

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ОСТРОГО  
ХОЛЕЦИСТИТА НА КРОЛИКАХ

А.Н. Дешук

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

*В статье проанализированы существующие на данный момент способы моделирования острого холецистита. Подтверждены преимущества нового способа, смоделированного на лабораторных животных (кроликах), особенностью которого является идентификация и перевязка не только пузырного протока, но и пузырной артерии, способа, учитывающего как микробный фактор, так и нарушение кровоснабжения желчного пузыря.*

**Ключевые слова:** острый холецистит, моделирование, эксперимент, кролики, нарушение кровоснабжения.

**Введение**

Для воспроизведения модели острого холецистита в эксперименте предложено много различных способов, имеющих как свои преимущества, так и свои недостатки.

Одна из первых экспериментальных моделей острого холецистита была получена в 1906 году П.С. Иконниковым. Вводя после перевязки пузырного протока в полость желчного пузыря кроликов и собак вирулентные культуры кишечной палочки, стрептококков и стафилококков, он получал гнойные холециститы с последующим (через 3-4 месяца) образованием камней [2].

В 1921 году Mann получил картину токсического воспаления желчного пузыря путем внутривенных инъекций раствора, состоящего из 12,5 г гипохлорида натрия и 12,5 кристаллической борной кислоты на 1 литр воды. Раствор применяют через сутки после фильтрации. Вводят внутривенно 20 мл раствора на 1 кг веса животного дробными дозами через каждые 1-3 часа. Через 24 или 48 часов развивается острый геморрагический холецистит. Гистологически наблюдается острое воспаление мышечного слоя, распространяющееся до субэпителиальной зоны. Через 6 недель наступает спонтанное излечение с восстановлением целостности всех структур желчного пузыря [2].

Введение в желчный пузырь с перевязанным желчным протоком небольших количеств трипсина, трипсиногена и химотрипсина приводит к возникновению острого холецистита через 48 часов. Однако перевязка или просто введение микрофлоры или изменение рН в желчном пузыре эффекта не дают. В настоящее время считается доказанным, что основным фактором, ведущим к развитию холецистита в условиях застоя желчи, является повреждающее действие на стенку пузыря желчи и желчных кислот. Острый холецистит можно получить при введении в полость желчного пузыря концентрированной желчи или желчных кислот [2].

Известен способ моделирования острого холецистита, согласно которому у собак проводят лапаротомию, перевязку пузырного протока и подводят в просвет желчного пузыря 2 мл (120 Ед) раствора трипсина и 1 мл 1 млрд взвеси *Escherichia coli* ГИСК № 280 посредством инъекции в области дна органа [3, 6].

При нарушении функции концевой двигательного аппарата общего желчного протока создаются условия для аутоинфицирования собственной бактериальной флорой с возникновением холецистита. Н.Н. Аничков и М.А. Захарьевская добивались нарушения функции концевой двигательного аппарата желчных путей четырьмя способами: 1) холедоходуоденостомией; 2) укреплением резиновой дренажной трубки в отверстии фатерова соска; 3) укреплением лигатуры в отверстии большо-

го дуоденального соска; 4) удалением или разрушением большого дуоденального соска. Развивающийся в результате восходящей инфекции холецистит на ранних стадиях (6-10 дней) имел некротический характер, в более поздние сроки (2-6 месяцев) стенка желчного пузыря утолщалась и инфильтрировалась лимфоидными элементами и полибластами. При этом, как показали многочисленные опыты, у кроликов восходящая инфекция возникает чаще, чем у собак [2]. В.А. Галкин и А.С. Чечулин получили у собак катаральный холецистит, вводя культуру кишечной палочки в желчный пузырь через фистулу. Через 7-10 дней наблюдалось помутнение желчи, появление слизи и лейкоцитов [2].

Предложен способ моделирования острого холецистита, согласно которому у собак на первом этапе проводят лапаротомию. Далее между листками печеночно-дуоденальной связки около пузырного протока вводят 1 мл стерильного скипидара и послойно ушивают рану. Затем на втором этапе через 5-7 суток проводят релапаротомию и производят инфицирование застойной желчи 1 мл 1 млрд взвеси агаровой культуры штамма *Escherichia coli* ГИСК № 280, продуцирующего LT – термолabileный энтеротоксин. Потом также послойно ушивают рану наглухо. Способ обеспечивает адекватное воспроизведение модели острого холецистита с вовлечением шейки желчного пузыря [3, 6, 7].

Большинство авторов среди причин развития острого холецистита выделяют общие и местные сосудистые расстройства по типу ангиоспазма, эмболии и тромбоза ствола или ветвей пузырной артерии; нарушение микроциркуляции в стенке желчного пузыря на фоне системных изменений сосудов и нарушение реологических свойств крови при атеросклерозе, гипертонической болезни, сахарном диабете, злокачественных новообразованиях, системных аллергических васкулитах, перекруте и завороте желчного пузыря [1]. Однако все исследователи, проводившие моделирование острого холецистита, не учитывали один из основных механизмов его патогенеза – расстройства кровообращения в желчном пузыре: нарушение микроциркуляции в его стенке, что происходит при окклюзионном поражении пузырной артерии при атеросклерозе или анатомических особенностях кровоснабжения желчного пузыря [4, 5]. Таким образом, является актуальным создание адекватной модели острого холецистита, характерной для большинства пациентов пожилого возраста в клинике, которая позволит морфологически оценить эффективность препаратов и методов, используемых для лечения данного заболевания.

Целью настоящего исследования являлась оценка результатов экспериментального моделирования остро-

го холецистита на кроликах с лигированием пузырной артерии и пузырного протока на фоне микробной обсемененности полости желчного пузыря.

### Материал и методы

Моделирование острого холецистита производилось на кроликах обоих полов, массой 3,1±0,2 кг (M±σ). В течение проведения эксперимента кролики находились в стандартных условиях вивария с естественной сменой света и темноты, питание осуществлялось по обычной диете со свободным доступом к пище и воде. При проведении работы учитывались этические нормы обращения с экспериментальными животными, требованиями мирового сообщества (предусмотренные Европейской комиссией по надзору за проведением лабораторных и других опытов, с участием экспериментальных животных разных видов), в соответствии с которыми исследование и проводилось. Животных вводили в наркоз, взвешивали, фиксировали к операционному столу и выполняли операции в стерильных условиях. Выведение животных из эксперимента осуществлялось введением летальных доз тиопентала натрия.

Моделирование острого холецистита осуществлялось по следующей схеме (положительный результат предварительной экспертизы по заявке № а 20111595 на выдачу патента РФ на изобретение от 25.11.2011г.). Под внутримышечным наркозом (использовался раствор калипсола 500мг-10мл) после асептической обработки операционного поля производили доступ к желчному пузырю путем выполнения верхнесрединной лапаротомии послойно. Для того чтобы оценить прогрессирование либо угасание воспалительного процесса, у всех лабораторных животных производился забор крови (5 мл) из вены и желчи (1мл) из желчного пузыря до и после моделирования острого холецистита. Показатели общего и биохимического анализов крови определяли общепринятыми в клинике методами. Количество лейкоцитов определялось путем добавления 3% уксусной кислоты с последующим подсчетом в камере Горяева; такие показатели, как С-реактивный белок, АлАТ, АсАТ, щелочная фосфатаза, ГГТП определялись кинетическим методом, количество билирубина – по методу Йендрашика. Формула крови рассчитывалась после изготовления мазка и окрашивания его по Романовскому с последующим подсчетом на 100 клеток. Лейкоцитарный индекс интоксикации определяли по формуле Островского [8]. Выполняли выделение, идентификацию и перевязку пузырного протока, а также, что является принципиально новым и важным, лигировали пузырную артерию. В полость желчного пузыря, в области дна инсулиновым шприцем однократной пункцией вводили 0,2 мл раствора агаровой культуры *Escherichia coli*, приготовленного по стандартному образцу мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича, исходя из того, что в 1 мл раствора содержится 1 млрд клеток микроорганизмов (объем раствора агаровой культуры *Escherichia coli* 0,2мл подобран, исходя из известной экспериментальной модели острого холецистита [3,6]. Пункционное отверстие клипировали. Убедившись в отсутствии ретроградного подтекания содержимого из желчного пузыря и адекватности гемостаза, рану ушивали послойно наглухо. В течение всего оперативного вмешательства кролики находились в наркозе. Животные после выполнения операции помещались в отдельную клетку, где за ними производилось наблюдение, ежедневное исследование показателей общего и биохимического анализов крови. На 2 сутки после моделирования острого холецистита кролики выводились из эксперимента

введением летальных доз тиопентала натрия. Выполнялась верхнесрединная релапаротомия с последующей холецистэктомией от шейки желчного пузыря. На гистологическое исследование забирался желчный пузырь, который пересекался перпендикулярно его длине. Кусочки ткани стенки пузыря заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивались гематоксилином-эозином.

Данные обработаны при помощи программы «Statistica 6.0» с применением непараметрических методов исследования для независимых выборок с использованием критерия Манна-Уитни. Результаты представлены в виде медианы, в скобках указаны 25 и 75 проценты.

### Результаты и обсуждение

Данный способ апробирован на 6 кроликах. Контрольную группу составили 6 лабораторных животных. Животные из контрольной группы выводились из эксперимента после взятия всех анализов и выполнения холецистэктомии. При наблюдении за лабораторными животными после выполнения моделирования было отмечено изменение в их состоянии с первых суток: отмечалась вялость, заторможенность, отказ от пищи. Ко вторым суткам данные симптомы прогрессировали и имели более выраженные проявления, что и подтверждается показателями общего и биохимического анализов крови (таблица 1).

**Таблица 1** – Показатели общего и биохимического анализов крови в контрольной группе и опытной группе до и после моделирования острого холецистита

Показатели	Здоровые животные	1-е сутки эксперимента	2-е сутки эксперимента
Количество животных	12	6	6
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	4,2[4; 4,53]	10,3[9,2;12,7]	15,1[14;16,7]
Палочкоядерные нейтрофилы, %	1[0; 2]	7,5[6,5;9]	13[9,6;15]
СРБ, Ед	0	12,3[11,2;13,8]	28,6[23;32,2]
АлАТ, Ед/л	37,3[33;41,2]	50,1[45;7;58]	55,4[51,3;59,3]
АсАТ, Ед/л	18,8[15,9;23,4]	25,7[14;28,5]	30,2[23;38,3]
Билирубин, мкмоль/л	11,53[8,9;13,1]	17,7[15,5;19]	25,2[22;28,9]
Щелочная фосфатаза, Ед/л	78,7[70;86,7]	102,1[95;109,4]	152,6[147;159,2]
ГГТП, Ед/л	12,3[9,9;14]	99,8[88;111,3]	127,1[120;135,7]
Лейкоцитарный индекс интоксикации, Ед	1,4±0,2[1;1,7]	2,4±0,1[2,1;2,8]	3,3±0,3[2,9;3,7]

У всех кроликов развилась флегмонозная форма острого холецистита. Адекватность модели оценивали клиническим и морфологическим методами. Через 2 суток от момента операции животное выводили из опыта. При вскрытии в свободной брюшной полости обнаруживали, что желчный пузырь был увеличен, напряжен, имел тусклую серозную оболочку с просвечивающимися, инъецированными кровеносными сосудами. При вскрытии просвета органа обнаруживалась мутная желчь с взвешенными в ней фрагментами тканевого детрита. Рельеф слизистой оболочки на значительном протяжении был сглажен, ее поверхность имела мелкие язвенные дефекты. В перивезикальном пространстве отмечалось наличие серозно-геморрагического экссудата. Морфологические исследования желчного пузыря при окрашке гематоксилином-эозином свидетельствовали о развитии во всех отделах органа (шейка, тело и дно) острого флегмонозного воспаления. При этом в слизистой оболочке

преобладало гнойное воспаление на фоне дистрофических и некробиотических процессов. Пласты погибшего эпителия слизистой отторгались в просвет органа. Отдельные эпителиоциты претерпевали некробиотические изменения, когда имело место разрушение ядер и лизис цитоплазмы клетки. Нередко некробиотические процессы распространялись на собственную пластинку слизистой оболочки, а также на мышечный слой. При этом слизистая оболочка на значительном протяжении отсутствовала, эпителиальные элементы обнаруживались в виде отдельных фрагментов среди масс детрита, наблюдались множественные участки повреждения базальной мембраны. В микроциркуляторном русле выявлялся стаз, а в сосудах среднего калибра – тромбообразование. В подслизистой основе определялось различной степени выраженности полнокровие сосудов с участками периваскулярного отека, гнойного воспаления с разволокнением соединительнотканых элементов. В мышечном слое выявлялись фрагментация и лизис гладкомышечных клеток с нечетко проецируемыми контурами. Отдельные подобные клетки визуализировались как однородная гомотенная масса. В интерстициальной ткани выявлялись участки серозно-гнойного воспаления.

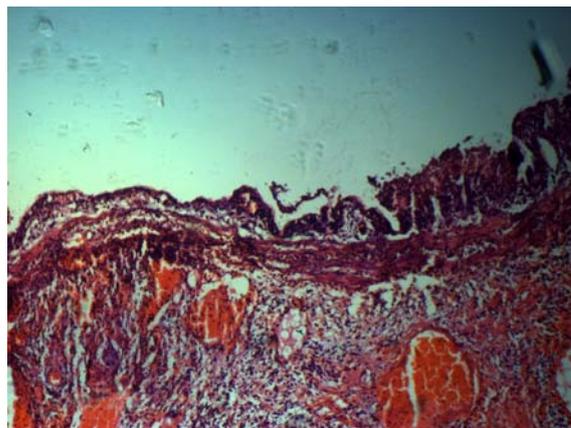
### Выводы

1. Способ моделирования острого холецистита на лабораторных животных (кроликах), имеющий своей особенностью идентификацию и перевязку не только пузырного протока, но и пузырной артерии, учитывает как микробный фактор, так и воспалительные изменения в стенке желчного пузыря, происходящие на фоне нарушения его кровоснабжения.

2. Разработанный способ моделирования острого холецистита вызывает в организме экспериментальных животных гистологически подтвержденные изменения, характерные для тяжелой флегмонозной формы острого холецистита.

### Список использованной литературы

1. Иоскевич, Н.Н. Практическое руководство по клинической хирургии. Болезни пищеварительного тракта, брюшной стенки и брюшины / Н.Н. Иоскевич. – Минск: Высшая школа, 2001. – С.266-267.
2. Лопухин, Ю.М. Экспериментальная хирургия / Ю.М. Лопухин. – М.: Медицина, 1971. – С.128-131.
3. Мустафин, Т.И. Морфофункциональная характеристика



**Рисунок 1 – Острый холецистит. Стенка желчного пузыря с некрозом и десквамацией слизистого слоя, лейкоцитарной инфильтрацией подслизистой основы, стазом в сосудах; отеком, диссоциацией мышечных и соединительнотканых элементов. Окраска гематоксилин – эозином, x100.**

желчного пузыря при различных моделях острого холецистита / Т.И. Мустафин, М.В. Тимербулатов, И.А. Шарифгалиев // Труды II съезда Российского общества патологоанатомов. М.: МДВ, 2006. – Т.1. – С. 288-290.

4. Протасевич, А.И. Роль сосудистого фактора в развитии острого холецистита / А.И.Протасевич, С.Н.Позняк // сборник: Труды молодых ученых. – Минск. – 1998. – С.173-175.

5. Протасевич, А.И. Микроциркуляция желчного пузыря при калькулезном холецистите / А.И. Протасевич, Е.Г. Оганова // сборник: Актуальные вопросы медицины и новые технологии медицинского образования. Материалы междунар. науч.-практ. конф. – Мозырь. – 2000. – Т.2 – С.220-222.

6. Шарифгалиев, И.А. Моделирование острого холецистита в эксперименте / И.А. Шарифгалиев, Ф.С. Билалов, Д.С. Куклин // Мат. 70-й итоговой Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Уфа, 2005. – Ч.1. – С. 29-30.

7. Kaminski D.L. The production of experimental cholecystitis by endotoxin / D.L. Kaminski, W.K. Feinstein, Y.G. Deshpande // Prostaglandins. 1994. – Vol.47, №3. – P. 233-245.

8. Островский, В.К. Лейкоцитарный индекс интоксикации при острых гнойных и воспалительных заболеваниях легких / В.К. Островский, Ю.М. Свитич, В.Р.Вебер // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 1983. – Т.131, №11. – С. 21-24.

## Results of experimental modeling of acute cholecystitis in rabbits

A.N. Deshuk

EE «Grodno State Medical University»

*The currently existing methods of acute cholecystitis modeling were analyzed. The benefits of the new method modeled in laboratory animals (rabbits) were confirmed. A specific feature of the method is the identification and ligation not only of the cystic duct but of the cystic artery as well. The method takes into account both the microbial factor and circulatory disorders of the gallbladder.*

**Key words:** acute cholecystitis, modeling, experiment, rabbits, circulatory disorders.

Поступила 23.03.2012