

ЛАЗЕРНАЯ ТУННЕЛИЗАЦИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАНКРЕАТИТЕ*

Ревель-Муроз Ж. А., Совцов С. А., Гиниатуллин Р. У.

ГОУ ДПО «Уральская государственная медицинская академия дополнительного образования Росздрава»

Ревель-Муроз Жан Александрович
Челябинск, Пр. Победы, д. 287
Тел.: 8 (351) 741 44 60
E-mail: main@cgilh.chel.su

РЕЗЮМЕ

В эксперименте на животных (собаках) воспроизведена модель обструктивного хронического панкреатита с последующим лазерным воздействием на ткань в виде туннелирования. Показано, что в склеротически измененной поджелудочной железе в зоне лазерного воздействия в динамике наблюдения регистрируется гиперплазия и гипертрофия ациназных клеток, увеличение числа кровеносных сосудов и выводных протоков на условной площади, снижение объемной доли фиброзной ткани, что способствует увеличению паренхимы железы.

Ключевые слова: лазерное излучение; поджелудочная железа; хронический панкреатит

SUMMARY

Obstructive chronic pancreatitis was reproduced in canine model, with the subsequent laser tunneling of pancreas tissue. It was shown, that in the zone of sclerotic changes in pancreas, laser irradiation caused hyperplasia and hypertrophy of acinous cells, augmentation of blood vessels and excretory channels numbers in the reference area, decrease of volume fraction of fibrous tissue that promotes augmentation of pancreas parenchyma.

Keywords: pancreas; chronic pancreatitis; laser radiation

Хронический панкреатит (ХП) — заболевание поджелудочной железы воспалительной природы, характеризующееся дегенеративно-деструктивными изменениями с нарушениями экзокринной и эндокринной функций различной степени, с развитием фиброза и обызвествлением ткани органа как конечной фазы панкреатита.

По мнению А. И. Хазанова, F. Eckhauser [8; 12], в большинстве случаев следует говорить не об остром и хроническом панкреатитах, а о едином воспалительно-дегенеративном процессе в поджелудочной железе, протекающем фазово, с чередованием обострений, сопровождающихся деструкцией ткани железы, и периодов относительного благополучия, когда отмечается замещение поврежденной паренхимы органа соединительной тканью и развитием экзокринной и /или эндокринной

недостаточности. В итоге возникает фиброз, а в более тяжелых случаях — обызвествление ткани органа, которое нужно рассматривать как конечную фазу развития панкреатита.

Псевдотуморозная и кистозная формы хронического панкреатита лечатся хирургическим путем и включают в себя резекцию поджелудочной железы, панкреатодуоденальную резекцию, цистогастро- и цистоентеростомию [6].

Паренхиматозный и фиброзно-склеротический (индуриативный) хронические панкреатиты лечатся как консервативно, так и оперативно. Консервативное лечение направлено на купирование болевого синдрома, компенсацию внешне- и внутрисекреторной недостаточности поджелудочной железы. При оперативном лечении выполняют спланхэктомию, криодеструкцию нервов чревного сплетения, блокаду чревного сплетения, постганглионарную и маргинальную невротомию и др. [2; 5].

* Иллюстрации к статье на цветной вклейке в журнал.

Таблица 1

КОЛИЧЕСТВО ЖИВОТНЫХ И СРОКИ ВЫВЕДЕНИЯ ИХ ИЗ ЭКСПЕРИМЕНТА				
Сроки выведения (сут.)	1	7	14	30
Количество животных				
Подбор режимов	3			
Модель панкреатита	—	3	3	3
Лазерная туннелизация	3	3	3	3
Итого:	24			

Но в настоящее время не найдено универсального метода лечения хронического панкреатита, поэтому поиск методик лечения, направленных на улучшение функции поджелудочной железы, продолжается.

Учитывая успехи лазерной трансмиокардиальной реваскуляризации в кардиохирургии, при лечении больных ишемической болезнью сердца, что приводит к реваскуляризации ишемизированного миокарда, нами было выдвинуто предположение об аналогичной возможности достижения реваскуляризации фиброзно-измененной ткани поджелудочной железы при хроническом панкреатите [1; 3; 7; 10; 11; 13].

В доступной нам литературе мы не нашли данных о применении лазерного туннелирования поджелудочной железы у больных, страдающих хроническим панкреатитом, с целью реваскуляризации и нормализации ее экзокринной и эндокринной функций.

Считаем, что изучение данной проблемы и полученные сведения представляют научный и практический интерес для хирургов, гастроэнтерологов

и панкреатологов, а разработка и внедрение нового хирургического метода лечения хронического панкреатита улучшит показатели здоровья населения.

Цель исследования: подобрать режимы лазерного излучения для лазерной туннелизации поджелудочной железы при экспериментальном хроническом панкреатите.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальная работа проведена на 24 половозрелых беспородных собаках массой тела 10–15 кг. Опыт предусматривал подборку параметров для лазерной туннелизации ПЖ, моделирование условий для формирования хронического панкреатита с последующей лазерной туннелизацией измененной ПЖ. Все животные были разделены на три группы.

В первую группу вошло трое контрольных животных, на которых изучались анатомические параметры поджелудочной железы и осуществлялся подбор режимов лазерного воздействия.

Таблица 2

ПАРАМЕТРЫ ВОЗДЕЙСТВИЯ ДИОДНОГО ЛАЗЕРА НА ПОДЖЕЛУДОЧНУЮ ЖЕЛЕЗУ СОБАКИ						
Мощность, Вт	Экспозиция, с					Общее количество экспериментов
	3	5	10	15	20	
	Кол-во экспериментов					
5	1	1	1			3
4	1	1	1			3
3	3	3	3			9
2	10	5	5			20
1,7	25	25	10	3	3	66
1,5	3	3	5	5	10	26
1	3	3	3	3	3	15
Итого:						142

На второй группе из 9 животных произведен эксперимент по моделированию хронического панкреатита и изучению морфологических изменений на разных сроках его развития.

В третьей группе животных выполняли лазерную туннелизацию ПЖ в условиях сформировавшегося хронического панкреатита (табл. 1).

В качестве источника лазерного излучения использовали диодный лазер модели ЛС-0,97 — «ИРЭ-Полюс», длиной волны 970 нм (производитель НТО «ИРЭ-Полюс», г. Фрязино. Сертификат соответствия № Росс. RU. ИМО 4. В03537). Доставка лазерного излучения к объекту осуществлялась с помощью моноволоконного кварцевого световода в полимерной оболочке, с диаметром кварцевого волокна 0,4 мм и общим диаметром световода 1 мм.

Для контроля мощности лазерного излучения на торце световода использовали прибор *Laser Power Detectors 330 Series* (производитель *Gentec*).

Для исследования процессов, происходящих в поджелудочной железе после воздействия высокоинтенсивного лазерного излучения, собаки были выбраны как достаточно хорошо изученный биологический объект, имеющий много общих черт с человеком в анатомии и физиологии [4], а поджелудочная железа собак имеет крупные размеры, в среднем 20–25 см на 2–3 см, что удовлетворяет условиям эксперимента. Все манипуляции на животных выполнялись с соблюдением Международных принципов проведения биомедицинских исследований на животных, принятых в Женеве в 1985 году.

Ввиду отсутствия в современной литературе сведений о воздействии высокоинтенсивного лазерного излучения ближнего инфракрасного диапазона на поджелудочную железу предварительная отработка режимов производилась на поджелудочной железе под визуальным контролем во время операции. Было использовано непрерывное излучение диодного лазера длиной волны 0,97 мкм при контакте световода с тканью (диаметр кварцевого волокна 0,4 мм).

Выполнена серия острых опытов на 3 беспородных собаках массой тела 10–12 кг.

Под внутривенным наркозом калипсолом в дозе 3–6 мг/кг веса, реланиумом в дозе 1 мг/кг веса с искусственной вентиляцией легких с соблюдением правил асептики выполняли верхнесрединную лапаротомию длиной 10 см. В рану выводили двенадцатиперстную кишку с поджелудочной железой. Железа была представлена двумя долями размерами 10 × 2 см и головкой 4 × 2 см. Ткань долей была розового цвета, мягкоэластичной консистенции. Обе доли покрыты прозрачной соединительнотканной капсулой.

При помощи световода контактно выполняли туннелизацию поджелудочной железы на глубину 0,5–1 см. Использовали разные мощности и длительность воздействия, начиная с мощности 5 Вт с тенденцией к уменьшению (табл. 2).

На основании полученных данных был подобран оптимальный режим лазерного излучения, при котором за кратчайший промежуток времени с минимальной мощностью осуществлялась туннелизация на глубину 1 см (рис. 1, здесь и далее — на цв. вклейке).

На втором этапе эксперимента воспроизвели модель хронического панкреатита. Для этого была использована каналикулярно-гипертензионная модель [9].

У наркотизированного животного с соблюдением правил асептики и антисептики верхнесрединным разрезом длиной 5 см вскрывали брюшную полость. В рану выводили двенадцатиперстную кишку с поджелудочной железой и дозированно перевязывали правую долю поджелудочной железы сложенным вдвое капроном № 5, нарушая отток секрета по главному выводному протоку. После фазы острого панкреатита начинался процесс замещения экзокринной паренхимы железы соединительной тканью, заканчивающийся спустя 4 недели фиброзом поджелудочной железы [9]. Животных выводили из эксперимента на 1-е, 7-е, 14-е и 30-е сутки, по три особи на каждый срок.

Следующий этап исследования включал в себя создание модели хронического панкреатита с последующей лазерной туннелизацией измененной доли поджелудочной железы.

В третьей серии опытов (12 животных) после получения в поджелудочной железе изменений, характерных для хронического панкреатита, через 30 суток животных оперировали повторно и производили лазерное воздействие. У наркотизированного животного выполняли верхнесрединную релапаротомию до 5 см длиной. Выводили в рану поджелудочную железу. С помощью моноволоконного кварцевого световода диаметром 0,4 мм на передней поверхности измененной доли поджелудочной железы производили лазерную туннелизацию мощностью 1,7 Вт в непрерывном режиме на глубину 1 см из 5–7 точек. Кровотечения и сокоистечения при этом не наблюдались. Операционную рану ушивали наглухо.

Животных выводили из опытов в конце 1-х, 7-х, 14-х, 30-х суток после лазерного воздействия, по три на каждый срок.

Для микроскопического исследования материал фиксировался в нейтральном формалине. После стандартной гистологической проводки готовились парафиновые срезы. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином для обзорной микроскопии по ван Гизону — для выявления коллагеновых волокон, по Шуенинову — на фибрин.

Морфометрические исследования осуществлялись с помощью компьютерной системы анализа цветового изображения «Диа Морф» (Россия) и сетки для «точечного счета». При этом определяли диаметр (в мкм) и количество ацинозных клеток

в ацинусе и панкреатических островках соответственно, количество кровеносных сосудов и выводных протоков на условной единице площади. Полученные количественные показатели подвергались статистической обработке с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате подбора режимов в остром опыте выяснилось, что при мощности лазерного излучения 3, 4, 5 Вт независимо от времени воздействия в ткани сразу отмечалось обугливание. Световод свободно входил в ткань, она закипала, вокруг образовывалась зона карбонизации и кровоизлияний, что не соответствовало задачам эксперимента.

При мощности 2 Вт происходила туннелизация, но появлялась зона кровоизлияний.

Напротив, при мощности 1 Вт независимо от экспозиции лазерную туннелизацию выполнить не удалось.

Туннелизации органа удавалось добиться при мощности воздействия 1,5 Вт и экспозиции 20 сек.

Наибольшую эффективность туннелизации удалось добиться при мощности 1,7 Вт и длительности воздействия 3–5 сек, с минимальными видимыми изменениями вокруг туннеля.

Принимая во внимание полученные данные и характер изменений в ткани, для дальнейшей работы была выбрана средняя мощность воздействия 1,7 Вт в непрерывном режиме. При этой мощности были проведены дальнейшие вмешательства на поджелудочной железе.

На втором этапе эксперимента удалось воспроизвести модель хронического панкреатита. При гистологическом исследовании препаратов поджелудочной железы на 7-е сутки после создания модели хронического панкреатита определялись фокусы некроза ацинусов и панкреатических островков, инфильтрированные гранулоцитами и гистиоцитами (рис. 2).

На границе зоны некроза с неповрежденными тканями отмечалось формирование узких тяжей грануляционной ткани. Междольковые соединительнотканые перегородки были отечны, инфильтрированы лимфоцитами и гранулоцитами, с полнокровными сосудами и диффузными кровоизлияниями (рис. 3).

Выводные протоки были неравномерно расширены, эпителий их метаплазирован. В капсуле железы определялись отек тканей, полнокровие сосудов, диапедезные кровоизлияния, лимфоцитарная и гранулоцитарная инфильтрация (рис. 4).

Через 30 суток перевязанная доля железы была уменьшена в размерах по сравнению интактной долей, представляла собой уплотненный тяж.

При гистологическом исследовании препаратов поджелудочной железы на 30-е сутки обнаруживались дольки неодинаковой величины. В островках Лангерганса определялись крупные клетки со светлой цитоплазмой и увеличенными ядрами, полнокровие капилляров. Строма железы была представлена разрастанием широких пластов соединительной ткани, инфильтрированной одиночными лимфоцитами и гистиоцитами (рис. 5). Протоки всех калибров были расширены и деформированы в разной степени, содержали иногда эозинофильный секрет, стенки протоков были с очаговыми разрастаниями соединительной ткани, эпителий уплощен, на отдельных участках отсутствовал. В отдельных протоках определялись папиллярные структуры и аденоматозные разрастания (рис. 6).

Таким образом, воспроизведенная в эксперименте на собаках модель хронического панкреатита характеризовалась развитием склеротических и атрофических процессов в органе.

Исходя из результатов собственного экспериментально-морфологического исследования и сопоставления их с данными литературы, мы пришли к заключению, что модель хронического панкреатита у собак может служить основой для изучения процессов регенерации и обратимости склеротических изменений поджелудочной железы в условиях воздействия на нее высокоинтенсивного лазерного излучения.

В третьей серии опыта на 1-е сутки после лазерного воздействия при гистологическом исследовании препаратов поджелудочной железы обнаруживались частицы ожогового струпа желтовато-черного цвета с зоной коагуляционного некроза.

При этом воспалительная реакция была слабо выраженной. Немногочисленные гранулоциты локализовались преимущественно в наружных частях струпа. На границе с зоной некроза определялись венозное полнокровие, диапедезные кровоизлияния, отек тканей, незначительные дистрофические изменения в клетках ацинусов и панкреатических островков. Здесь же отмечалась коагуляция сосудов с образованием в них обтурирующих гиалиноподобных тромбов, коагуляция выводных протоков с закупоркой их просветов ожоговым струпом.

На 7-е сутки фокусы коагуляционного некроза ограничивались от неповрежденной паренхимы узким слоем грануляционной ткани, в которой преобладала пролиферация фибробластов и эндотелиоцитов с формированием волокнистых структур и капилляров. На границе с неповрежденными тканями отмечалась пролиферация мелких выводных протоков (рис. 7). Наряду с этим регистрировалось увеличение

диаметра (с $6,6 \pm 0,8$ до $12,6 \pm 0,6$ мкм ($p < 0,05$)) и числа ацинозных клеток (с $4,3 \pm 0,8$ до $13,6 \pm 0,8$ мкм ($p < 0,05$)), содержания кровеносных сосудов (с $5,3 \pm 0,8$ до $10 \pm 1,1$ ($p < 0,05$)) по отношению к таким же показателям поджелудочной железы при ее экспериментальном хроническом панкреатите.

При гистологическом исследовании препаратов поджелудочной железы на 14-е сутки определялось замещение очагов некроза соединительной тканью, в которой отмечалась пролиферация мелких выводных протоков, а также эндотелиоцитов с формированием капилляров (рис. 8). В то же время определялось достоверное увеличение содержания кровеносных сосудов (с $5,3 \pm 0,8$ до $15 \pm 1,7$ ($p < 0,05$)) и выводных протоков (с $8,3 \pm 0,8$ до $13,3 \pm 1,4$ ($p < 0,05$)) на условной площади по отношению к таким же показателям поджелудочной железы при ее экспериментальном хроническом панкреатите. Увеличились также диаметр (с $12,6 \pm 0,6$ до $14,3 \pm 0,3$ мкм ($p < 0,05$)) и число ацинозных клеток (с $13,6 \pm 0,8$ до $15,3 \pm 1,4$ мкм ($p < 0,05$)), количество кровеносных сосудов (с $10 \pm 1,1$ до $15 \pm 1,7$ ($p < 0,05$)) на условной площади по сравнению с предыдущим сроком опыта.

При микроскопическом исследовании поджелудочной железы на 30-е сутки в зоне лазерного воздействия отмечались очажки рубцовой васкуляризированной ткани.

В рубцовой ткани и по краю ее определялись островки ацинозной паренхимы, выводные протоки и кровеносные сосуды (рис. 9).

Морфометрическое исследование свидетельствовало о том, что количество кровеносных сосудов

($19,0 \pm 1,1$) и выводных протоков ($16,0 \pm 1,7$) на условной площади были достоверно больше ($5,3 \pm 0,8$ и $8,3 \pm 0,8$ соответственно ($p < 0,05$)) по сравнению с аналогичными показателями поджелудочной железы при ее экспериментальном хроническом панкреатите.

Таким образом, экспериментальный хронический панкреатит у собак характеризуется развитием атрофических и склеротических изменений, сопровождающихся уменьшением массы поджелудочной железы и ее функциональной недостаточностью. Очаговое лазерное туннелирование поджелудочной железы в выбранных параметрах сопровождается незначительной травматизацией ее тканей, надежным гемостазом и отсутствием истечения панкреатического сока в зоне операции за счет коагуляции крови в сосудах и obturации выводных протоков ожоговым струпом, что препятствует развитию острого панкреатита и перитонита и не требует дополнительной хирургической обработки лазерной раны. В склеротически измененной поджелудочной железе после лазерного воздействия в динамике наблюдения регистрируется выраженная гиперплазия и гипертрофия ацинозных клеток, увеличение числа кровеносных сосудов и выводных протоков на условной площади, снижение объемной доли фиброзной ткани. Результаты собственного экспериментально-морфологического исследования свидетельствуют о возможности стимуляции регенераторных процессов в поджелудочной железе и развитии обратимости склеротических изменений органа с помощью лазерного туннелирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беришвили И. И. Трансмиокардиальная лазерная реваскуляризация/И. И. Беришвили, И. Ю. Ситаев, А. А. Хеминский // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. — 1998. — № 6. — С. 49.
2. Багненко С. Ф. Хронический панкреатит/С. Ф. Багненко, А. А. Курьин, Н. В. Рухляда, А. Д. Смирнов // Руководство для врачей. — СПб.: Питер, 2000. — 416 с.
3. Бокерия Л. А. Трансмиокардиальная и эндомиокардиальная лазерная реваскуляризация — новый метод хирургического лечения ишемической болезни сердца/Л. А. Бокерия // Минимально инвазивная хирургия сердца. — М.: НЦССХ РАМН им. А. Н. Бакулева, 1998. — С. 23–40.
4. Гальперин С. И. Физиология человека и животных/С. И. Гальперин, К. П. Голышева. — М.: Высшая школа, 1965. — 571 с.
5. Губергриц Н. Б. Лечение панкреатитов/Н. Б. Губергриц // Ферментные препараты в гастроэнтерологии. — М.: Медпрактика, 2003. — 100 с.
6. Данилов М. В. Хирургическая тактика при хроническом панкреатите/М. В. Данилов // Рос. журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктолог. — 2000. — № 2. — С. 75–80.
7. Евдокимов С. В. Трансмиокардиальная лазерная реваскуляризация у больных с рефрактерной стенокардией (ближайшие результаты)/С. В. Евдокимов // Лазерная медицина. — 2005. — № 9 (2). — С. 13–15.
8. Хазанов А. И. Основные подходы к лечению хронического панкреатита/А. И. Хазанов // Российские медицинские вести. — 1997. — № 2. — С. 4–10.
9. Шалимов С. А. Руководство по экспериментальной хирургии/С. А. Шалимов, А. П. Радзиховский, Л. В. Кейсевич. — М.: Медицина, 1989. — 270 с.
10. Allen K. B. Comparison of transmyocardial revascularization with medical therapy in patients with refractory angina/K. B. Allen, R. D. Downing, T. L. Fudge // N. Engl. J. Med. — 1999. — Vol. 341. — P. 1029–1036.
11. Donatelli F. Transmyocardial laser revascularization in patients with peripheral coronary atherosclerosis. Indications and preliminary results/F. Donatelli, M. Triggiani, G. D'Ancona // G. Ital. cardiol. — 1997. — Vol. 27. — № 5. — P. 430–435.
12. Eckhauser F. Subtotal Pancreatectomy for Chronic Pancreatitis/F. Eckhauser, R. Cowles, L. Colletti // World journal of Surg. — 2003. — Vol. 27. — P. 1231–1234.
13. Horvath K. A. Transmyocardial Laser Revascularization/K. A. Horvath // Curr Treat Options Cardiovasc Med. — 2004. — Vol. 6. — № 1. — P. 53–59.