

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОКСИТОЦИНА ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХОЛАНГИТЕ

В экспериментальном исследовании изучены репаративные процессы в печени, желчевыводящих путях при остром гнойном холангите в условиях экзогенного введения окситоцина. Отмечено уменьшение выраженности некробиотических изменений паренхиматозных и протоковых структур серии опытов применения окситоцина. Выявлено, что окситоцин создает необходимые условия для адекватной реализации структурами органа своих гистобластических и регенераторных потенциалов.

Ключевые слова: окситоцин, репаративные процессы в печени и желчевыводящих путях, острый гнойный холангит

Актуальность

Проблема желчнокаменной болезни остается одной из наиболее актуальных в современной хирургии в связи с неуклонным увеличением количества больных с холелитиазом и ростом числа осложнений этого заболевания [5], что нередко приводит к длительной утрате трудоспособности, а в некоторых случаях представляет опасность для жизни больного [4].

Одной из причин отсутствия заметного улучшения результатов лечения гнойного холангита является увеличение доли затяжных и хронических форм, не поддающихся стандартной антибиотикотерапии, из-за поливалентной устойчивости микроорганизмов к применяемым противомикробным препаратам [2].

Высокая толерантность микрофлоры желчных путей к антибиотикам широкого спектра действия диктует необходимость поиска новых препаратов, обладающих антимикробными свойствами, а также оптимизирующих репаративный гистогенез. В последние годы в схемы местной антибактериальной терапии при различных инфекционно-воспалительных процессах различной локализации стали вводить гипоталамический гормон окситоцин.

Экспериментально-гистологическими и клиническими исследованиями обоснована эффективность использования этого нейропептида в комплексном лечении осложнений острого панкреатита [7], гнойно-некротических поражений стоп и кистей [6], печени [3], при острых гнойно-воспалительных заболеваниях легких и плевры [1].

Вместе с тем до настоящего времени нет сведений о механизме действия окситоцина в

комплексном лечении холангитов доброкачественного генеза.

Цель

Целью настоящего исследования явилась морфофункциональная оценка состояния тканевых элементов желчеотводящих путей и микробиоценоза протоковой желчи при экспериментальном холангите в условиях экзогенного введения окситоцина.

Материал и методы

Выполнено 4 серии опытов на 48 животных – беспородных белых крысах-самцах, массой 280-300 г.

В 1-й серии (12 крыс) с соблюдением правил асептики и антисептики под эфирным наркозом производили верхнесрединную лапаротомию, выделяли общий желчный проток и создавали модель механической желтухи путем перевязки d. choledochus. Послеоперационная рана зашивалась наглухо.

Во 2-й серии опытов (12 животных) создавали модель острого гнойного холангита путем инфицирования билиарной системы на фоне механической желтухи введением в просвет общего желчного протока взвеси E. coli 196 концентрацией $0,95 \times 10^5$ КОЕ в 1 мл (0,4 мл на 1 кг). Послеоперационная рана ушивалась однорядным непрерывным швом наглухо, через все слои. Лечение в данной группе не проводилось.

В 3-й серии опытов (12 животных) создавали модель гнойного холангита на фоне механической желтухи по вышеописанной методике. Спустя сутки выполнялась релапаротомия, дренирование расширенного общего желчного протока. В качестве дренажа использовали под-

ключичный катетер №12, через который осуществлялась декомпрессия d. choledochus. Просвет трубки закрывался во время операции. Декомпрессию начинали со следующих суток. Лечение острого гнойного холангита проводилось традиционным способом. Животные получали антибиотик цефоперабол внутримышечно 2 раза в сутки по 20 мг. Местное лечение осуществлялось дренированием инфицированных желчных путей и промыванием их 1% раствором диоксида.

В 4-й серии опытов (12 животных) изучалось лечебное действие окситоцина и антибиотика. Животные получали антибиотик (цефоперабол) внутримышечно, а в просвет желчных протоков – окситоцин (производство фирмы «GEDEON RICHTER») в дозе 0,015 ЕД + антибиотик (цефоперабол) (2 раза в сутки).

Из опыта животные выводились передозировкой эфира через 3, 5, 7 и 10 суток.

Течение острого гнойного холангита оценивали по динамике клинико-лабораторных показателей, а также по общему состоянию животных (слабость, отсутствие аппетита, гибель). При гистологической обработке полученного материала (фрагменты билиарной системы) использованы методы световой, электронной микроскопии и иммунной цитохимии (идентификация экспрессии про- и антиапоптотических генов P 53 и Bcl 2). Исследование состава микрофлоры инфицированных желчных путей проведено у всех животных перед началом лечения и на 3, 5, 7, 10 сутки. Видовая принадлежность микрофлоры определялась методом мазка с последующей его бактериоскопией и бактериологическим исследованием. Для определения чувствительности микрофлоры к антибиотикам использован метод бумажных дисков.

Результаты и обсуждения

В первой серии опытов на 3-и сутки эксперимента обнаружено резкое расширение желчных капилляров и холангиол, с явлениями кардиопикноза и десквамации эпителиоцитов, а также лейкоцитарная и полиморфноклеточная инфильтрация стенки холедоха. На 5-е сутки опыта отмечались мозаичное деструктивное повреждение гепатоцитов, островковые некрозы паренхимы печени на значительном протяжении.

Через 7 и 10 суток эксперимента отмечается выраженное усугубление вышеописанной

морфологической картины. Сохраняются значительные участки некрозов паренхимы печени, замещающиеся соединительной тканью. Желчеотводящие пути резко расширены, внепеченочные желчные протоки приобретают вид кистозных образований, окруженные подлежащими соединительнотканными элементами.

Макроскопически обнаружено расширение внепеченочных желчных протоков до 2 мм на 3-и сутки эксперимента (в норме его диаметр составляет до 1 мм), до 3 мм на 5-е сутки, до 5 мм на 7-е сутки и до 7 мм на 10, сутки. Характерным было значительное истончение стенок холедоха. Отмечено увеличение печени в размерах и изменение ее цвета от коричневого до мускатного. Клинически патологическое состояние проявлялось повышенной возбудимостью животных и нарастанием проявлений эндотоксикоза.

Во второй серии опытов на третьи сутки в печени регистрируются гнойники, не ограниченные пиогенными мембранами. В ряде случаев обнаружены поддиафрагмальные абсцессы. На 5-е сутки на фоне нарушения цитоархитектоники печеночных балок и желчных капилляров преобладают микроабсцессы.

В условиях инфицирования отмечается усиление гипертензии, мощное перифокальное воспаление и отек по сравнению с животными первой серии. На 5-е, 7-е, 10-е сутки гнойно-некротические процессы приобретают генерализованный характер и в гистопрепаратах отмечаются зоны сплошных некрозов печеночной паренхимы.

В слизистой оболочке желчеотводящих путей преобладают дистрофические и некробиотические процессы. В микроциркуляторном русле выявлялись: стаз форменных элементов крови и тромбообразование.

Отмечен дизрегенераторный характер воспаления в холедохе, без отчетливо выраженной фазы пролиферации. Это нашло свое подтверждение и в ходе иммуноцитохимических исследований, в частности показавших возрастание численности холангиоцитов с признаками апоптоза во все сроки наблюдений.

Макроскопически также отмечено расширение внепеченочных желчных путей, к 7-м и 10-м суткам расширение холедоха достигало 1,0 см в диаметре. Стенки холедоха были уплотнены и утолщены до 1 мм. К 5-м суткам эксперимента у животных формировался воспалительный ин-

фильтрат в подпеченочном пространстве с плотными спайками и сращениями. Практически во всех случаях на секции обнаруживались внутрипеченочные абсцессы, диаметр которых варьировал от 0,1 до 0,2 см. Клинические проявления интоксикации во второй серии опытов были более выражены, чем в первой серии, при этом летальность составила 81%. Максимальное число животных погибло на вторые сутки эксперимента, причиной смерти явился бактериальный шок.

При электронно-микроскопическом исследовании отмечалось набухание митохондрий с просветлением матрикса и дезорганизацией крист, уменьшение числа свободных рибосом, нарушение цитоскелета, уменьшение количества микрофиламентов. Отмечалось увеличение экспрессии проапоптотического белка p-53 и дистрофических изменений холангиоцитов к 7-м суткам эксперимента в обеих сериях. Митотический индекс на 3-и сутки эксперимента ни в 1-й, ни во 2-й серии эксперимента не определялся. На 7-е сутки в 1-й серии он составил $0,8 \pm 0,01\%$, во 2-й серии – $1,4 \pm 0,13\%$.

Исследуя объекты, изъятые из области гнойно-некротического поражения печени и внепеченочных желчных протоков экспериментальных животных, в комплексном лечении которых применялся окситоцин, мы получили существенные морфологические отличия в характере течения гнойного холангита. Это прежде всего проявилось в уменьшении выраженности некробиотических изменений паренхиматозных и протоковых структур. На стадиях 3-7 суток опыта в 2,5-3 раза уменьшилось количество тромбированных и сладжированных сосудов микроциркуляторного русла. Одновременно усиливались регенераторные потенции эндотелиоцитов, фибробластов, периваскулярных клеток.

Правомочность подобного суждения подтверждена полученными нами результатами, свидетельствующими о том, что через 3, и особенно 7 суток использования окситоцина происходит усиление васкулогенеза в демаркационных зонах, где интенсивно развивается малодифференцированная соединительная ткань с формированием новых петель гемокapилляров.

Следует заметить, что при использовании окситоцина понижается численность деструктивно измененных полиморфноядерных лейкоцитов. С другой стороны, на их смену приходят гистиоцитарные и моноцитарные макрофаги,

активно лизирующие бактерии и фрагменты поврежденных тканей.

Следует отметить, что при использовании окситоцина гетероморфизм фибробластов был более выражен. Эти клетки, как правило, имели крупные ядра с дисперсным хроматином, 1-2 ядрышка. Через 7 суток эксперимента появлялись зрелые, коллагенсинтезирующие клетки и фиброциты. Они концентрировались по краю детритных масс, отграничивая их от жизнеспособных тканей. Уже в ранние сроки опытов введение окситоцина существенно стимулировало деятельность макрофагов. Эти наблюдения позволили нам сделать заключение о том, что введение окситоцина создает благоприятные условия не только для развития грануляционной соединительной ткани, но и для адекватной реакции важнейших элементов, организующих «поле воспаления», – макрофагов.

Через 3 суток в новообразованной грануляционной ткани отмечены эпителиальные разрастания в виде тяжей, трубочек, островков. На стадии 7 суток в них происходят процессы вторичной функциональной цитодифференцировки. Следует также отметить существенное уменьшение декомплексированных гепатоцитов.

При бактериологическом исследовании протоковой желчи в процессе лечения на 3-5-е сутки отмечалась высокая частота бактериохоллии в обеих группах. В группе, где применялся только цефоперабол, она преобладала и составляла 96,7%. В группе с окситоцином и антибиотиком уже к 7-10-м суткам частота бактериохоллии снизилась на 7,4% и составляла 89,1%, в то время как при использовании только цефоперабола 100%. Между анализируемыми группами наблюдались отличия и по компонентно-видовому составу микрофлоры. В группах с применением окситоцина и антибиотика и с применением только цефоперабола доля монофлоры к 3-5-м суткам составляла 64,6% и 47,2%, а к 7-10-м суткам 70,3% и 57,2% соответственно. Снижение микстфлоры в группе, где применялся окситоцин и антибиотик, составляло с 30,4% до 28,0% к 3-5-м суткам и до 18,8% – к 7-10-м суткам. В то же время при антибактериальной терапии снижение микстфлоры отмечалось только к 7-10-м суткам до 42,8%.

Выводы

1. В моделируемых условиях и тщательном морфологическом исследовании были обоснова-

ны критерии гистологической оценки холангита: истончение, дистрофия тканевых структур; опережающее развитие (гиперплазия) рубцовой соединительнотканной ткани, нарушающее проходимость холангиол; дистрофические изменения эпителиоцитов, гладких миоцитов; изъязвления слизистой оболочки на фоне и обтурации просвета желчевыводящих протоков, с формированием псевдополипов с лимфогистиоцитарной инфильтрацией стромальных элементов; увеличение экспрессии белка Р 53 как критерий, усугубляющий течение гнойно-некротических процессов.

2. Отсутствие в регенерате выраженных признаков гнойного воспаления, ускоренное и

адекватное развитие малодифференцированной соединительной ткани, активизация макрофагов, стимуляция репаративных гистогенозов обосновывают целесообразность включения нейропептидов в комплекс лечебных мероприятий при гнойном холангите.

3. Сравнив микробиологические параметры исследуемых групп, установлено, что при применении окситоцина отмечается снижение бактериохолии и степени обсемененности желчи. Динамика видового состава имеет тенденцию к снижению ассоциаций бактерий и росту монофлоры в группах, в которых применялся окситоцин.

Список использованной литературы:

1. Абрамзон О.М. Биологические свойства возбудителей и их коррекция при острых гнойных заболеваниях легких и плевры: Автореф. дис. ... док. мед. наук. – Оренбург, 2004.
2. Ерюхин И.А., Гельфанд Б.Р., Шляпников С.А. Хирургические инфекции. СПб.: Питер, 2003.
3. Климушкин А.В. Экспериментально-морфологическое обоснование применения деминерализованной костной губки для ликвидации остаточных полостей печени: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Оренбург, 2003.
4. Королев Б.А., Пиковский Д.Л. Экстренная хирургия желчных путей. - М., Медицина, 1990.
5. Майстренко Н.А., Стукалов В.В. Холедохолитиаз. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2000.
6. Сивожелезов К.Г. Комплексное лечение гнойно-воспалительных заболеваний пальцев и кисти: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Оренбург, 2005.
7. Стадников Б.А. Клинико-экспериментальное обоснование применения нейропептидов и гиалуроновой кислоты в комплексном лечении осложнений острого панкреатита: Автореф. дис. ... док. мед. наук. – Оренбург, 2005.