphological picture of subtotal and total pancreatic necrosis with destruction > 50 % of parenchyma is significantly more frequent than in the main group ($p < 0.05$).

Conclusion. As a result of the experiment, it allows to consider that chemical vagotomy as an additional method that can improve the efficacy of treatment of acute pancreatitis. Further study is required to develop the minimally invasive technique of chemical vagotomy with subsequent introduction into clinical practice in order to improve the direct results of treatment of patients with acute pancreatitis.

Keywords: acute pancreatitis, pathomorphology, chemical vagotomy, modeling, experiment.

Corresponding author: *triftonte@gmail.com*

Резюме

В. М. Чумаков,**О. Л. Ситнік,****М. С. Ліндін,***Сумський державний**університет, вул. Римського-**Корсакова, 2, м. Суми, Україна,**40007***ХІМІЧНА ВАГОТОМІЯ ПРИ МОДЕЛЬОВАНОМУ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ**

В даному дослідженні представлені морфологічні дані, що відображають динаміку змін в підшлунковій залозі при використанні хімічної ваготомії після моделювання гострого панкреатиту у кролів. Експеримент виконано на 55 кролях – самцях з масою не менше 3,0 кг. Індукцію гострого панкреатиту виконано шляхом перев'язки панкреатичної протоки та виконання 5 ін'єкцій розчину фармацевтичної жовчі та трипсину в паренхіму усіх відділів підшлункової залози у дозі 0,4–0,5 мл/кг [9, 10]. Тваринам основної групи з метою хімічної ваготомії у параезофагеальну клітковину абдомінального відділу стравоходу було інфільтровано 1,5–2 мл. 30 % розчину етилового спирту. На 14-ту добу проведення експерименту тваринам обох груп було виконано програмовану релапаротомію та забір аутопсійного матеріалу підшлункової залози для подальшого морфологічного дослідження. Використовувалися непараметричні методи статистичного аналізу: критерій Пірсона (χ^2) з поправкою Йейтса, точний двосторонній критерій Фішера. Обчислення проводилися з використання таблиць спряженості 2×2 . Рівень статистичної значущості вважали достовірним за умови $p < 0,05$. Патоморфологічні зміни підшлункової залози при моделюванні гострого панкреатиту проявляються значними змінами запального характеру з розвитком субтотально-тотального панкреонекрозу. Хімічна ваготомія при модельованому гострому панкреатиті на тваринах-кролях знижує вірогідність розвитку субтотально-тотального панкреонекрозу з ураженням $> 50\%$ паренхіми підшлункової залози. Проведене дослідження дозволяє розглядати хімічну ваготомію, як додатковий метод, що може покращити ефективність лікування гострого панкреатиту.

Ключові слова: гострий панкреатит, патоморфологія, хімічна ваготомія, моделювання, експеримент.

Резюме

В. Н. Чумаков,**А. Л. Ситнік,****Н. С. Ліндін,***Сумський державний університет,**вул. Римського-Корса-**кова, 2, м. Суми, Україна, 40007***ХИМИЧЕСКАЯ ВАГОТОМИЯ ПРИ МОДЕЛИРОВАННОМ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ**

В данном исследовании представлены морфологические данные, отражающие динамику изменений в поджелудочной железе при использовании химической ваготомии после моделирования острого панкреатита у кроликов. Эксперимент выполнен на 55 кроликах-самцах с массой не менее 3,0 кг. Индукция острого панкреатита выполнялась путем перевязки панкреатического протока и выполнения 5 инъекций раствора фармацевтической желчи с трипсином в паренхиме всех отделов поджелудочной железы в дозе 0,4–0,5 мл/кг [9, 10]. Животным основной группы с целью химической ваготомии в параэзофагеальную клетчатку абдоминального отдела пищевода было инфильтрировано 1,5–2 мл. 30 % раствора этилового спирта. На 14-е сутки проведения эксперимента животным обеих групп была выполнена программируемая релапаротомия с забором аутопсийного материала поджелудочной железы для дальнейшего морфологического исследования. Использовались непараметрические методы статистического анализа: критерий Пирсона (χ^2) с поправкой Йейтса, точный двусторонний критерий Фишера. Вычис-

ления проводились с использованием таблиц сопряженности 2×2 . Уровень статистической значимости считали достоверным при $p < 0,05$. Морфологические изменения поджелудочной железы при моделировании острого панкреатита определяются значительными изменениями воспалительного характера с развитием субтотально-тотального панкреонекроза. Химическая ваготомия при моделированном остром панкреатите замедляет развитие патологических процессов в поджелудочной железе. Проведенное исследование позволяет рассматривать химическую ваготомию, как дополнительный метод, который может улучшить эффективность лечения острого панкреатита.

Ключевые слова: острый панкреатит, патоморфология, химическая ваготомия, моделирование, эксперимент.

Автор, відповідальний за листування: trifonte@gmail.com

Вступ

За сучасними уявленнями гострий панкреатит (ГП) – це мультифакторіальне поліетіологічне захворювання зі складним багатокомпонентним патогенезом [1]. Актуальність дослідження проблем діагностики та прогнозування перебігу ГП обумовлена тим, що, за даними мультицентрових досліджень, захворюваність на ГП складає 33,74 випадки на 100 000 населення [2], та супроводжується високим ризиком розвитку ускладнень та летальністю [3]. В Україні захворюваність на ГП становить 102 на 100000 населення [4], а показники госпіталізації та післяопераційної летальності при ГП перевищують світові значення [5].

Більшість концепцій патогенезу ГП обґрунтовані експериментальними дослідженнями на лабораторних тваринах та пов'язані з механізмами внутрішньоклітинної активації трипсиногену [6]. Експериментальні моделі ГП на лабораторних тваринах не є однозначно придатними щодо людей, проте дають можливість відтворювати та досліджувати морфологічні та патофізіологічні зміни певних фаз захворювання [7].

Важливу роль у розвитку ГП відіграє нейрогенна регуляція. Ще дослідженнями І. П. Павлова (1902) доведено, що секреція підшлункової залози (ПЗ) активується шляхом стимуляції блукаючих нервів. Ацетилхолін, що виділяється з нервових закінчень блукаючого нерва, ініціює виділення ацинарними клітинами ПЗ багатьох ферментів панкреатичного секрету. Хірургічна ваготомія істотно знижує секрецію ПЗ [8].

Метою дослідження є вивчення в динаміці морфологічних змін в ПЗ при модельованому ГП та після хімічної ваготомії.

Матеріали і методи. Експеримент проведено на 55 безпорідних кролях – самцях з масою не менше 3,0 кг. Експеримент виконувався згідно правил «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментах» (Страсбург, 1986), «Загальних етичних правил експериментів на тваринах, затверджених I національним конгресом з біоетики» (Київ, 2001) та Комісії з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень медичного інституту Сумського державного університету. Усі тварини утримувалися в ізольованих клітках в умовах віварію з 12-годинним циклом освітлення при температурі 18–21°C. Експериментальне дослідження проводили в весняно-літній період.

Анестезіологічний супровід експериментального оперативного втручання проводився за наступною схемою: за 20 хвилин до операції з метою премедикації вводився атропіну сульфат 0,1 % – 0,2 мг/кг підшкірно та сибазон 0,5 % – 0,5 мг/кг внутрішньом'язево; для початкового знеболювання використовували дієтиловий ефір, надалі – кетамін 5 % – 30 мг/кг (за методикою Y. Gunerhan).

Виконувалась фіксація на операційному столі, видалення волоссяного покриву з передньої черевної стінки, антисептична обробка операційного поля, лапаротомія. ГП моделювався шляхом виділення та перев'язки панкреатичної протоки прошивною лігатурою та виконанням 5 ін'єкцій розчину фармацевтичної жовчі та трипсину в паренхіму усіх відділів ПЗ у дозі 0,4–0,5 мл/кг [9, 10].

Усім тваринам, що вижили на 5-ту добу експерименту ($n = 51$), було виконано релапаротомію. Анестезіологічний супровід оперативних втручань не відрізнявся від попереднього. Тваринам основної групи ($n = 35$) з метою хімічної ваготомії було інфільтровано 1,5–2 мл. 30 % розчину етилового спирту у параезофагеальну клітковину абдомінального відділу стравоходу. Тваринам групи порівняння ($n = 16$) було ушито черевну порожнину. На 14-ту добу проведення експерименту тваринам з обох груп було виконано програмовану релапаротомію. У тварин обох груп виконано забір аутопсійного матеріалу ПЗ для подальшого морфологічного дослідження. Виведення з експерименту проводилось шляхом передозування ефірного наркозу. Померлим тваринам було виконано патологоанатомічний розтин з забором аутопсійного матеріалу для подальшого морфологічного дослідження.

Морфологічне дослідження проводилось на базі «Наукового центру патоморфологічних досліджень», кафедра патологічної анатомії, Сумський державний університет. Фіксація аутопсійного матеріалу здійснювалась в 10 % розчині нейтрального формаліну протягом 24 годин. Проводку і виготовлення парафінових блоків здійснювали за загальноприйнятою методикою. Товщина парафінових серійних зрізів 7–9 мкм., забарвлення гематоксилін та еозин. Отримані гістологічні препарати вивчалися при збільшенні $\times 400$.

Для оцінки достовірності відмінностей між групами використовували непараметричні методи статистичного аналізу: критерій Пірсона (χ^2) з поправкою Йейтса, точний двосторонній критерій Фішера. Обчислення проводилися з використання таблиць спряженості 2×2 . Рівень статистичної значущості вважали достовірним за умови $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

Протягом перших 72 годин з моменту моделювання ГП загинула 1 тварина. На 5-ту добу перебігу модельованого ГП загинуло ще 3 тварини. Ці 4 тварини не брались до уваги при статистичній обробці даних. Усім тваринам, що вижили ($n = 51$), було виконано релапаротомію. Макроскопічно в черевній порожнині спостерігалось скупчення невеликої кількості серозно-геморагічного ексудату з пластівцями фібрину, дилатація шлунка та тонкого кишечника, набряк паренхіми підшлункової залози, поодинокі жирові некрози та дрібноточкові крововиливи. Тваринам основної групи ($n = 35$) з метою хімі-

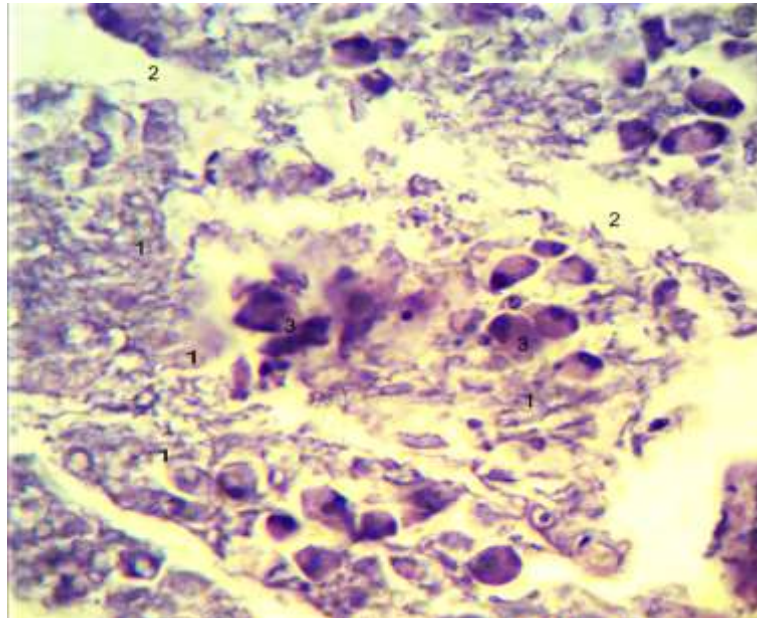
чної ваготомії було інфільтровано 1,5–2 мл. 30 % розчину етилового спирту у параезофагеальну клітковину абдомінального відділу стравоходу. Тваринам групи порівняння ($n = 16$) було ушито черевну порожнину наглухо. На 14 добу перебігу модельованого ГП загинуло 25 тварин з основної групи та 12 тварин з групи порівняння. В основній групі та групі порівняння не було виявлено статистично достовірних даних щодо зниження смертності при використанні хімічної ваготомії в умовах модельованого ГП ($p > 0,05$). Померлим тваринам було виконано патологоанатомічний розтин з забором аутопсійного матеріалу для подальшого морфологічного дослідження. Тваринам з основної групи ($n = 10$) та групи порівняння ($n = 4$), що вижили на 14-ту добу спостережень, було виконано запрограмовану релапаротомію. Макроскопічно у тварин з основної групи спостерігався виражений набряк та порушення часточкової структури ПЗ, відокремлені вогнища стеатонекрозів паренхіми ПЗ, поодинокі геморагії у ПЗ та брижі кишечника, вздуття та дилатація кишечника. Макроскопічно у тварин з групи порівняння спостерігалось значне порушення часточкової структури ПЗ, множинні вогнища стеатонекрозів та геморагій у паренхіми ПЗ, шлунка та брижі кишечника, гіперпневматоз та дилатацію кишечника. У тварин обох груп виконано забір аутопсійного матеріалу ПЗ для подальшого морфологічного дослідження. Виведення з експерименту проводилось шляхом передозування ефірного наркозу.

При морфологічному дослідженні через 5 днів моделювання ГП спостерігався значний інтерстиційний набряк паренхіми ПЗ з ознаками значних змін окремих елементів чи їх комплексів. Спостерігалось наповнення судин мікроциркуляторного русла, геморагічна імбібіція стромы ПЗ з явищами формування фібринових мікротромбів. Виражена запальна інфільтрація, наявні осередки некрозу ПЗ. Збільшувалась кількість екзокринних панкреатоцитів з пікнотичними ядрами, зустрічались без'ядерні клітини.

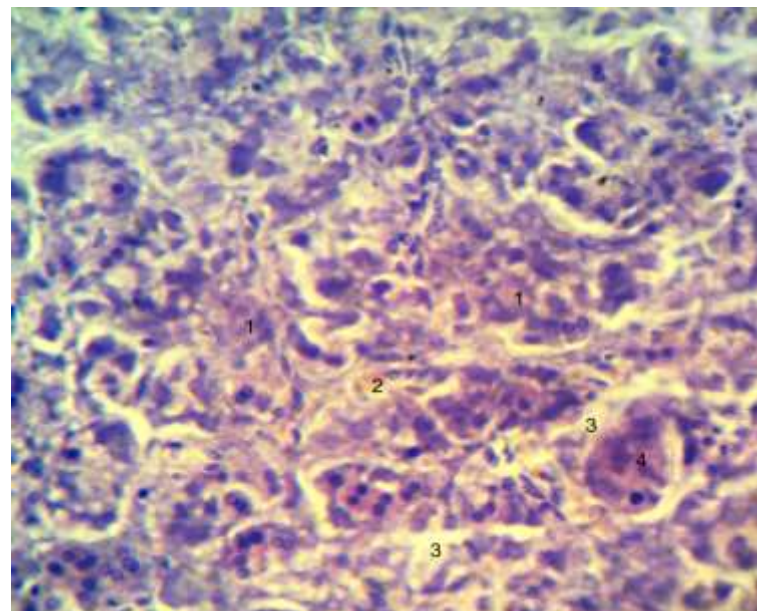
На 14-ту добу проведення експерименту у померлих тварин ($n = 12$) з групи порівняння спостерігається гістологічна картина вираженого деструктивного ураження: у 9 випадках виявлено субтотально-тотальний панкреонекроз з ураженням $> 50\%$ паренхіми ПЗ, без'ядерні клітини, відмічалась балонна дистрофія поодиноких ацинозних клітин, серед яких зустрічались клітини з пікнотично зміненими ядрами, ацинарні клітини без видимих змін. У стромальному

компоненті ПЗ виявляється виражений набряк та розволокнення строми, повнокров'я судин, розповсюджені крововиливи (мал. 1). На 14-ту добу проведення експерименту у тварин з групи порівняння, що вижили (n = 4), спостерігалась гістологічна картина поширених деструктивних змін: у 3 випадках виявлено субтотально-тотальний панкреонекроз з ураженням > 50 %

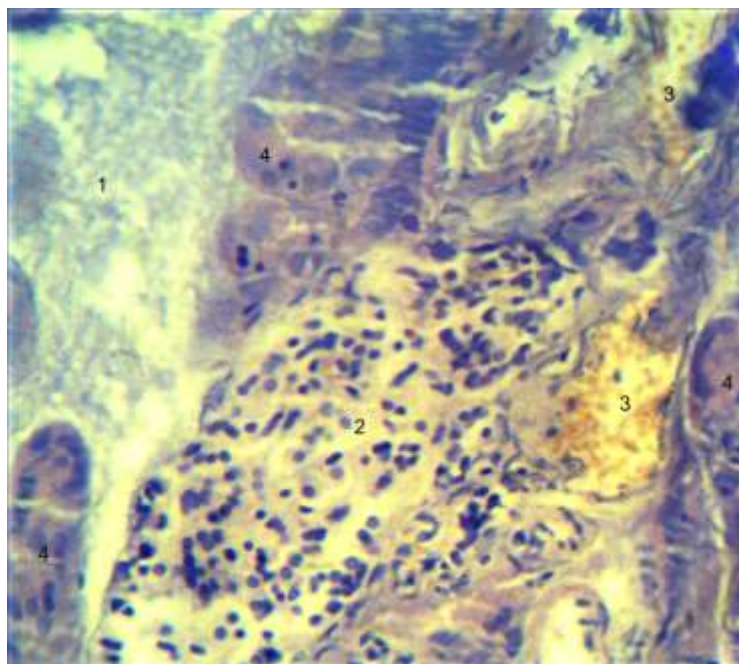
паренхіми ПЗ, без'ядерні клітини, ділянки тотального некрозу ацинарних клітин, серед яких зустрічались клітини з пікнотично зміненими ядрами, ацинарні клітини без видимих змін. У стромальному компоненті ПЗ виявляється виражений набряк та розволокнення строми, повнокров'я судин, поширені крововиливи (мал. 2).



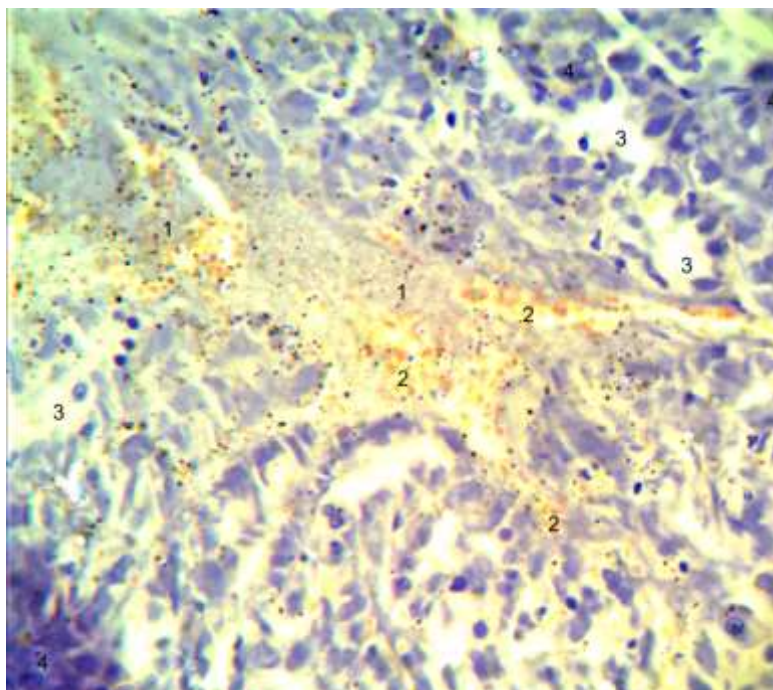
Малюнок 1 – Морфологічні зміни підшлункової залози через 14 днів після моделювання ГП (група порівняння, померлі тварини): 1 – некроз тканини ПЗ; 2 – набряк; 3 – ділянки збереженої тканини ПЗ. Забарвлення гематоксилін та еозин. Збільшення $\times 400$.



Малюнок 2 – Морфологічні зміни підшлункової залози через 14 днів після моделювання ГП (група порівняння, тварини, що вижили): 1 – некроз тканини ПЗ; 2 – крововиливи; 3 – набряк; 4 – ділянки збереженої тканини ПЗ. Забарвлення гематоксилін та еозин. Збільшення $\times 400$.



Малюнок 3 – Морфологічні зміни підшлункової залози через 14 днів після моделювання ГП (основна група, померлі тварини): 1 – некроз тканини ПЗ; 2 – острівець Лангерганса; 3 – крововиливи; 4 – ділянки збереженої тканини ПЗ. Забарвлення гематоксилін та еозин. Збільшення $\times 400$.



Малюнок 4 – Морфологічні зміни підшлункової залози через 14 днів після моделювання ГП (основна група, тварини, що вижили): 1 – некроз тканини ПЗ з явищами початкового фіброзу; 2 – крововиливи; 3 – набряк; 4 – ділянки збереженої тканини ПЗ. Забарвлення гематоксилін та еозин. Збільшення $\times 400$.

На 14-ту добу проведення експерименту у померлих тварин з основної групи ($n = 25$) спостерігається гістологічна картина деструктивного ураження паренхіми та строми ПЗ, відокремлені ділянки панкреонекрозу. Ознаки порушення мік-

роциркуляції у вигляді набряку ацинусів та інте-рстицію, наявності крововиливів. Структура ост-рівців Лангерганса порушена незначно у вигляді тканинного набряку (мал. 3). У 8 випадках вияв-лено субтотально-тотальний панкреонекроз з

ураженням > 50 % паренхіми ПЗ. На 14-ту добу проведення експерименту у тварин з основної групи, що вижили (n = 10), спостерігається гістологічна картина деструктивного ураження паренхіми та строми ПЗ з відокремленими ділянками панкреонекрозу та явищами міжчасточкового та внутрішньочасточкового розростання фіброзної тканини різного ступеня зрілості. Найвні ознаки порушення мікроциркуляції у вигляді набряку ацинусів та інтерстицію, крововиливів (мал. 4). У

Висновки

Хімічна ваготомія при модельованому ГП на тваринах-кролях знижує вірогідність розвитку субтотально-тотального панкреонекрозу з ура-

Перспективи подальших досліджень

Проведене дослідження дозволяє розглядати хімічну ваготомію, як додатковий метод, що може покращити ефективність лікування ГП. Це

4 випадках виявлено субтотально-тотальний панкреонекроз з ураженням > 50 % паренхіми ПЗ.

Серед тварин основної групи спостерігається більша збереженість панкреатоцитів, ніж у групі порівняння. Встановлено, що у групі порівняння морфологічна картина субтотально-тотального панкреонекрозу з ураженням > 50 % паренхіми ПЗ спостерігається достовірно частіше, ніж в основній групі ($\chi^2 = 5,76$, якому відповідає $p = 0,017$; $F = 0,014$, $p < 0,05$).

женням > 50 % паренхіми ПЗ, що підтверджується морфологічними дослідженнями ПЗ протягом експерименту.

мотивує на розробку мініінвазивної методики хімічної ваготомії з подальшим впровадженням в клінічну практику з метою покращення безпосередніх результатів лікування хворих на ГП.

References (список літератури)

- Gimenez TR, Calvo AG, Vicent JG. Etiology of acute pancreatitis. *Centr Eur J Med.* 2014;9(4):530-42. doi: 10.2478/s11536-013-0279-x
- Xiao AY, Tan MLY, Wu LM, Asrani VM, Windsor JA, Yadav D, et al. Global incidence and mortality of pancreatic diseases: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression of population-based cohort studies. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology.* 2016;1(1):45-55. doi: [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(16\)30004-8](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(16)30004-8)
- Sabo A, Goussous N, Sardana N, Patel S, Cunningham SC. Necrotizing pancreatitis: a review of multidisciplinary management. *JOP. J Pancreas.* 2015;16(2):125-35. Retrieved from: <http://www.serena.unina.it/index.php/jop/article/view/2947/3127>
- Fomin PD, editor. *Metodychni rekomendatsii v khirurgii* [Methodical recommendations in surgery]. Kyiv: TOV "Biblioteka "Zdorovia Ukrainy" Publ., 2012. pp. 67-98.
- Stepanov JuM, Gravirovskaja NG, Skirda IJu, Petishko OP. [Pancreatic diseases as one of the main problems in gastroenterology and abdominal surgery (modern epidemiology)]. *Gastroenterology.* 2014;53(3):7-14.
- Foster JR. A review of animal models of nonneoplastic pancreatic diseases. *Toxicologic pathology.* 2014;42(1):243-259. doi: 10.1177/0192623313508479.
- Rattner DW. Experimental models of acute pancreatitis and their relevance to human disease. *Scandinavian journal of gastroenterology.* 1996; 219:6-9. Retrieved from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8865463>
- Susoeva ES. [Minimally invasive surgical treatment in patients with pain- and cystic-forms of chronic pancreatitis]. *Lechashchij vrach.* 2010;3:79-81. Режим доступа: <https://www.lvrach.ru/2010/03/12366778/>
- Maksymyuk VV. [Method of acute pancreatitis modeling]. *Klinichna anatomiya to operatyvna xirurgiya.* 2013;12(4):98-102.
- Polyanskiy IYu, Maksymyuk VV, Vojtivy YaYu, inventors. *Sposib modelyuvannya gostrogo pankreaty`tu* [Method of acute pancreatitis modeling]. Ukrainian patent, no.66667, 2012.

(received 30.10.2018, published online 25.12.2018)

(одержано 30.10.2018, опубліковано 25.12.2018)