



УДК 616.36–008.8+616.381–002]–092.4

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РІЗНИХ СПОСОБІВ МОДЕЛЮВАННЯ ЖОВЧНОГО ПЕРИТОНІТУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

**М. Ю. Ничитайло, Ю. О. Фурманов, А. І. Гуцуляк, І. М. Савицька,
М. С. Загрійчук, А. В. Гоман**

Національний інститут хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова НАМН України, м. Київ

COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF VARIOUS METHODS OF SIMULATION OF BILIARY PERITONITIS IN EXPERIMENT

**M. Yu. Nichitaylo, Yu. O. Furmanov, A. I. Gutsulyak, I. M. Savytska,
M. S. Zagriychuk, A. V. Goman**

Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology, Kyiv

Жовчний перитоніт (ЖП) є одним з найбільш тяжких ускладнень після операцій на органах гепатобіліарної зони. Удосконалення існуючих та розробка нових підходів до лікування ЖП потребує створення надійних експериментальних моделей цього захворювання. Моделювання ЖП можливе в трьох принципово різних напрямках: поступового формування, гострого та просо-чувального ЖП [1].

Більшість авторів [2 – 4] при моделюванні експериментального ЖП використовують способи, спрямовані на створення дефекту в біліарній системі, через який жовч безпосередньо потрапляє в черевну порожнину (білоперитонеальна фістула) або в який вводять трубку чи катетер, і жовч потрапляє в черевну порожнину. Перфорація ЖМ чи пошкодження позапечінкових жовчовивідних шляхів створює умови для потрапляння ендогенної жовчі, що міститься в їх просвіті, в черевну порожнину та поступового формування перитоніту, що найбільше відповідає перебігу патологічного процесу у людини.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

За основу нашої моделі взятий спосіб моделювання ЖП О. В. Білоо-

Реферат

В експерименті на кролях проведений порівняльний аналіз різних способів моделювання жовчного перитоніту (ЖП). У 6 тварин ЖП моделювали шляхом перфорації жовчного міхура (ЖМ), місцевий серозно—фібринозний перитоніт виник у 50% з них. У 7 тварин ЖП моделювали шляхом введення в черевну порожнину медичної стерильної жовчі в об'ємі від 5 до 40 мл. Розлитого перитоніту з випотом та нашаруваннями фібрину не було. Найбільш ефективним виявився спосіб, коли інтрачеревинно вводили жовч в поєднанні з культурою *E. coli* з розрахунку 0,33 МкФ ($1,0 \times 10^8$ КУО/мл) на 1 кг маси тіла тварини. Розлитий ЖП виник в усіх 23 тварин, в тому числі серозно—фібринозний — у 17 (76%), гнійно—фібринозний — у 6 (24%).

Ключові слова: жовчний перитоніт; експериментальна модель; *E. coli*.

Abstract

In experiment on rabbits a comparative analysis of various methods of a biliary peritonitis simulation was conducted. In 6 animals a biliary peritonitis was simulated, using perforation of a gallbladder, local serous—fibrinous peritonitis have occurred in 50% of them. In 7 animals biliary peritonitis was simulated, applying intraabdominal injection of medical sterile bile in a 5—40 ml volume. Diffuse peritonitis with exudates and stratification of fibrin was absent. Most effective method have appeared that, when intraabdominal injection of bile was done together with *E. coli* culture in the rate of 0.33 microbial bodies McF (1.0×10^8 CFU/ml) on 1 kg of the animal body mass. Diffuse biliary peritonitis have occurred in all 23 animals, including serous—fibrinous one — in 17 (76%), and purulent—fibrinous — in 6 (24%).

Key words: biliary peritonitis; experimental simulation; *E. coli*.

кого [2], що передбачає створення за допомогою термокоагуляції дефекту в стінці спільної жовчної протоки. Спосіб моделювання ЖП з використанням аутожовчі відтворений на 6 кролях. Оперативне втручання виконували під загальним знеболенням шляхом введення в дистальні відділи черевної порожнини 3 мл 5% розчину тіопентал натрію в поєднанні з 6 мл 0,1% розчину пропофо-

лу—ново. Тваринам здійснювали верхню середину мінілапаротомію, ідентифікували ЖМ та перфорували його шляхом розсічення скальпелем стінки в ділянці дна, довжина розрізу до 0,8 см. При цьому в черевну порожнину потрапляло 1,5 — 3 мл жовчі, що містилася в ЖМ. Після контролю гемостазу черевну порожнину пошарово зашивали наглухо. Всі тварини успішно виведені з

наркозу. Одна тварина загинула протягом 24 год після першої операції. За даними патологоанатомічного дослідження, виявлений розлитий серозно—фібринозний перитоніт, в черевній порожнині містилося до 100 мл серозного випоту з домішками жовчі, очеревина вкрита нашаруванням фібрину. Інші тварини почувалися нормально і через 24 (3 тварини) або 48 (2 тварини) год після першої операції їм здійснювали повторну лапаротомію, під час якої оцінювали вираженість та вид перитоніту. У 3 кролів виявлений місцевий серозно—фібринозний перитоніт, що проявлялося нашаруванням фібрину на органах черевної порожнини в правій підребровій ділянці, гіперемією очеревини у правій бічній ділянці, жовчі та випоту в черевній порожнині не було. У 2 кролів ознаки перитоніту не виявлені.

Такі суперечливі результати, на нашу думку, пов'язані з недостатньою кількістю жовчі, що виділялася в черевну порожнину через створений дефект в стінці ЖМ, відсутністю запальних змін у черевній порожнині в момент пошкодження та захисними можливостями організму, які перевищували патологічний вплив змодельованої травми ЖМ, обмежували запальний процес в ділянці травми, запобігали виникненню розлитого перитоніту. Отже, хоча ця методика найбільш наближена до реальних механізмів формування ЖП, проте, вона не є стабільною і не дає можливості контролювати (прогнозувати) вид і поширення перитоніту. Цей спосіб може бути використаний для створення моделі місцевого ЖП, проте, не придатний для моделювання розлитого ЖП.

Інший спосіб моделювання ЖП передбачав введення в черевну порожнину стерильної жовчі [5]. Така модель застосована у 7 кролів. Використовували стерильну медичну жовч, яку вводили тваринам внутрішньоочеревинно в різній кількості. Маніпуляцію проводили без наркозу, з метою безпечного введення тваринам надавали положення вниз головою, що забезпечувало

зміщення органів черевної порожнини в проксимальному напрямку, жовч вводили шприцем шляхом пункції по білій лінії живота в дистальній частині черевної порожнини. Всі тварини перенесли процедуру задовільно. Початкова доза жовчі 5 мл, у кожній наступній тварини дозу збільшували на 5 мл і доводили до 40 мл. Через 24 год здійснювали лапаротомію, нечіткі ознаки запалення очеревини у вигляді її гіперемії виявлені тільки у тварини, якій введено 40 мл жовчі. Розлитого перитоніту з випотом та нашаруванням фібрину не було. Також не виявлено вільної жовчі в черевній порожнині через 24 год після її введення, навіть в об'ємі понад 10 мл на 1 кг маси тіла. Отже, стерильна жовч, введена в черевну порожнину інтактних тварин, не спричиняла перитоніту.

Іншим методом моделювання ЖП було введення в черевну порожнину жовчі в поєднанні з патологічним субстратом. Прототипом такої моделі були результати досліджень інших авторів [6 — 8].

Деякі автори [6] моделювали ЖП у щурів шляхом інтраперитонеального введення *E. coli* 3×10^8 КУО/мл разом з 1 мл жовчі чи ізотонічного розчину натрію хлориду; інші — шляхом одномоментного введення чужорідної жовчі з культурою *E. coli* в черевну порожнину через поліхлорвінілову трубку [7]; інші в черевну порожнину експериментальних тварин під час мікролапаротомії

вводили суспензію, що містила клінічні штами *E. coli* (10^9 КУО/мл) та *B. fragilis* (10^8 КУО/мл) з розрахунку 7,5 мл/кг маси тіла і аутокров (1 мл/кг маси тіла) [8]. При моделюванні окремих видів перитоніту, залежно від етіології (перфорація кишки, холецистит, апендицит тощо), як ад'ювант пропонували додавати відповідний субстрат (хімус, жовч, кал тощо).

Узагальнивши досвід цих авторів, ми вирішили як збудник використати культуру *E. coli*. Також під час експерименту було встановлено, що доза *E. coli* 1 МкФ (3×10^8 КУО/мл) на 1 кг маси тіла тварини є занадто великою (загинула одна тварина), тому дозу зменшили спочатку до 0,5 МкФ ($1,5 \times 10^8$ КУО/мл), а потім до 0,33 МкФ (1×10^8 КУО/мл) на 1 кг маси тіла. Такої кількості збудника виявилося достатньо для виникнення розлитого перитоніту. Також збільшено кількість жовчі як основного етіологічного чинника виникнення ЖП.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Цей спосіб моделювання ЖП використаний у 23 тварин, яким вводили лабораторну культуру *E. coli* 0,33 МкФ (1×10^8 КУО/мл) на 1 кг маси тіла з додаванням до стерильної медичної жовчі з розрахунку 2 мл на 1 кг маси тіла кроля. Таким чином, середньостатистичному кролю масою тіла 3 кг вводили 9 мл суспензії, що включала 6 мл жовчі і 3 мл куль-



Рис. 1.
Інтраопераційне фото.
Розлитий серозно-фібринозний перитоніт. Гіперемовані, роздуті петлі тонкого та товстого кишечника з нашаруванням фібрину.



Рис. 2.
Інтраопераційне фото.
Розлитий гнійно-фібринозний перитоніт. Нашарування фібрину на паретично-запалених петлях кишечника, мутний гнійний випіт по правій бічній ділянці черевної порожнини.

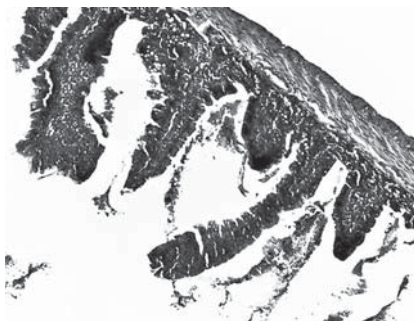


Рис. 3.
Мікрофото.
Стінка тонкої кишки. Виражена десквамація епітеліоцитів ворсинок. Забарвлення гематоксилином та еозином.
Зб. $\times 100$.

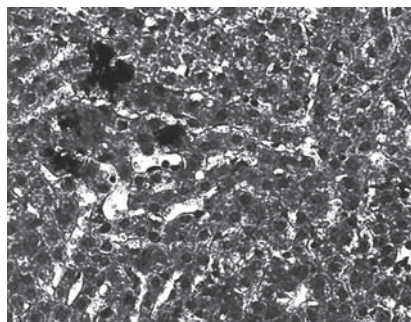


Рис. 4.
Мікрофото.
Повнокров'я капілярів, збільшені зірчасті ретикулоендотеліоцити з фагоцитованим матеріалом. Забарвлення гематоксилином та еозином.
Зб. $\times 400$.

тури *E. coli*. Спосіб введення аналогічний такому в попередній методиці — шприцем шляхом пункції по білій лінії живота в дистальній частині черевної порожнини. Всі кролі маніпуляцію перенесли задовільно.

Через 24 год після моделювання ЖП всі тварини були мляві, у деяких з них спостерігали серозні виділення з носових ходів, рідкі випороження. Під час лапаротомії в усіх кролів виявлений розлитий жовчний перитоніт, в тому числі у 17 — серозно—фібринозний, у 6 — гнійно—фібринозний. Макроскопічно в черевній порожнині спостерігали виражені ознаки запалення. При серозно—фібринозному перитоніті в черевній порожнині виявляли помірну кількість (50 — 100 мл) прозорого випоту світло—жовтого забарвлення з домішками фібрину, що в основному локалізувався у бічних ділянках. Петлі тонкого та товстого кишечника дещо роздуті, значно гіперемовані (судини розширені, кровонаповнені), стінки кишки ін-

фільтровані, набрякли, з нашаруванням фібрину, перистальтика ослаблена (рис. 1). Печінка застійна, тьмяна, з нашаруванням фібрину. Стінка ЖМ гіперемована, дещо набрякла. При гнійно—фібринозному перитоніті випіт мутний, об'єм 150 — 300 мл, ознаки запалення в черевній порожнині більш виражені, пристінкова і нутроцева очеревина тьмяна (рис. 2).

Через 24 год після введення культури *E. coli* для підтвердження патологічних змін органів черевної порожнини при розлитому перитоніті проведено патоморфологічне дослідження кишечника та печінки.

За даними гістологічного дослідження стінки тонкого кишечника виявлене порушення мезотеліальної устилки серозної оболонки. На значних ділянках мезотеліальний шар відсутній. Гладеньком'язові волокна м'язової оболонки з помірно вираженими ознаками дистрофічних змін, спостерігали повнокров'я судин (переважно капілярів і вен)

м'язової оболонки і особливо підслизового прошарку. Нейрони підслизового і м'язового нервових сплетень дистрофічно—змінені. В слизовій оболонці відзначена підвищена десквамація епітеліоцитів з поверхні ворсинок (рис. 3).

В печінці синусоїдні капіляри значно розширені. Строма набрякла, помірно інфільтрована лімфоцитами. Спостерігали венозне повнокров'я по всьому препарату. Гепатоцити з ознаками зернистої дистрофії. Зірчасті ретикулоендотеліоцити значно збільшені, цитоплазма заповнена великими практично чорними гранулами (рис. 4).

Цей спосіб моделювання ЖП виявився ефективним, дозволив стабільно відтворювати розлитий перитоніт в усіх дослідних тварин. Запальні зміни в черевній порожнині, в тому числі в органах гепатобілярної зони, можна вважати ідентичними чи навіть більш вираженими, ніж ті, що виникають під час формування ЖП у людини при гострих захворюваннях та травмі органів гепатобілярної системи.

ВИСНОВКИ

1. Стерильна медична жовч, введена інтраперитонеально навіть у великій кількості (понад 10 мл на 1 кг маси тварини), не спричиняє перитоніт.

2. При перфорації ЖМ місцевий перитоніт модельований майже у 50% тварин.

3. Найбільш ефективним способом моделювання розлитого ЖП є методика, що передбачає введення в черевну порожнину суспензії культури *E. coli* в поєднанні з жовчю. Цей спосіб дозволяє моделювати розлитий ЖП в усіх тварин.

ЛІТЕРАТУРА

- Білокий В. В. Моделювання експериментального жовчного перитоніту / В. В. Білокий // Клін. анатомія та оператив. хірургія. — 2003. — Т. 2, № 3. — С. 39 — 42.
- Пат. 97060 Україна, МПК А61В 17/00. Спосіб моделювання жовчного перитоніту / О. В. Білокий, Ф. В. Гринчук, Ю. Є. Роговий, В. В. Білокий (Україна); власник патенту Буковин. держ. мед. ун.—т. — № u201410761; заявл. 02.10.14; опубл. 25.02.15. Бюл. № 4.
- Пат. 58346 Україна, МПК 09В23/28. Спосіб моделювання гострого перитоніту / М. В. Дикий, Р. І. Сидорчук, Р. П. Кнут (Україна); власники патенту М. В. Дикий, Р. І. Сидорчук, Р. П. Кнут. — № 2002119485; заявл. 28.11.02; опубл. 15.07.03. Бюл. № 7.
- Шкрадюк А. В. Новая модель желчного перитонита / А. В. Шкрадюк, Э. Р. Джемилева // Клін. анатомія та оператив. хірургія. — 2005. — Т. 4, № 2. — С. 99 — 101.
- Білокий В. В. Морфологічні аспекти введення стерильної жовчі в очеревинну порожнину / В. В. Білокий // Там же. — 2004. — Т. 3, № 3. — С. 39.
- Andersson R. Effect of bile on live rfunction tests in experimental *E. coli* peritonitis in the rat / R. Andersson, H. E. Poulsen, B. Ahren // Hepatogastroenterology. — 1991. — Vol. 38, N 5. — P. 388 — 390.
- Sheffield E. A. Acute inflammation / E. A. Sheffield // Surgery. — 1993. — Vol. 21. — P. 407 — 408.
- Патент 39686 Україна, МПК7 А61В17/00. Спосіб моделювання перитоніту / Р. І. Сидорчук (Україна); власник патенту Р. І. Сидорчук. — № 2000127365; заявл. 21.12.2000; опубл. 15.06.01. Бюл. № 5.