

Г.Ш. Гараев, В.Ф. Фараджев, Ф.И. Ибрагимли

Моделирование острого холецистита

Азербайджанский медицинский университет, Баку

Резюме. Представлена методика моделирования острого холецистита с использованием воздействия патогенной кишечной микрофлоры. Исследование проведено на 21 кролике породы «шиншилла» в двух группах. На 5 кроликах первой группы создана модель острого перитонита по методу Ф.Ф. Усикова [11]. Затем полученный высокотоксичный перитонеальный экссудат вводился в желчный пузырь животным второй группы (16 кроликов). Введение высокотоксичного перитонеального экссудата в желчный пузырь приводило к развитию воспалительного процесса в нем. Патологический процесс развивался медленно и в интервале от 7-го до 15-го дня моделирования имел острый характер. Следовательно, введение высокотоксичного перитонеального экссудата, имеющего в составе многие виды патогенной микрофлоры кишечника, вызывает развитие острого холецистита. Данная модель отражает соответствующие основные этиопатогенетические звенья заболеваний желчного пузыря. Адекватность предлагаемой модели подтверждается результатами изменения маркеров острого холецистита, то есть повышения уровня щелочной фосфатазы, аланинтрансферазы, аспартаттрансферазы, общего билирубина, γ -глутаминтрансферазы и амилазы в крови после моделирования.

Ключевые слова: желчный пузырь, холецистит, перитонеальный экссудат, кишечная микрофлора, экспериментальные исследования, воспалительный процесс, маркеры острого холецистита.

Введение. Острое воспаление желчного пузыря является одним из часто встречающихся заболеваний органов брюшной полости. Установлено, что острый воспалительный процесс в желчном пузыре и желчном протоке является полиэтиологическим заболеванием и в большинстве случаев пусковым фактором развития патологического процесса является гнойно-септический процесс [1, 8, 12, 13].

Несмотря на то, что изучению патогенеза развития острого воспаления в желчном пузыре и желчном протоке посвящено много работ, однако ещё многие его аспекты остаются нераскрытыми. Для более углубленного изучения данной патологии, а также разработки эффективных методов лечения требуется проведение исследований на соответствующих адекватных моделях в эксперименте.

В литературе имеется много методик создания экспериментального острого холецистита [4, 6, 9, 11]. Они основаны на перевязке art. Sistikus или введении в желчный пузырь токсинов *E. Coli*. Ни одна из существующих методик моделирования не учитывает важную патогенетическую роль патогенной микрофлоры кишечника, являющейся основным фактором развития гнойно-воспалительного процесса в желчном пузыре и желчном протоке.

Цель исследования. Разработать методику моделирования с использованием воздействия патогенной кишечной микрофлоры.

Материалы и методы. Для создания адекватной модели острого холецистита исследование проведено на 21 кролике породы «шиншилла», которые были подразделены на две группы. На животных 1-й группы

(5 кроликов) создавали модель острого перитонита по методу Ф.Ф. Усикова [11]. Животным 2-й группы (16 кроликов) в желчный пузырь вводили 5 мл высокотоксичного перитонеального экссудата. Последний готовили следующим способом. После моделирования острого перитонита на третьи сутки животным вскрывали брюшную полость и с помощью электрического отсоса его содержимое эвакуировалось в стерильный 3-литровый стеклянный баллон. Далее баллон встряхивали до получения однотипного раствора и вновь электрическим отсосом поверхностный слой экссудата переносили в различных объемах в стерильные стеклянные банки с 10 мл физиологического раствора и размешивали. Определяли токсичность различных концентраций перитонеального экссудата по методу К.В. Недошивиной [7] по 5-балльной системе. Таким образом, выявляли наиболее токсичный экссудат, который применялся для моделирования.

Животным 2-й группы после внутрибрюшинного введения каллипсола миниинвазивным разрезом вскрывали брюшную полость и тонкой иглой вводили в желчный пузырь 5 мл высокотоксичного перитонеального экссудата, далее брюшную полость зашивали наглухо.

Все эксперименты проведены на основании инструкций Международной комиссии по биоэтике [Европейское общество биоэтики (86/09 ЕЕС и UNESCO (Париж))].

Развитие патологических изменений прослеживали определением в крови уровня аланин-трансферазы (АЛТ), аспартат-трансферазы (АСТ), γ -глутамин-трансферазы, амилазы и общего билирубина. Анализы проведены на анализаторе «Bio Screen

MS-500». При этом использованы наборы реактивов фирмы «Хетарол» и «Human».

Статистическая обработка полученных цифровых данных проведена параметрическим методом [5, 10].

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что через 3 дня после введения высокотоксичного перитонеального экссудата концентрация щелочной фосфатазы в сыворотке крови у 62,5% экспериментальных животных повысилась на 91% по сравнению с исходной величиной. Концентрация АЛТ, также как и щелочной фосфатазы, у 62,5% животных повысилась на 113%, у 37,5% животных – осталась без изменений. В отличие от изменений уровня АЛТ концентрация АСТ в крови у 56% животных оставалась в пределах исходных значений, а у 44% животных превышала исходный уровень на 56%. Уровень амилазы по сравнению с величиной других ферментов оставался без изменений у 94% животных. Лишь у 6% животных амилаза в крови была выше исходного значения на 11%. Концентрация γ -глутаминтрансферазы у 75% животных была в пределах исходных величин, у 19% животных даже ниже, и лишь у 6% животных она была повышена. Концентрация общего билирубина после моделирования у 56% животных оставалась без изменений, у 44% животных его уровень в крови был повышен на 27% по сравнению с исходным.

Таким образом, по результатам значений исследованных ферментов-маркеров острого холецистита на третьи сутки после введения высокотоксичного перитонеального экссудата в желчный пузырь у большинства животных 2-й группы можно было констатировать факт развития острого холецистита. Среди маркеров, подтверждающих наличие острого холецистита, наибольшие изменения отмечались в активности АЛТ и щелочной фосфатазы. Уровень АСТ, амилазы, γ -глутаминтрансферазы и общего билирубина у большинства подопытных животных оставался почти без изменений.

Через 7 дней после введения высокотоксичного перитонеального экссудата патологический процесс наблюдался уже у большего числа экспериментальных животных 2-й группы. Так, уровень щелочной фосфатазы у 83% животных повысился, у остальных 17% оставался в пределах нормальных величин. Эти изменения по сравнению с исходным уровнем и данными на третьи сутки были больше на 167 и 71,5% соответственно.

Повышение активности АЛТ по сравнению с исходным значением составило 249%, а по сравнению с третьими сутками лишь 39%. При этом повышение уровня АСТ в сравнении с уровнем АЛТ было умеренным. Так, уровень АСТ по сравнению с исходным вырос на 153% и почти не изменился по сравнению с третьими сутками. Концентрация амилазы была повышенной лишь у 42% подопытных животных, что составило в среднем 59% и 30% по сравнению с третьими сутками опыта. Концентрация γ -глутаминтрансферазы у 42% животных оставалась без изменений, у 8% животных

она была даже ниже нормы. Однако у 50% животных уровень γ -глутаминтрансферазы нарастал по сравнению с исходной величиной и третьими сутками – на 39,5 и 22% соответственно.

Содержание общего билирубина спустя 7 дней после введения высокотоксичного экссудата в желчный пузырь у 50% животных было повышенным, что составило 45% по сравнению с исходной величиной и 12,5% – с третьими сутками опыта.

Таким образом, через неделю после введения высокотоксичного перитонеального экссудата в желчный пузырь развитие патологического процесса наблюдалось у большего количества животных, чем на третий день опытов. Уровень маркеров острого холецистита, а именно щелочной фосфатазы, АЛТ, АСТ, был более выраженным, чем γ -глутатионтрансферазы и амилазы.

Через 15 дней после введения высокотоксичного перитонеального экссудата концентрация щелочной фосфатазы была повышенной у всех животных 2-й группы. Ее уровень по сравнению с исходным значением на третьи и седьмые сутки опыта был повышен на 388, 61 и 45% соответственно. Уровень АЛТ и АСТ у 87,5% животных продолжал оставаться выше нормативных значений и только у 12,5% оставался без изменений. В среднем повышение концентрации АЛТ по сравнению с исходным было более чем в 3 раза (328%). А по сравнению с третьими и седьмыми сутками после введения высокотоксичного перитонеального экссудата – на 50 и 18,5% соответственно. Концентрация АСТ по сравнению с исходным уровнем была повышена на 233%, а по сравнению с третьими и седьмыми сутками на 53 и 24% соответственно.

В отличие от других исследуемых ферментов изменение уровня амилазы было не столь выраженным. У 37,5% животных оно колебалось в пределах исходных величин, у 62,5% животных – повышалось в среднем на 99%. По сравнению с третьими и седьмыми сутками это повышение составило 44 и 20% соответственно. Уровень γ -глутаминтрансферазы был повышенным у 75% животных, у 25% оставался без изменений по сравнению с исходным. Повышение уровня этого показателя за исследуемый период по сравнению с исходным составило 104%, а в сравнении с третьими и седьмыми сутками только 55 и 31,5% соответственно. Уровень общего билирубина на 15-й день опыта по сравнению с исходным повысился на 79%, на третьи и седьмые сутки – на 29 и 19% соответственно. При этом у 25% животных уровень общего билирубина оставался без изменений.

Заключение. Введение высокотоксичного перитонеального экссудата в желчный пузырь приводит к развитию воспалительного процесса в желчном пузыре и желчном протоке. Патологический процесс развивается медленно и в интервале от 7-го до 15-го дня моделирования имеет острый характер. Ф.Ф. Усилов, Л.Д. Романова, Л.С. Гончарова [11] выявили, что в составе перитонеального экссудата имеются многие

виды патогенной микрофлоры кишечника. Это дало нам основание считать, что введение высокотоксичного перитонеального экссудата вызывает развитие острого холецистита с соответствующими основными этиопатогенетическими звеньями заболеваний желчного пузыря. Адекватность предлагаемой модели подтверждается результатами изменения маркеров острого холецистита, главным образом, повышения уровня щелочной фосфатазы, АСТ, АЛТ, общего билирубина, γ -глутаминтрансферазы и амилазы в крови после моделирования.

Литература

1. Ахаладзе, Г.Г. Иммуные аспекты билиарной инфекции и сепсиса / Г.Г. Ахаладзе, Э.И. Гальперин // Материалы городского семинара. – М.: НИИ скорой помощи им. Н.М. Склифосовского. – 2000. – Т. 208. – С. 17–19.
2. Гараев, Г.Ш. Значение теста на парамециях в оценке токсичности перитонеального экссудата / Г.Ш. Гараев [и др.] // Биомедицина. – 2000. – № 4. – С. 37–38.
3. Гараев, Г.Ш. Изменения метаболизма белков в крови в зависимости от видов токсических веществ, накопившихся в брюшной полости в терминальной фазе перитонита / Г.Ш. Гараев [и др.] // Вестн. хирургии Казахстана. – 2011. – № 3. – С. 29–31.
4. Дещук, А.Н. Результаты экспериментального моделирования острого холецистита на кроликах / А.Н. Дещук // Журн. Гродненского гос. ун-та. – 2012. – № 2. – С. 44–46.
5. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высшая школа. – 1990. – 352 с.
6. Мустафин, Т.И. Способ моделирования острого холецистита у собак / Т.И. Мустафин [и др.] // Патент на изобретение № 2302041. Дата регистрации 06.02.2006, № заявки, 2006 103524/14. – 2007 г.
7. Недошивина, Р.В. Изучение токсичности крови обожженных собак методом биотестирования на мышах с блокированной РЭС / Р.В. Недошивина // Патолог. физиол. – 1972. – № 2. – С. 3–42.
8. Полунина, Т.Е. Желчнокаменная болезнь / Т.Е. Полунина // Лечащий врач. – 2005. – № 2. – С. 27–32.
9. Рейс, Б.А. Способ моделирования острого гипертензивного холецистита / Б.А. Рейс [и др.] // Патент на изобретение № 2459272. Дата регистрации 25.03.2011, № заявки, 2011 111483/14. – 2012 г.
10. Сергеевко, В.И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В.И. Сергеевко, И.Б. Бондарева. – М.: Медицина, 2000. – 256 с.
11. Усиков, Ф.Ф. Хирургическая модель острого гнойного перитонита / Ф.Ф. Усиков, Л.Д. Романова, Л.С. Гончарова // Хирургия. – 1984. – № 8. – С. 127–129.
12. Юсиф-заде, К.Р. Аспекты отдаленных результатов наблюдения за больными желчывыводящей системы / К.Р. Юсиф-заде // Sa laml q. – 2014. – № 3. – С. 60–68.
13. Okaya, T. Hepajaundice impedes hepatic microcirculation in mice / T. Okaya [et al.] // Hepatogastroenterology. – 2008. – № 55 (88). – P. 2146–2150.

G.Sh. Garaev, V.F. Faradzhev, F.I. Ibragimli

Modeling of acute cholecystitis

Abstract. *The technique of modeling acute cholecystitis using the influence of pathogenic intestinal microflora is presented. The experiments were carried out on 21 rabbits of chinchilla breed in two groups. A model of acute peritonitis was developed on 5 rabbits from the first group, according to the method of F.F. Usikov [11]. Then a highly toxic peritoneal exudate was injected into the gallbladder of animals of the second group (16 rabbits). The administration of highly toxic peritoneal exudate into the gallbladder led to the development of an inflammatory process in the gallbladder. The pathological process developed slowly and in the interval from 7 to 15 days of modeling was of acute nature. The injection of a highly toxic peritoneal exudate that includes many types of pathogenic microflora of the intestine causes the development of acute cholecystitis. This model reflects the corresponding underlying etiopathogenetic links of gallbladder diseases. The adequacy of the proposed model is confirmed by the results of changes in the markers of acute cholecystitis increasing the level of alkaline phosphatase, alanine transferase, aspartate transferase, total bilirubin, γ -glutamine transferase and amylase in blood after modeling.*

Key words: *gallbladder, cholecystitis, peritoneal exudate, intestinal microflora, experimental studies, inflammatory process, acute cholecystitis markers.*

Контактный телефон: +994-505-516-832; mail: rjafarova@bk.ru