

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ**

Чиж Микола Олексійович

УДК 616.36-004-092.9:615.832.9+617

**ЗАСТОСУВАННЯ НИЗЬКИХ ТЕМПЕРАТУР ДЛЯ ГЕПАТОДЕСТРУКЦІЇ
І ДЕНЕРВАЦІЇ ПЕЧІНКОВОЇ АРТЕРІЇ
ПРИ ЦИРОЗІ ПЕЧІНКИ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.01.35 - кріомедицина

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Харків – 2009

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор,
Заслужений діяч науки і техніки України
Сандомирський Борис Петрович,
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України
завідувач відділу експериментальної кріомедицини

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
Хворостов Євген Дмитрович,
Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна,
медичний факультет, завідувач кафедри хірургії

доктор медичних наук,
Сушков Сергій Валентинович
ДУ «Інститут загальної та невідкладної хірургії» АМН України,
заступник директора з наукової роботи

Захист відбудеться 15.09. 2009 р. о 13-30 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01 Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за адресою: 61015, м. Харків, вул. Переяславська, 23.

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за адресою: 61015, м. Харків, вул. Переяславська, 23.

Автореферат розісланий 12.08. 2009 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
академік НАН України,
доктор медичних наук, професор

А.М. Гольцев

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Профілактика і лікування захворювань органів системи травлення залишаються актуальною проблемою сучасної медицини. Найбільш частою причиною госпіталізації і втрати працездатності хворих із порушенням травної системи є хронічні дифузні захворювання печінки (Подымова С.Д., 2005). В економічно розвинених країнах цироз печінки є однією з шести основних причин смертності людей у віці 35-60 років і складає від 14 до 30 випадків на 100 тисяч населення (Бабак О.Я. и др., 2006; Хазанов А.И. и др., 2009).

Незважаючи на різноманітність етіологічних чинників виникнення цирозів печінки, клінічна картина захворювань багато в чому однотипна. Тяжкість перебігу цирозів печінки посилюється ускладненнями, обумовленими ступенем розвитку портальної гіпертензії і печінкової недостатності (Левитан Б.Н. и др., 2002; Хазанов А. И. и др., 2009).

Величезна кількість препаратів, що представлені на фармакологічному ринку, а також більшість методів оперативних втручань мають симптоматичну спрямованість і не вирішують повною мірою проблеми терапії хронічних гепатитів і цирозів печінки (Левитан Б.Н. и др., 2002; Павлов А.И. и др., 2005; Хазанов А.И. и др., 2009).

У зв'язку з цим заслуговують на увагу такі методи, за допомогою яких, впливаючи на різні патогенетичні ланки патологічного процесу, можна посилити репаративну регенерацію органу.

Відновлення циротично зміненої печінки досягають шляхом часткової гепатектомії або дозованої гепатодеструкції із застосуванням хірургічних і фізичних методів, включаючи лазеро- і аргонплазмову коагуляцію (Парамонова Л.М., 2001; Черкова Н.В., 2004; Гуменюк К.В. та ін. 2006), а також кріодеструкцію печінки. Кріогепатодеструкція, в порівнянні з резекцією, має низку переваг, які обумовлені меншою травматичністю, гемостатичним ефектом і відсутністю необхідності накладення швів, швидким переходом від запальної реакції до відновної регенерації в печінці (Сандомирский Б.П. и др., 1992; Даденко Б.М. и др., 1998; Альперович Б.И. и др., 2005).

Відомо, що поліпшення кровопостачання печінки сприятливо впливає на регенерацію клітинних елементів паренхіми органу і нормалізує його функціональний стан. Операцією вибору, що усуває нейротрофічні і циркуляторні порушення в печінці шляхом блокади судинозвужувальних імпульсів симпатичної нервової системи, а, отже, сприяє оксигенації органа, є денервація а. hepatica (Милонов О.Б. та ін., 1989; Hamada T. et al., 2007).

У даній роботі доцільним було вивчити в експерименті вплив періартеріальної кріоденервації а. hepatica і локальної кріогепатодеструкції, а також їх поєднаного використання на процеси відновлення в циротично зміненій печінці.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана у відділі експериментальної кріомедицини в рамках планових тем НДР ІПКіК НАН України «Дослідження впливу і механізму дії

кріоконсервованих тканинних препаратів з ксеногенних органів на перебіг ряду патологічних процесів в організмі» (шифр 2.2.6.05 № держреєстрації 0102U002027), «Отримання екстрактів з кріоконсервованого ксеногенного матеріалу, їх склад і біологічна дія» (шифр 2.2.6.33 № держреєстрації 0107U000539).

Мета і задачі дослідження. Мета дослідження полягала у визначенні впливу поєднаного використання періартеріальної кріоденервації печінкової артерії і кріогепатодеструкції на характер і динаміку відновних процесів у печінці при експериментальному цирозі.

Для досягнення мети були поставлені наступні задачі.

1. Розробити методику періартеріальної денервації печінкової артерії щурів двома способами: механічним пошкодженням і кріовпливом.
2. Вивчити структурні зміни печінкової артерії після механічної і низькотемпературної денервації у нормальних щурів і щурів з експериментальним цирозом печінки.
3. Оцінити ефект механічної і низькотемпературної денервації а. hepatica щурів за мікрогемоциркуляторними змінами в печінці.
4. Дослідити структурні зміни в печінці щурів з експериментальним цирозом після періартеріальної денервації печінкової артерії, дозованої кріогепатодеструкції, а також їх поєднаного застосування.
5. Оцінити функціональний стан печінки щурів з експериментальним цирозом на основі біохімічних показників крові після періартеріальної кріоденервації печінкової артерії, локальної кріогепатодеструкції, а також їх поєднаного застосування.

Об'єкт дослідження. Деструктивні і відновні процеси в печінці щурів з експериментальним цирозом після кріоденервації печінкової артерії, дозованої низькотемпературної деструкції печінки і при їх поєднаному використанні.

Предмет дослідження. Печінка щурів з експериментальним CCl₄-індукованим цирозом у різні терміни після проведення кріоденервації печінкової артерії і локального кріопошкодження печінки; печінкова артерія щурів після її періартеріальної денервації.

Методи дослідження. У роботі для вирішення поставлених задач застосовували біохімічні, біомікроскопічні, гістологічні, електронно-мікроскопічні та статистичні методи досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше досліджено вплив кріоденервації печінкової артерії у щурів на її морфологічні характеристики і доведено ефективність застосування даного способу для денервації судин. Вперше проведено комплексне дослідження впливу поєднаного застосування кріоденервації печінкової артерії і локальної кріогепатодеструкції на регенерацію патологічно зміненої печінки.

Вперше доведено ефективність і доцільність поєднання кріохірургічної гепатодеструкції та періартеріальної кріоденервації печінкової артерії при лікуванні експериментального цирозу у щурів. За темою дисертаційної роботи отримано патент на корисну модель: Україна, пат. на к/м № 35602, МПК(2006) A61B17/00, Заявл. 30.04.2008, публ. 25.09.2008, Бюл. № 18 «Хірургічний спосіб

лікування хронічних дифузних захворювань печінки», авт. Чиж М.О., Белочкіна І.В., Сандомирський Б.П. 3-к: ІПКіК НАН України.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані дані дозволяють вдосконалити існуючі і створити нові підходи в хірургічній гепатології, які засновані на поєднаному використанні окремих кріохірургічних методів.

Результати морфофункціональних досліджень тканини циротично зміненої печінки після кріоденервації а. hepatica і кріогепатодеструкції можуть бути використані при теоретичному обґрунтуванні такого лікування в ході створення нових технологій оперативних втручань при цирозі печінки.

Аналіз стану структури і ультраструктури печінкової артерії після низькотемпературної денервації, а також доступність і безпека виконання кріоденервації дають підставу застосовувати даний метод при різних оперативних втручаннях з метою денервації артеріальних судин.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено аналіз даних літератури, отримано результати експериментальних досліджень, проведено їх первинний аналіз та статистична обробка. Автором спільно з науковим керівником проф. Б.П. Сандомирським були поставлені цілі і задачі, інтерпретовані результати і зроблені остаточні висновки за матеріалами роботи. При виконанні окремих розділів методичну і консультативну допомогу надали співробітники Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

В опублікованих у співавторстві роботах особистий внесок здобувача полягає:

- у роботах [1,2,3,6,7,8] - в моделюванні цирозу печінки у щурів, проведенні хірургічних втручань та біохімічних досліджень, аналізі результатів біохімічних і гістологічних досліджень;

- у роботах [4,9,10] - в моделюванні цирозу печінки у щурів, проведенні хірургічних втручань, аналізі стану мікроциркуляторного русла печінки залежно від умов експерименту;

- у роботах [5,11,12] - в проведенні хірургічних втручань щодо денервації печінкової артерії у щурів, аналізі стану судинної стінки після денервації печінкової артерії.

Апробація результатів дисертації. Результати роботи були представлені на ХІ Конгресі Світової Федерації українських лікарських товариств (Полтава, 2006); Всеукраїнській науково-практичній і навчально-методичній конференції «Фундаментальні науки – хірургії» (Полтава, 2007); конференціях молодих вчених «Холод в биологии и медицине» (Харків, 2007, 2008, 2009); науково-практичній конференції «Внутрішні хвороби. Нові аспекти» (Харків, 2007); науково-практичній конференції «Актуальні питання внутрішньої медицини: міжфахова інтеграція» (Львів, 2008); ХІІ Конгресі Світової Федерації українських лікарських товариств (Івано-Франківськ, 2008); науково-практичній конференції «Пріоритетні питання діагностики і терапії внутрішніх хвороб» (Харків, 2008); науково-практичній конференції «Вклад молодих вчених в розвиток медичної науки і практики» (Харків, 2008); науковій

конференції «Нові кріобіотехнології для розв'язання фундаментальних і прикладних задач медицини» (Харків, 2008).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових праць, з яких 5 статей – у фахових наукових виданнях, 1 патент і 7 тез доповідей – у збірках наукових праць науково-практичних конференцій і конгресів.

Структура дисертації. Дисертація викладена на 169 сторінках друкованого тексту, з яких 145 сторінок основного змісту. Робота містить такі розділи: вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати власних досліджень та їх обговорення, узагальнення, висновки. Список використаної літератури (226 джерел) подано на 24 сторінках. Робота проілюстрована 16 таблицями та 50 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Експерименти проведено на 231 безпородному щурі-самцю масою 200-280 г відповідно до «Загальних принципів експериментів на тваринах», схвалених II Національним конгресом з біоетики (Київ, 2004) і узгоджених з положеннями «Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Експериментальну патологію печінки моделювали введенням 40%-го розчину тетрахлорметану (Сандомирский Б.П. и др., 1985). Смертність при моделюванні патології склала 12%. Розвиток експериментального цирозу печінки у тварин підтверджувався клінічними ознаками (асцит, збільшення печінки і селезінки), макроскопічним станом печінки (зміна кольору, форми і щільності органу, наявність горбистості) і морфологічними ознаками органа-мішені. Щури з експериментальним цирозом (112 тварин) методом випадкової вибірки були розділені на 5 експериментальних груп (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл тварин з експериментальним цирозом за групами

Групи	Кількість тварин
1. Без оперативних втручань (CCl ₄ -контроль)	28
2. Кріоденервація печінкової артерії (КДПА)	21
3. Механічна денервація печінкової артерії (МДПА)	21
4. Кріогепатодеструкція (8-10% печінки) (КП)	21
5. Поєднане використання кріоденервації печінкової артерії і кріодії на печінку (КДПА+КП)	21
Норма	6

У серії експериментів з дослідження ультраструктури а. hepatica після денервації використано 25 зразків а. hepatica щурів, з яких 5 – норма, 10 – після КДПА, 5 – після МДПА, 5 – CCl₄-контроль.

Експерименти з використанням контактної прижиттєвої мікроскопії печінки проведено на 60 тваринах, з яких 24 – після КДПА (в нормі та з

цирозом), 24 – після МДПА (в нормі та з цирозом), 6 – CCl₄-контроль, 6 – норма.

Для досліджень кровотока в печінці із застосуванням люмінесцентного барвника нафтоїленбензімідазолу (НБІ) використано 28 щурів, з яких 6 – норма, 12 – після КДПА (в нормі та з цирозом), 10 – CCl₄-контроль.

В експериментальних групах тварин оперативні втручання здійснювали під ефірно-масочним наркозом на 4 добу після введення CCl₄.

Кріодеструкцію 8-10% печінки проводили в двох точках на лівій латеральній частці за допомогою автономного азотного кріоінструмента КД-3 з діаметром аплікатора 3,0 мм і температурою на поверхні – 120°C, при експозиції 2 хв (Сандомирский Б. П. и др., 1985).

Механічну денервацію виконували насічками анатомічного пінцета, ушкоджуючи періартеріальне нервеве сплетення загальної печінкової артерії впродовж 0,5 см.

Кріоденервацію а. hepatica здійснювали за допомогою кріоінструмента КД-3 із використанням спеціальної мідної насадки у вигляді незамкнутого кола, температура робочої поверхні якої -120°C, експозиція кріодії 1 хв.

Зразки печінки, узяті на 7, 30, 60 добу для гістологічного дослідження, фіксували в 10%-му нейтральному формаліні, збезднювали в спиртах зростаючої концентрації і поміщали в целоїдин. Зрізи завтовшки 5-7 мкм, фарбували гематоксиліном і еозіном для отримання оглядових гістопрепаратів. Стан сполучної тканини оцінювали в препаратах, зафарбованих пікрофуксином по Ван Гізон для виявлення колагенових волокон. Для виявлення ліпідів у клітинах печінки використовували фарбування суданом чорним і суданом червоним (IV).

Для аналізу динаміки розвитку і регресії патологічних порушень морфології печінки була проведена напівкількісна балова оцінка прояву дистрофічних, запально-некротичних, склеротичних і регенеративних процесів (Ивашкин В.Т., 2004). Каріометричний аналіз гепатоцитів і кількісну оцінку співвідношення строми і паренхіми проводили за допомогою програми BioVision 4.0.

Напівтонкі зрізи (0,5-1 мкм) зразків печінкової артерії, узятих через 2 хв і 3 тижні після денервації, фарбували поліхромним барвником на основі метиленового синього і основного фуксину. Ультратонкі зрізи контрастували насиченим водним розчином уранілацетату і розчином цитрату свинцю по Рейнольдсу. Ультраструктуру стінки печінкової артерії досліджували за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К.

Мікрогемоциркуляцію печінки вивчали методом контактної прижиттєвої мікроскопії з використанням мікроскопа Люам К-1 (Слета И.В., 2002). Морфометричні показники мікрогемоциркуляції (діаметр синусоїдів, відносна площа судинного русла) розраховували за програмою BioVision 4.0.

Зміну кровотока печінки після денервації а. hepatica з прижиттєвою мікроскопією оцінювали за допомогою люмінесцентного барвника НБІ. У нижню порожнисту вену вводили 1 мл НБІ з концентрацією 0,225 мкмоль/л. Через 20 хв печінку вилучали. Концентрацію НБІ в гомогенаті печінки

визначали спектрофлуориметром Hitachi F4010 при довжині хвилі збудження – 410 нм, довжині хвилі випускання – 520 нм.

Вміст альбуміну, активність амінотрансфераз (аспартат- і аланінамінотрансферази – АлАТ і АсАТ), лужної фосфатази, концентрацію білірубіну в сироватці крові та інтенсивність тімолової проби досліджували за допомогою стандартних наборів виробництва НПП "Фелісит діагностика" (Дніпропетровськ, Україна). Вміст ТБК-активних продуктів (ТБКАП) в сироватці крові визначали спектрофотометрично за методом (Арутюнян А.В. и др., 2000).

Статистичну обробку результатів проводили параметричним методом Стюдента-Фішера з використанням t-критерію і непараметричним методом ANOVA. В дисертації кількісні дані представлені в середніх величинах і середніх квадратичних похибках. Для статистичної обробки результатів використовували пакет програм Statistica for Windows 5.1 (Реброва О. Ю., 2002).

Результати власних досліджень та їх обговорення

Періартеріальна денервація печінкової артерії щурів і оцінка впливу денервації а. hepatica на кровотік в печінці. У класичному варіанті денервація печінкової артерії полягає в муфтоподібному вилучанні періартеріального нервового сплетення а. hepatica (Виноградов В.В. и др., 1972). Цю методику ми адаптували для дрібних лабораторних тварин, а саме – щурів. Під загальним знеболюванням виділяли печінкову артерію шовковими лігатурами. Насічками анатомічного пінцета поступальними рухами обережно, не порушуючи цілісності судини, пошкоджували періартеріальне нервеве сплетення а. hepatica communis завдовжки 5 мм. Після ревізії черевну порожнину зашивали щільно.

При кріохірургічному способі денервації а. hepatica етап виділення печінкової артерії з навколишніх тканин був таким же, як при механічному способі, проте виконання власне кріоденервації було менш тривалим і технічно простішим. При цьому відмічено повне проморожування судини. Після відведення кріоаплікатора відтавання судини починалося з проксимального кінця судини. Спостерігали відновлення кровотока, а в дистальному від осередка кріопошкодження відрізка артерії – пульсація.

Після відтавання візуальні структурні зміни судини, як правило, не спостерігалися. В кількох випадках відмічали рівномірне розширення артерії в зоні заморожування.

У післяопераційному періоді будь-яких ознак порушення кровообігу після розкриття передньої черевної стінки, як у ранні, так і в пізні терміни спостережень аневрізматичних вибухів стінок артерії і ознак внутрішньочеревної кровотечі виявлено не було.

На підставі результатів власних експериментальних досліджень, а також даних літератури (Korpan N., 2001; Дронов О.І. та ін., 2007) ми вважаємо, що метод періартеріальної кріоденервації відносно безпечний, не викликає

серйозних геморагічних ускладнень ні в самому осередку денервації, ні за його межами.

Для підтвердження дієвості маніпуляцій щодо денервації *a. hepatica* ми провели візуальну оцінку мікрогемоциркуляторного русла печінки за допомогою контактної прижиттєвої мікроскопії. Виявилось, що денервація, яка була виконана і механічним, і низькотемпературним способом, помітно змінювала діаметр синусоїдів і площу судинного русла в цілому (табл. 2). На 1-у добу після маніпуляцій на *a. hepatica* синусоїди були розширені на 25-30% в порівнянні з нормою. При цьому відносна площа судинного русла збільшувалася в 1,4 і 1,2 рази після КДПА і МДПА відповідно. Схожа картина спостерігалася і через 2 тижні після денервації *a. hepatica* обома способами.

Таблиця 2

Морфометричні показники мікрогемоциркуляторного русла печінки після денервації *a. hepatica*

Групи	Доба	Діаметр синусоїдів, мкм	Відносна площа судинного русла
Норма	-	6,28±0,10	0,34±0,01
КДПА	1	8,16±0,18*	0,49±0,03*
МДПА	1	7,88±0,16*	0,42±0,01*
КДПА	14	9,29±0,11*	0,54±0,02*
МДПА	14	8,33±0,15*	0,44±0,02*

Примітка. * – відмінності достовірні відносно норми, $p < 0,05$.

За даними (Ito Y. et al., 1998) денервація *a. hepatica* вже через 60 хв приводить до стабільного двократного підвищення артеріального печінкового кровотока. Усунення стимуляції печінкових симпатичних нервів після проведення денервації печінкової артерії імовірно зменшує опір у зоні пресинусоїдальних сфінктерів і артеріол, а також сприяє відкриттю артеріосинусоїдальних і артеріовенозних шунтів (Коваленко Н.Я. и др., 1988). Можна припустити, що після денервації *a. hepatica* підвищення показників мікрогемодинаміки печінки, які досліджувалися нами, посередньо підтверджує посилення артеріального кровопостачання органа через внутрішньопечінкові артеріальні макро- і мікросудини, що відіграють важливу роль у місцевій регуляції печінкового кровотока. В наслідок цього можуть покращуватися репаративні процеси в печінці на тлі зниження гіпоксії органа.

Морфологічні характеристики стінки загальної печінкової артерії шурів після періартеріальної денервації, виконаної механічним і кріохірургічним способами, в нормі і на тлі токсичного ураження печінки. Механічна денервація *a. hepatica* супроводжувалася руйнуванням адвентиції судини із значними крововиливами, порушенням цілісності зовнішньої еластичної мембрани. В результаті механічної травми дещо змінювалася структура м'язової оболонки. Міжклітинні простори були розширені, набряклі, заповнені уламками дезорганізованих колагенових і еластинових волокон. Ендотеліоцити зберігали свої нативні особливості. Вони були представлені

шаром клітин з електроннощільною цитоплазмою, які містили невелику кількість органоїдів у навколоядерній зоні адвентиції.

Світлова мікроскопія напівтонких зрізів *a. hepatica*, яка була вилучена безпосередньо після кріоденервації, показала, що нервові волокна адвентиціальної оболонки переважно фрагментовані і мали вигляд розмитих по поверхні осередків. У м'язовій оболонці каркас з еластинових і колагенових волокон зберігався, як і більшість гладком'язових клітин (ГМК).

За даними електронної мікроскопії зразків *a. hepatica*, узятих відразу після кріоденервації, нервові волокна в адвентиції характеризувалися значними змінами деструктивного характеру з повним руйнуванням мітохондрій, розривами мембран аксонів і швановських клітин.

Структурна організація ендотелію *a. hepatica*, як найбільш кріолабільної тканини (Рехтер М.Д. и др., 1991), зазнавала істотних змін, що приводили до його злущування. Ендотелій представлений окремими клітинами неправильної форми, що не були пов'язані з базальною поверхнею і між собою. Внутрішня еластична мембрана (ВЕМ) зберігала свою цілісність. ГМК, при відносному збереженні загальної структури, демонстрували низку ультраструктурних змін органоїдів, зокрема мітохондрій, які набухали. Це виявлялося в проясненні їхнього матриксу і дезорганізації крист при цілісності обох мітохондріальних мембран. Міжклітинні контакти міоцитів були частково порушені.

При аналізі напівтонких зрізів *a. hepatica* через 3 тижні після кріоденервації виявлявся широкий просвіт артерії, заповнений форменими елементами крові. Ендотелій був представлений безперервним шаром клітин, які вистилали ВЕМ. У деяких місцях спостерігалася дуплікація ВЕМ з утворенням шарів малодиференційованих міоцитів малих розмірів. Адвентиціальна оболонка у складі пухкої сполучної тканини містила прошарки колагенових волокон, в мережі яких розташовувалися синтезуючі їх фібробласти, жирові клітини, залишки клітинного детриту м'язових клітин і нервових волокон.

Електронно-мікроскопічні дослідження показали, що через 3 тижні після кріоденервації ендотелій судини значно відновився, проте мали місце окремі ділянки ВЕМ, які не були покриті ендотеліоцитами. ВЕМ мала нормальну структуру з характерними порами. Ультраструктура міоцитів була близькою до норми. Диференційовані клітини мали типову форму і розміри, містили ядра неправильної форми, дрібні мітохондрії, електроннощільну цитоплазму з міофіламентами і елементами саркоплазматичного ретикулуму. Базальні мембрани ГМК були добре виражені і представлені на зрізах тонкою смугою середньої електронної щільності.

Через 3 тижні після кріоденервації *a. hepatica* нами не спостерігалися ознаки регенерації нервових волокон адвентиціальної оболонки в зоні локального кріоповшкодження, що підтверджується даними літератури про тривалість відновного періоду нервової тканини (Митрошникова М.Е. и др., 1988). Мієлінізованих нервових волокон не виявлено, спостерігалися не виявлено, спостерігалися численні залишки розпаду мієліну, велика кількість ядер клітин запального інфільтрату. В адвентиції за межами зовнішньої

еластинової мембрани розташовувалася пухка сполучна тканина, серед елементів якої виявлялися залишки клітинного детриту нервових волокон. Таким чином, морфологічний аналіз показав, що а. heratica щурів після кріоденервації зберігала свою архітектоніку завдяки резистентності до холоду еластिनних і колагенових волокон, які залишалися у вигляді каркаса, на якому відбувалась регенерація стінки судини. Незважаючи на морфологічні зміни в стінці судини, кровотік зберігався, і судина виконувала свою функцію. Через 3 тижні після кріоденервації а. heratica у щурів спостерігалось відновлення всіх шарів судинної стінки за винятком мережі нервових волокон адвентиціальної оболонки.

Вважаємо, що отримані дані дозволяють розглядати модель кріоденервації а. heratica як перспективну для використання в клініці, а також для подальшого вивчення різних питань репаративного гістогенезу периферичних нервів.

Морфологічні аспекти деструктивно-дистрофічних і регенеративних процесів в печінці з експериментальним цирозом після хірургічної корекції. У тварин після закінчення строку введення тетрахлорметану спостерігалася картина вираженого гепатиту з початковими ознаками цирозу печінки. На гістологічних препаратах відмічено однотипні зміни, пов'язані з загальною запальною реакцією і деструкцією. Гепатоцити з некротичними змінами частіше локалізувалися в центролобулярних зонах. Часточкова організація була відсутня або порушена за рахунок жирової дистрофії навколо осередків некрозу і формування несправжніх часточок. Гепатоцити відзначалися вираженим плеоморфізмом, мали різний розмір і форму. Відмічалася вузликова трансформація паренхіми і фіброзних септ. Ознаками стромальної активності були масивна інфільтрація септ лімфоїдними клітинами і фібробласти та проникнення колагенових волокон у вузлики. Спостерігали масові пошкодження цілісності структури гепатоцитів. Відносна частка строми після припинення введення CCl_4 знаходилася на рівні $0,74 \pm 0,12$ умов. од (табл. 3). Об'єм гепатоцитів, які знаходилися у стадії некрозу, досягав рівня 15%.

Через 7 діб у групі 1 (CCl_4 -контроль) значної зміни в гістологічній будові печінки не спостерігалось. Разом з деструктивно-дистрофічними процесами активізувалася проліферація гепатоцитів і більшою мірою клітин строми, що вказувало на активність фібропластичного процесу. Відзначали високу щільність лімфоцитів, які концентрувалися навколо судин і в стромі печінки.

При дослідженні гістологічних препаратів печінки в групах 2 і 3 після денервації а. heratica механічним і кріохірургічним способами через 7 діб виявляли присутність на великих ділянках несправжніх часточок. Гепатоцити характеризувалися варіабельністю розмірів ядер і кількості ядер. Артерії, вени і жовчні протоки мали середньовиражені дисциркуляторні зміни, які за напівкількісною оцінкою були на 30% нижче, ніж в контрольній групі. У цих групах відзначали переважне зменшення деструктивних змін гепатоцитів. Відносна частка строми в цих групах була на одному рівні і складала $0,55 \pm 0,12$ і $0,52 \pm 0,08$ умов. од. відповідно, при цьому ознаки репаративної регенерації

були в 1,5 рази більш вираженими, ніж в контрольній групі того ж строку спостереження.

При морфологічних дослідженнях печінки на 7 добу після локальної кріодеструкції (4 група) встановлено, що на тлі формування несправжніх часточок, в яких була відсутня трабекулярна організація гепатоцитів, виявлялись ділянки печінки з ознаками активної репаративної регенерації. З'являлися молоді новоутворені гепатоцити, які мали полігональну форму і чіткі межі. Ядра цих гепатоцитів містили декілька ядерців, що свідчило про активні внутрішньоклітинні процеси. За напівкількісною оцінкою ступінь регенерації після кріогепатодеструкції був в 2 рази вищий, ніж в групі СС₄-контролю.

У групі 5 на 7 добу після поєднаного використання кріогепатодеструкції і кріоденервації а. hepatica паренхіма печінки нормалізувалася швидше, ніж в інших групах. Навколо центральних вен формувалися радіально розташовані печінкові балки (трабекули) і синусоїди. У синусоїдах реактивність печінкових макрофагів знижувалася. Ознаки портальної гіпертензії визначалися помірною дилатацією центральних вен і артерій портальних трактів. Показник деструкції гепатоцитів відповідав рівню груп 2 і 3, тоді як рівень репаративних проявів був помітно вищий, що також підтверджувалося значною кількістю (до 28%) великоядерних гепатоцитів. Розташовані самотійно або у складі несправжніх часточок вузли-регенерати були чітко відокремлені від навколишніх клітин сполучнотканинними пластинками.

На 30 і 60 добу відмічали подальшу нормалізацію будови печінки тварин, яка була найбільш виражена в 5 групі. У групі СС₄-контролю поліморфізм структурних змін зберігався. Дисциркуляторні порушення виявлялися потовщенням і розволокненням стінок венозних судин, склерозом артерій. Фіброзна тканина, яка оточувала вузли-регенерати, утворювала несправжні часточки, слабо піддавалася зворотному розвитку, про що свідчать достатньо високі показники відносної частки строми на 30 і 60 добу в цій групі (табл.3).

При всіх видах впливів на циротично змінену печінку показник відносної частки строми знижувався. При цьому в 5 групі при поєднаному використанні кріоденервації і кріодії на печінку цей показник знижувався помітніше і на 7 добу спостереження був в 1,5 рази нижчим за контроль. На 30 добу в 5 групі на значних ділянках структура печінки наближалася до норми, гепатоцити формували печінкові балки. Центральні вени мали відносно рівномірні стінки. Ознак порушення їх проникності не визначалося. Регенеративна активність була на тому ж рівні, що і після кріогепатодеструкції відповідного строку. Через 60 діб в паренхімі відмічалася повна нормалізація якісного складу гепатоцитів. Кількість ядер середніх розмірів, властивих функціонально повноцінним гепатоцитам, досягала 83%, що відповідало показникам норми.

Показник відносної частки строми, умов. од.

Групи	Строки спостереження, доба			
	Після моделювання цирозу	7	30	60
Норма	0,15±0,02			
ССl ₄ -контроль	0,74±0,12 ¹	0,75±0,12 ¹	0,63±0,10 ¹	0,58±0,09 ¹
КДПА		0,59±0,04 ¹	0,45±0,05 ¹	0,40±0,06 ¹
МДПА		0,58±0,03 ¹	0,44±0,03 ^{1,2}	0,39±0,04 ^{1,2}
КП		0,61±0,07 ¹	0,42±0,03 ^{1,2}	0,34±0,05 ^{1,2}
КДПА+КП		0,48±0,04 ^{1,3}	0,35±0,04 ^{1,2}	0,23±0,03 ³

Примітки: 1 – відмінності достовірні відносно норми, $p < 0,05$; 2 – відмінності достовірні відносно ССl₄-контролю, $p < 0,05$; 3 – відмінності достовірні відносно інших експериментальних груп того ж строку спостереження, $p < 0,05$.

Поєднане використання періартеріальної кріоденервації а. hepatica з кріодеструкцією печінки сприятливо впливало на перебіг та інтенсивність відновного періоду, що імовірно пов'язано з сумарною дією позитивних ефектів (більшою стимуляцією репаративних процесів і зменшенням деструктивних проявів). Нормалізація структури печінкової тканини цієї групи відбувалася значно раніше, ніж у щурів із спонтанною регенерацією і в інших експериментальних групах.

Вплив денервації печінкової артерії і кріогепатодеструкції на функціональну активність печінки щурів з експериментальним цирозом. У всіх групах тварин після припинення введення ССl₄ відмічалася тенденція до зниження рівня альбуміну в сироватці крові щурів. Через 2 тижні в групі нелікованих тварин ця тенденція посилювалася. У решті груп концентрація альбуміну залишалася на рівні норми. До кінця 2 місяця післяопераційного періоду у всіх групах тварин вміст альбуміну в сироватці крові залишався на рівні фізіологічної норми.

Після припинення введення ССl₄ активність АлАТ і АсАТ, як маркерів цитолітичного синдрому, у всіх групах була вища за норму майже в 10 разів (табл. 4). Через 1 тиждень відновного періоду відмічалася двократне зниження цих показників у всіх експериментальних групах, окрім контрольної, показники в якій знижувалися тільки в 1,5 рази. Це може вказувати на зниження активності запальних процесів в експериментальних групах.

Впродовж всього терміну спостереження тенденція до нормалізації даних показників підтримувалася у всіх групах. До кінця 8 тижня вони досягали норми лише в групах КДПА і КДПА+КП, це може свідчити про зменшення деструктивних явищ, що спостерігалися на гістологічних препаратах, та про

позитивний вплив методів лікування на внутрішньоклітинні репаративні процеси в гепатоцитах.

Таблиця 4

Активність АлАТ і АсАТ (моль/мл/год) в сироватці крові щурів з експериментальним цирозом печінки

	Групи	Після моделювання цирозу	Строк спостереження після операції, доба			
			7	14	30	60
АлАТ	Норма	0,74±0,06				
	CCl ₄ -контроль	7,02±0,53 ²	6,35±0,34 ²	3,58±0,15 ²	1,59±0,14 ²	1,12±0,08 ²
	КДПА	7,24±0,33 ²	3,72±0,51 ^{1,2}	2,27±0,15 ^{1,2}	1,39±0,14 ^{1,2}	0,77±0,08 ¹
	МДПА	7,14±0,28	3,65±0,43 ^{1,2}	2,31±0,22 ^{1,2}	1,44±0,32 ²	1,02±0,11
	КП	7,29±0,24	4,23±0,51 ^{1,2}	2,25±0,18 ^{1,2}	1,54±0,14 ²	1,12±0,10
	КДПА+КП	7,34±0,19 ²	3,24±0,36 ^{1,2}	1,63±0,21 ^{2,3}	1,25±0,18 ^{1,2}	0,76±0,03 ¹
АсАТ	Норма	0,78±0,05				
	CCl ₄ -контроль	8,22±0,27 ²	6,5±0,32 ²	4,14±0,39 ²	2,49±0,04 ²	1,17±0,08 ²
	КДПА	7,40±0,68 ²	4,15±0,18 ^{1,2}	2,60±0,28 ^{1,2}	1,64±0,17 ^{1,2}	0,83±0,05 ¹
	МДПА	7,63±0,53	4,35±0,34 ^{1,2}	2,91±0,37 ^{1,2}	1,71±0,22 ^{1,2}	0,79±0,15 ¹
	КП	7,84±0,49	3,9±0,19 ^{1,2}	2,76±0,29 ^{1,2}	1,69±0,20 ^{1,2}	0,81±0,19 ¹
	КДПА+КП	7,32±0,63 ²	2,82±0,27 ^{2,3}	2,21±0,25 ^{1,2}	1,38±0,05 ^{1,2}	0,73±0,1 ¹

Примітки:– відмінність достовірна відносно CCl₄-контролю того ж строку спостереження, $p<0,05$; 2 – відмінність достовірна відносно норми, $p<0,05$; 3 – відмінність достовірна відносно інших експериментальних груп того ж строку спостереження, $p<0,05$.

Запальна або дегенеративна деструкція печінкових клітин, кровоносних судин, жовчних проток і капілярів супроводжується попаданням в кров жовчі. Наростаюча дисфункція печінки оцінюється, зазвичай, лабораторно за показниками білірубіну. Вміст загального і прямого білірубіну в сироватці крові щурів після закінчення моделювання цирозу був збільшений відповідно в 2,2 і 6,5 разів у порівнянні з групою норми (табл. 5).

До кінця 1 тижня післяопераційного періоду в групі КДПА+КП ці показники знижувалися значніше, ніж в інших групах. До кінця 4 тижня лише в групі КДПА+КП показник загального білірубіну знижувався до норми. В контрольній групі повної нормалізації білірубіну не було зафіксовано до кінця 8 тижня.

Концентрація білірубину в сироватці крові, мкмоль/л

Білірубін	Групи	Після моделювання цирозу	Строки спостереження після операції, доба			
			7	14	30	60
загальний	Норма		11,6±0,22			
	CCl ₄ -контроль	27,6±0,32 ²	25,7±0,22 ²	22,7±0,22 ²	17,3±0,28 ²	14,2±0,51
	КДПА	25,4±0,69 ²	18,4±0,52 ^{1,2}	17,3±0,54 ^{1,2}	12,9±0,45 ^{1,2}	12,1±0,65 ¹
	МДПА	26,9±0,24 ²	18,1±0,35 ^{1,2}	17,1±0,43 ^{1,2}	13,3±0,37 ^{1,2}	12,7±0,41
	КП	25,4±0,54 ²	17,4±0,24 ^{1,2}	16,4±0,52 ^{1,2}	13,2±0,42 ^{1,2}	12,9±0,39
	КДПА+КП	25,7±0,56 ²	15,2±0,48 ^{2,3}	13,1±0,36 ^{2,3}	11,9±0,37 ^{1,3}	11,7±0,26 ¹
прямий	Норма		2,3±0,29			
	CCl ₄ -контроль	13,4±0,52 ²	8,9±0,59 ²	8,2±0,61 ²	5,6±0,82 ²	4,5±0,61 ²
	КДПА	14,1±0,24 ²	6,6±0,32 ^{1,2}	4,9±0,29 ^{1,2}	3,6±0,45 ²	2,6±0,38 ¹
	МДПА	13,6±0,35 ²	6,9±0,36 ^{1,2}	5,3±0,42	3,5±0,28 ^{1,2}	2,6±0,36 ¹
	КП	14,4±0,31 ²	7,1±0,43 ^{1,2}	5,4±0,53	3,8±0,43 ^{1,2}	2,7±0,42 ¹
	КДПА+КП	13,8±0,43 ²	5,2±0,46 ^{1,3}	4,3±0,64 ^{1,2}	3,2±0,39 ¹	2,5±0,45 ¹

Примітки:– відмінність достовірна відносно CCl₄-контролю того ж строку спостереження, $p<0,05$; 2 – відмінність достовірна відносно норми, $p<0,05$; 3 – відмінність достовірна відносно інших експериментальних груп того ж строку спостереження, $p<0,05$.

Паралельно зі зміною показників білірубину під дією CCl₄ в крові підвищувався інший маркер холестаза – лужна фосфатаза (ЛФ), що обумовлено посиленням синтезу ферменту під впливом жовчних кислот. Закупорка жовчних проток звичайно супроводжується різким збільшенням активності ЛФ, хоча у ряді випадків за наявності клінічних ознак холестаза активність ЛФ сироватки може бути в межах норми або навіть знижена, що пов'язано з відсутністю кофакторів даного ферменту (цинку, магнію, В12) (Яковенко Е.П., 1998). У наших дослідженнях після припинення введення CCl₄ активність ЛФ досягала 33-40 ОД, що в 3,5-4 рази вище за нормативні показники (табл. 6). До кінця 1 тижня післяопераційного періоду лише у групі КДПА+КП активність ферменту знижувалася до норми і складала близько 14 ОД. Зниження ЛФ в групі CCl₄-контролю відбувалося плавно, і лише на кінець 8 тижня спостереження рівень активності ЛФ наближався до показників норми.

Підвищення показників осадових проб, зокрема тімолової, може свідчити про ступінь прояву мезенхімально-запального синдрому. Двомісячна інтоксикація CCl₄ приводила до збільшення показників тімолової проби (табл. 7). Через 2 тижні після операцій в групі з поєднанням періартеріальної

денервації і дозованої кріодеструкції печінки рівень тімолової проби був достовірно нижчим, ніж у інших експериментальних групах. При цьому в групі CCl₄-контролю показник тімолової проби не змінювався. На кінець 4-го тижня відмічалось зниження показника у всіх групах з його нормалізацією до кінця строку спостереження.

Таблиця 6

Активність лужної фосфатази (ОД) в сироватці крові

Групи	Після моделювання цирозу	Строки спостереження після операції, доба			
		7	14	30	60
Норма		12,5±0,29			
CCl ₄ -контроль	39,4±0,54 ²	26,7±0,29 ²	20,4±0,51 ²	15,3±0,24 ²	12,7±0,29
КДПА	38,7±0,41 ²	17,9±0,37 ^{1,2}	14,6±0,36 ^{1,2}	15,5±0,57 ²	12,3±0,49
МДПА	33,4±0,53 ²	19,5±0,24 ^{1,2}	16,2±0,36 ^{1,2}	14,8±0,35 ²	12,1±0,25
КП	37,8±0,43 ²	18,6±0,35 ^{1,2}	16,9±0,29 ^{1,2}	15,2±0,28 ²	12,6±0,27
КДПА+КП	37,4±0,52 ²	14,2±0,42 ^{1,2,3}	14,3±0,28 ^{1,2}	13,2±0,41 ¹	12,4±0,27

Примітки:– відмінність достовірна відносно CCl₄-контролю того ж строку спостереження, p<0,05; 2 – відмінність достовірна відносно норми, p<0,05, 3 – відмінність достовірна відносно інших експериментальних груп того ж строку спостереження, p<0,05.

Таблиця 7

Показники тімолової проби (ОД) в сироватці крові щурів

Групи	Після моделювання цирозу	Строки спостереження після операції, доба			
		7	14	30	60
Норма		1,69±0,03			
CCl ₄ -контроль	3,63±0,26 ²	3,59±0,28 ²	3,54±0,37 ²	3,15±0,22 ²	2,08±0,17 ²
КДПА	3,32±0,22 ²	2,8±0,26 ²	2,55±0,30 ^{1,2}	2,18±0,12 ^{1,2}	1,98±0,19
МДПА	3,47±0,13 ²	2,9±0,18 ²	2,68±0,26 ^{1,2}	2,42±0,14 ^{1,2}	1,93±0,29
КП	3,33±0,25 ²	3,01±0,22 ²	2,77±0,19 ^{1,2}	2,14±0,38 ^{1,2}	1,78±0,12
КДПА+КП	3,43±0,31 ²	2,88±0,15 ²	2,06±0,12 ^{1,2,3}	1,88±0,12 ¹	1,75±0,29

Примітки:– відмінність достовірна відносно CCl₄-контролю того ж строку спостереження, p<0,05; 2 – відмінність достовірна відносно норми, p<0,05, 3 – відмінність достовірна відносно інших експериментальних груп того ж строку спостереження, p<0,05.

Відомо, що в механізмах пошкодження гепатобіліарної системи, зокрема запального і дистрофічного характеру, однією з основних ланок патогенезу є гіперліпопероксидація (Яковенко Е.П., 1998), тобто підвищення активності вільно-радикальних процесів в тканинах, що супроводжується викидом продуктів ПОЛ в кров.

Після закінчення введення CCl_4 рівень ТБКАП в сироватці крові в 2 рази перевищував норму. На 7 добу після операцій відмічалось зниження концентрації ТБКАП в сироватці щурів на 20-30% у всіх експериментальних групах. На кінець 1 тижня в групі КДПА+КП цей показник був нижчий, ніж в інших експериментальних групах, а на 14 добу наближався до норми (табл. 8), що свідчить про більш виражений антиоксидантний ефект від оперативних дій у цій групі.

На 30 добу спостережень підвищений рівень ТБКАП в сироватці був тільки у тварин з цирозом печінки без лікувальних дій, у решті груп цей показник активності ПОЛ наближався до норми.

Таблиця 8

Рівень ТБКАП (нмоль/мл) в сироватці крові щурів

Групи	Після моделювання цирозу	Строки спостереження після операції, доба			
		7	14	30	60
Норма		3,48±0,15			
CCl_4 -контроль	6,8±0,4 ²	7,02±0,3 ²	6,18±0,59 ²	5,43±0,4 ²	3,89±0,3
КДПА	7,02±0,2 ²	5,2±0,2 ^{1,2}	4,45±0,3 ^{1,2}	3,64±0,3 ¹	3,68±0,4
МДПА	6,77±0,3 ²	5,4±0,3 ^{1,2}	4,34±0,4 ^{1,2}	3,95±0,2 ¹	3,75±0,4
КП	6,94±0,2 ²	5,2±0,2 ^{1,2}	4,4±0,4 ^{1,2}	3,75±0,4 ¹	3,55±0,2
КДПА + КП	6,88±0,3 ²	4,4±0,15 ^{1,2,3}	3,72±0,2 ³	3,56±0,2 ¹	3,47±0,3

Примітки:– відмінність достовірна відносно CCl_4 -контролю того ж строку спостереження, $p<0,05$; 2 – відмінність достовірна відносно норми, $p<0,05$, 3 – відмінність достовірна відносно інших експериментальних груп того ж строку спостереження, $p<0,05$.

Результати біохімічних досліджень свідчать, що найбільш активна стимуляція репаративних процесів у циротично зміненій печінці експериментальних тварин спостерігалася при поєднаному використанні кріогепатодеструкції і кріоденервації а. hepatica. Це виражалося в тому, що переважно в цій групі впродовж місяця відновлювалися до нормального рівня всі досліджені показники: через місяць практично нормалізувався рівень білірубіну і тімолової проби, через 2 тижні втричі знизились показники АлАТ і АсАТ у цій групі, виходив на рівень норми показник лужної фосфатази і рівень ТБКАП.

Поєднане застосування кріогепатодеструкції і кріоденервації печінкової артерії при лікуванні експериментального цирозу не тільки сприяло відновленню функцій печінки, але і прискорювало їх нормалізацію в більш ранні строки, на відміну від застосування даних методів окремо.

Наведене вище свідчить про те, що поєднання кріогепатодеструкції та кріоденервації печінкової артерії забезпечує високу ефективність лікування експериментального цирозу печінки.

ВИСНОВКИ

Дисертаційна робота містить теоретичне і експериментальне обґрунтування нового підходу – одночасного використання періартеріальної денервації а. hepatica і локальної кріогепатодеструкції – для вирішення проблеми стимуляції процесів відновлення в циротично зміненій печінці шляхом впливу на різні патогенетичні ланки патофізіологічного процесу.

1. Розроблено способи періартеріальної денервації печінкової артерії щурів шляхом механічного та низькотемпературного пошкодження адвентиції судини. Доведено перевагу кріохірургічного варіанту денервації а. hepatica над механічним способом, яка полягає в більш простій техніці оперативного втручання, прискоренні виконання і меншій травматичності.

2. Встановлено, що кріоденервація а. hepatica з експозицією кріовпливу 1 хв при температурі -120°C забезпечує тривале, не менше 3 тижнів, пошкодження нервових волокон в адвентиціальній оболонці на тлі збереження стромального каркаса судини з подальшим відновленням гладком'язового і ендотеліального компонентів протягом цього терміну.

3. Встановлено, що після проведення денервації а. hepatica механічним та кріохірургічним способами відбувається стійке, не менш як на 14 діб, збільшення діаметру синусоїдів печінки (на 30-40%) і відносної площі судинного русла (на 50 і 75% відповідно в нормальній і циротично зміненій печінці).

4. За даними гістологічних та біохімічних досліджень встановлено, що при експериментальному цирозі печінки механічний і кріохірургічний способи проведення періартеріальної денервації а. hepatica є ефективними в рівній мірі.

5. Встановлено, що поєднання кріоденервації а. hepatica з дозованою кріогепатодеструкцією сприяє прискоренню активного зворотного розвитку склерозування в циротично зміненій печінці, яке в цій групі вже на 7 добу після операцій є достовірно менш вираженим, ніж в інших експериментальних групах.

6. Поєднане використання періартеріальної кріоденервації а. hepatica з кріодеструкцією циротично зміненої печінки сприяє інтенсифікації відновлення гістологічної будови пошкодженого органа, що пов'язано з більшою стимуляцією репаративних процесів та зменшенням деструктивних проявів у печінці. Ознаки нормалізації структури печінкової тканини у тварин цієї групи спостерігаються значно раніше, вже через 7 діб після оперативного втручання, ніж у тварин із спонтанною регенерацією і в інших експериментальних групах.

7. Показано, що поєднане застосування кріогепатодеструкції і періартеріальної кріоденервації а. hepatica на тлі експериментального цирозу стимулює відновлення функціональної активності пошкодженої печінки в більш ранні строки, а саме сприяє нормалізації рівня печінкових амінотрансфераз, а також рівня білірубіну і активності лужної фосфатази, зниженню активності процесів пероксидації ліпідів на 7-14 діб раніше, ніж після окремого використання зазначених хірургічних методів.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Чиж Н.А. Влияние денервации печеночной артерии и криодеструкции печени на биохимические показатели при экспериментальном циррозе / Н. А. Чиж, И. В. Белочкина, Б. П. Сандомирский // Проблемы криобиологии. – 2007. – Т. 17, № 1. – С. 93–98.
2. Чиж Н.А. Влияние периаартериальной денервации и криодеструкции на регенерацию печени при экспериментальном циррозе / Н.А. Чиж, Н.В. Дедух, И.В. Белочкина, Б.П. Сандомирский // Світ медицини та біології. – 2007. – № 1. – С. 76–81.
3. Чиж М.О. Поєднане використання денервації печінкової артерії і локальної кріогепатодеструкції при експериментальному цирозі печінки / М.О. Чиж, І.В. Белочкіна, І.В. Слета, Б.П. Сандомирський // Практична медицина. – 2008. – Т. 14, № 3. – С. 192–201.
4. Чиж Н.А. Изучение кровотока печени после криоденервации печеночной артерии / Н.А. Чиж // Проблемы криобиологии. – 2008. – Т. 18, № 1. – С. 88–90.
5. Чиж Н.А. Ультраструктура печеночной артерии после криоденервации / Н.А. Чиж, Л.Н. Марченко, И.В. Белочкина, Н.В. Ретин, Б.П. Сандомирский // Український морфологічний альманах. – 2008. – Т. 6, № 3. – С. 84–87.
6. Україна, пат. на к/м № 35602, МПК (2006) A61B17/00, Заявл. 30.04.2008, публ. 25.09.2008, Бюл. № 18 «Хірургічний спосіб лікування хронічних дифузних захворювань печінки», авт. Чиж М.О., Белочкіна І.В., Сандомирський Б.П. 3-к: ІПКіК НАН України.
7. Чиж М.О., Белочкіна І.В., Сандомирський Б.П. Розвиток тетрахлорметан-індукованого ураження печінки у щурів при пероральному введенні молозива корів // Матеріали ЧЙ Конгресу Світової Федерації українських лікарських товариств (СФУЛТ), м. Полтава, 28–30 серпня 2006р., Полтава, 2006. – С. 599–600.
8. Чиж Н.А. Периаартериальная денервация и локальная криодеструкция печени при экспериментальном циррозе / Н.А. Чиж // Проблемы криобиологии. – 2007. – Т. 17, № 2. – С. 213.
9. Чиж М.О., Белочкіна І.В., Сандомирський Б.П. Кріохірургічні підходи до лікування цирозу печінки в експерименті // Матеріали науково-практичної конференції «Внутрішні хвороби: Нові аспекти», м. Харків, 18 жовтня 2007 р., Харків, 2007. – С. 147.
10. Слета І.В., Чиж М.О., Белочкіна І.В., Луценко Д.Г., Сандомирський Б.П. Експериментальні дослідження кровообігу печінки при комбінованому кріохірургічному лікуванні цирозу // Матеріали науково-практичної

конференції «Пріоритетні питання діагностики і терапії внутрішніх хвороб», м. Харків, 15 жовтня 2008 р., Харків, 2008. – С. 123.

11. *Слета І.В., Олефіренко О.О., Чиж М.О., Белочкіна І.В., Гальченко С.Є., Сандомирський Б.П.* Поєднання кріохірургічних методів і введення тканинних екстрактів для лікування експериментального цирозу печінки // Матеріали ЧЙЙ Конгресу Світової Федерації українських лікарських товариств (СФУЛТ), м. Івано-Франківськ, 25-28 вересня 2008 р., Івано-Франківськ, 2008. – С. 218.

12. *Чиж М.О., Марченко Л.Н., Белочкина І.В., Слета І.В., Сандомирський Б.П.* Дослідження кровотока печінки та ультраструктури печінкової артерії після її денервації // Матеріали науково-практичної конференції «Вклад молодих вчених в розвиток медичної науки і практики», м. Харків, 30 жовтня 2008 р., Харків, 2008. – С. 148–149.

13. *Слета І.В., Олефіренко А.А., Чиж Н.А., Луценко Д.Г., Белочкина І.В., Гальченко С.Є., Сандомирський Б.П.* Микроциркуляция печени при различных способах лечения экспериментального цирроза // Проблемы криобиологии. – 2008. – Т. 18, № 2. – С. 242.

АНОТАЦІЇ

Чиж М.О. Застосування низьких температур для гепатодеструкції і денервації печінкової артерії при цирозі печінки (експериментальне дослідження). – Рукопис.

Дисертаційна робота на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – кріомедицина. – Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, 2009.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню впливу поєднаного використання періартеріальної кріоденервації печінкової артерії і кріогепатодеструкції на характер і динаміку відновних процесів в печінці при експериментальному цирозі.

Розроблено способи періартеріальної денервації печінкової артерії щурів шляхом механічного та низькотемпературного пошкодження адвентиції судини. Показано перевагу кріохірургічного варіанту денервації а. heratica над механічним способом, яка полягає в більш простій техніці оперативного втручання, прискоренні виконання і меншій травматичності маніпуляції.

Встановлено, що поєднане застосування періартеріальної кріоденервації печінкової артерії і кріогепатодеструкції найбільш активно стимулює відновлення гістологічної будови і функціональної активності пошкодженої печінки, про що свідчила нормалізація всіх досліджуваних гепатозалежних метаболічних маркерів на 7-14 діб раніше, ніж після окремого використання зазначених хірургічних методів.

Ключові слова: цироз печінки, кріодеструкція, денервація, печінкова артерія, регенерація.

Чиж Н.А. Применение низких температур для гепатодеструкции и денервации печеночной артерии при циррозе печени (экспериментальное исследование). – Рукопись.

Диссертационная работа на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.35 – криомедицина. – Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, 2009.

Большинство препаратов, представленных на фармакологическом рынке, а также ряд методов оперативных вмешательств имеют симптоматическую направленность и не решают в полной мере проблему терапии хронических гепатитов и цирроза печени.

В связи с этим актуальны методы, с помощью которых можно усилить репаративную регенерацию органа. Этого можно достичь путем частичной гепатэктомии или дозированной гепатодеструкции с применением хирургических и физических методов, включая криодеструкцию печени. Известно, что улучшение кровоснабжения печени благоприятно влияет на регенерацию клеточных элементов паренхимы органа и нормализует его функциональное состояние. Устранение нейротрофических и циркуляторных нарушений печени путем блокады сосудосуживающих импульсов симпатической нервной системы способствует оксигенации органа. Операцией выбора в данном случае является денервация печеночной артерии.

В диссертационной работе проведено сравнительное изучение влияния дозированной криогепатодеструкции, періартериальной денервации печеночной артерии, а также их совместного применения на характер и динамику восстановительных процессов в печени при экспериментальном циррозе.

В работе были проведены оперативные вмешательства с применением биохимических, биомикроскопических, гистологических, электронно-микроскопических и статистических методов исследований.

Разработано два способа періартериальной денервации а. hepatica у крыс путем механического или низкотемпературного повреждения адвентиции сосуда. Показано преимущество криохирургического варианта денервации а. hepatica над механическим способом, которое заключается в более простой технике оперативного вмешательства, ускорении выполнения и меньшей травматичности.

При морфологическом анализе а. hepatica крыс после криоденервации отмечено повреждение адвентициального слоя и частично эндотелиального, мышечного слоев. Через 3 недели после криоденервации а. hepatica крыс наблюдалось восстановление всех слоев сосудистой стенки, за исключением сети нервных волокон адвентициальной оболочки.

Денервация а. hepatica, выполненная механическим или низкотемпературным воздействием, значительно влияет на микроциркуляторное русло печени, способствуя увеличению диаметра синусоидов и площади сосудистого русла на 30-40 %.

Ускоренное восстановление гистологической структуры печени в группе сочетанного использования періартериальной криоденервации а. hepatica и

криогепатодеструкції соответствовало более раннему (на 7-14 сутки) по сравнению с другими группами, восстановлению функций печени: через 2 недели после операций наблюдали трехкратное снижение показателей АлАТ и АсАТ в этой группе; приближался к норме показатель щелочной фосфатазы и уровень ТБКАП; показатели билирубина и тимоловой пробы полностью нормализовались через месяц.

Таким образом, сочетанное использование періартеріальної криоденервации а. hepatica с криодеструкцией печени благоприятно влияло на течение восстановительного периода, способствовало его интенсификации, что, по-видимому, связано с суммарным действием положительных эффектов (большей стимуляцией репаративных процессов и уменьшением деструктивных проявлений).

Ключевые слова: цирроз печени, криодеструкция, денервация, печеночная артерия, регенерация.

Chizh N.A. Application of low temperatures for hepatodestruction and denervation of hepatic artery at liver cirrhosis (experimental study). – Manuscript.

Thesis for the candidate of medical sciences degree in speciality 14.01.35 – Cryomedicine. – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, 2009.

The dissertation covers the studies of the effect of combined use of periarterial cryodenervation of hepatic artery and cryohepatodestruction on character and dynamics of regeneration processes in liver at experimental cirrhosis.

There have been designed the methods of periarterial denervation of rat's hepatic artery of mechanic and low temperature damage of vessel adventitia. There has been demonstrated the advantage of cryosurgical variant of *a. hepatica* denervation in comparison with the mechanical method, consisting in more simple technique of operative invasion, acceleration of performance and less traumatic manipulation.

It has been established that the combined use of periarterial cryodenervation of hepatic artery and cryohepatodestruction stimulates more actively the regeneration of histological structure and functional activity of damaged liver, which was confirmed with normalization of all the studied hepato-dependent metabolic markers by 7-14 days earlier than after single application of the surgical methods mentioned.

Key words: liver cirrhosis, cryodestruction, denervation, hepatic artery, regeneration.

Відповідальний за випуск Г.О. Бабійчук