

вызывающих снижение уровня холестеринемии. В пользу этого предположения свидетельствуют результаты исследований, согласно которым в тканях организма, облученного в значительно больших дозах, активируется биосинтез холестерина [5].

Из представленных данных видно, что на 3 и 10 сутки после облучения наблюдалась тенденция к снижению активности АЛТ при облучении в дозе 0,5 Гр, в то же время при радиационном воздействии в дозе 1 Гр на 3 сутки активность этого фермента достоверно снижается. Что же касается активности АСТ, отметим достоверное снижение активности фермента на 10 сутки после облучения в дозе 0,5 Гр и на 3 сутки после облучения в дозе 1,0 Гр и наличие тенденции к снижению активности в последующие сроки наблюдения. Согласно данным литературы, в сыворотке крови мышей, которых в течение 1,5 месяцев кормили молоком с разным содержанием радионуклидов, при нормальном или повышенном радиационном фоне обнаружили увеличение активности АЛТ и АСТ [6], что, вероятно, вызвано радиационным повреждением печени, миокарда и др. тканей.

Описанное снижение активности АЛТ и АСТ обусловлено, на наш взгляд, увеличением клиренса указанных ферментов и возможным использованием их в качестве источника аминокислот.

Известно, что ответная реакция организма на облучение обусловлена, прежде всего, первичным радиобиологическим эффектом, вызван-

ным непосредственным повреждением тканей ионизирующим излучением и инициирующим последующие изменения гомеостатических систем регуляции метаболических процессов.

Таким образом, наблюдаемые нами изменения биохимических параметров облученного в сравнительно малых дозах организма животных свидетельствуют о существенных нарушениях гомеостатических процессов, которые при наличии других негативных факторов могут способствовать развитию патологических состояний организма.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Прокофьев, О. Н. Определение внутреннего облучения людей при землепользовании на территории, загрязненной радионуклидами / О. Н. Прокофьев // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2002. — № 4. — С. 457–461.
2. Белоусова, Т. В. Динамика изменений гепаринсвязывающей активности белков мозга крыс после фракционированного воздействия ионизирующего излучения низкой интенсивности / Т. В. Белоусова, Г. А. Ушакова // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2003. — № 1. — С. 44–48.
3. Трахтенберг, И. М. [и др.] // Проблемы нормы в токсикологии. — М.: Медицина, 1991. — 208 с.
4. Троицкий, Г. В. Дефектные белки / Г. В. Троицкий. — Киев: Наукова думка, 1991. — 230 с.
5. Коломийцева, И. К. Радиационная биохимия мембранных липидов / И. К. Коломийцева. — М.: Наука, 1989. — 181 с.
6. Бевзо, В. В. Активность ферментов белкового обмена у животных в условиях повышенного радиационного фона / В. В. Бевзо, Т. В. Морозова, Л. Т. Оплачко // Окружающая среда и здоровье: материалы междунар. науч. конф. — Черновцы, 1993. — С. 65.
7. Коваленко, А. Н. Пострадиационная эндокринопатия у участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС / А. Н. Коваленко. — Киев, 1998. — С. 181.

Поступила 29.04.2010

УДК 616.37-072.5-092.9

ВЛИЯНИЕ ОДНОКРАТНОЙ ПУНКЦИОННОЙ АСПИРАЦИИ НА КЛЕТОЧНЫЕ ПОПУЛЯЦИИ ПСЕВДОКИСТЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (экспериментальное исследование)

С. В. Дорошкевич, Е. Ю. Дорошкевич, В. Н. Жданович

Гомельский государственный медицинский университет

Цель исследования — изучить клеточные популяции нейтрофильных лейкоцитов, макрофагов, фибробластов и лимфоцитов в системе соединительной ткани стенки псевдокисты поджелудочной железы после пункционной аспирации с использованием количественных методов. Для моделирования псевдокисты применяли локальное холодное воздействие на поджелудочную железу белой крысы с помощью криохирургического комплекса КСН ЗА/В. Пункцию псевдокисты производили на 14 сутки эксперимента. Пункционная аспирация содержимого псевдокисты сопровождается макрофагальной реакцией. Наблюдается увеличение количества фибробластов и лимфоцитов. Отмечается общее снижение содержания клеток в стенке псевдокисты преимущественно за счет уменьшения числа нейтрофильных лейкоцитов.

Ключевые слова: клеточные популяции, пункция, псевдокиста, поджелудочная железа.

INFLUENCE OF THE UNITALY PUNCTURAL ASPIRATION ON THE CELLULAR POPULATIONS OF THE PSEUDOCYST OF THE PANCREAS (experimental research)

S. V. Doroshkevich, E. Yu. Doroshkevich, V. N. Zhdanovich

Gomel State Medical University

The purpose of the research is to learn the cellular populations of neutrophiled leucocytes, macrophages, fibroblasts and lymphocytes in the system of copulative tissue of the side of the pancreas after the punctural aspiration with the usage of quantitative methods. Local cold influence of the pancreas of white rat with the help of cryosurgical complex

KCN 3A/B was used for the modeling of the pseudocyst. The puncture of the pseudocyst was made on the 14th day of the experiment. The punctural aspiration of the contents of the pseudocyst is accompanied by macrophagal reaction. The increase of the quantity of fibroblasts and lymphocytes is watched. The general decrease of the contents of cells in the side of the pseudocyst mainly at the expense of reduction number neutrophiled leucocytes is watched.

Key words: cellular populations, puncture, pseudocyst, pancreas.

Введение

Впервые чрескожную аспирационную пункцию псевдокисты поджелудочной железы произвели в 1867 г. Luskе и Klebs, но из-за развившихся осложнений результат был неудовлетворительный. Пункционный метод долгое время оставался невостребованным. Благодаря достижениям технического прогресса появилась возможность развития малоинвазивных методов лечения псевдокист поджелудочной железы. Обнадёживающие результаты получены в 70–80 гг. прошлого столетия при использовании ультразвукового исследования и компьютерной томографии.

Большинство авторов подчеркивают высокую эффективность аспирационного пунктирования при несформированных псевдокистах без капсулы [1, 2]. В то же время сохраняется сомнение в необходимости пункции псевдокист поджелудочной железы. В литературных источниках содержатся сведения о возможности спонтанного регресса псевдокист [3].

Возможности метода пункционного лечения псевдокист поджелудочной железы не до конца изучены, что отражается в противоречивости мнений об его эффективности. В связи с этим большое значение приобретают экспериментальные данные, характеризующие воздействие однократной пункционной аспирации на клеточные популяции псевдокисты поджелудочной железы.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование выполнено на 66 нелинейных белых крысах весом 160–180 граммов с соблюдением правил, предусмотренных Европейской комиссией по надзору за проведением лабораторных и других опытов с участием экспериментальных животных разных видов.

Моделирование псевдокисты поджелудочной железы производили по оригинальной методике [4]. Под эфирным наркозом выполняли срединную лапаротомию. Для локальной гипотермии поджелудочной железы использовали криохирургический комплекс KCN 3A/B (фирма Хирана, г. Брно, Чехия), применяемый для местного замораживания тканей. Охлаждение железы осуществляли интраоперационно, путем непосредственного соприкосновения криохирургического наконечника с тканью поджелудочной железы. Использовали температурный режим $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Воздействие низкой температуры осуществляли в течение 60 секунд.

Охлажденный участок железы оттаивал в течение 30 секунд, после чего селезеночный сегмент поджелудочной железы вместе с сальником и селезенкой погружали в брюшную полость. Операционную рану ушивали послойно наглухо.

Выбор времени воздействия обусловлен, с одной стороны, теплопроводностью криохирургического наконечника, а с другой — анатомическими параметрами поджелудочной железы белой крысы. Пункцию псевдокисты производили на 14 сутки эксперимента. Выбор обусловлен тем, что через 14 суток после холодового воздействия определяется четко отграниченная киста.

Пункционное аспирирование выполняли с соблюдением правил асептики и антисептики. Под эфирным наркозом производили релапаротомию. В рану выводили селезеночный сегмент поджелудочной железы вместе с сальником и селезенкой, а также псевдокисту. Рыхлые спайки осторожно разрушали и высвобождали псевдокисту. Выделив стенку псевдокисты, производили пункцию и аспирацию содержимого. После чего селезеночный сегмент поджелудочной железы вместе с сальником, селезенкой и пунктированной псевдокистой погружали в брюшную полость. Рану наглухо ушивали.

Забой животных производили на 1, 3, 7, 16 и 31 сутки после выполнения пункционного аспирирования. Для гистологического исследования брали, подвергнув пункционному аспирированию псевдокисту поджелудочной железы, а также саму железу с парапанкреатической клетчаткой, брыжейку тонкой и толстой кишки, большой сальник.

Материал фиксировали в 10-процентном нейтральном формалине, проводили через спирты возрастающей концентрации, заливали в парафин с воском. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5 мкм. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

После идентификации в стенке псевдокисты клеточных элементов (нейтрофильные лейкоциты, лимфоциты, макрофаги и фибробласты) определяли общее количество клеток, а также выводили процентное содержание каждой популяции. Клетки подсчитывали в 100 случайно просмотренных полях зрения на 5 срезах и пересчитывали на 1 мм^2 поверхности среза стенки псевдокисты поджелудочной железы.

Полученные результаты обработали с помощью пакета компьютерных программ статистического анализа «Microsoft Excel», 2003 и «Statistica» 6.0.

Результаты и обсуждение

Через сутки после пункционной аспирации содержимого псевдокисты в брюшной полости экссудата не обнаружено. Определяется незначительный отек серозных оболочек. В парапанкреатической клетчатке имеется подвижное, округлой формы образование, белесого цвета, мягко-эластичной консистенции.

Гистологически стенка образования состоит из двух слоев: наружного — более плотного, состоящего из оформленной соединительной ткани, и внутреннего — образованного грануляционной тканью.

В наружном слое преобладают концентрически ориентированные волокнистые структуры. Выявляются различной степени зрелости фибробласты, которые при светооптической

микроскопии удается разделить малодифференцированные, зрелые и фиброциты.

Внутренний слой богат клеточными элементами, преобладают нейтрофильные лейкоциты, макрофаги и фибробласты.

В стенке псевдокисты определяются расширенные и полнокровные кровеносные сосуды, наибольшее их число содержится во внутреннем слое. В полости псевдокисты имеется жидкость, содержащая нейтрофильные лейкоциты, макрофаги и незначительное количество эритроцитов.

После идентификации произведен подсчет клеточных элементов (нейтрофильных лейкоцитов, макрофагов, фибробластов, лимфоцитов) в стенке псевдокисты. Определено их общее количество (таблица 1).

Таблица 1 — Количество клеток в 1 мм² стенки псевдокисты поджелудочной железы после однократной пункционной аспирации (M ± m)

Сроки после пункционной аспирации псевдокисты, сутки	Наименование клеточных популяций				Общее количество клеток исследуемых популяций
	нейтрофильные лейкоциты	макрофаги	фибробласты	лимфоциты	
1	800 ± 3 (889 ± 5)###	566 ± 2 (545 ± 4)##	411 ± 4 (410 ± 3)	120 ± 2 (125 ± 2)	1894 ± 4 (1970 ± 6)###
3	540 ± 3*** (779 ± 4)###	560 ± 2 (510 ± 3)###	490 ± 4*** (431 ± 4)###	130 ± 2** (136 ± 3)	1720 ± 4*** (1855 ± 9)###
7	410 ± 3*** (630 ± 4)###	510 ± 5*** (486 ± 6)#	561 ± 4*** (451 ± 5)###	150 ± 2*** (143 ± 3)	1631 ± 7*** (1709 ± 8)###
16	329 ± 2*** (429 ± 3)###	470 ± 3*** (561 ± 4)###	590 ± 5** (494 ± 7)###	161 ± 4* (158 ± 5)	1549 ± 6*** (1641 ± 12)###
31	280 ± 3*** (362 ± 4)###	421 ± 4*** (434 ± 5)	601 ± 4 (541 ± 5)###	171 ± 2 (166 ± 3)	1472 ± 9*** (1502 ± 11)

Примечание: 1) различия достоверны по отношению к предыдущему показателю: * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001;

2) различия достоверны при сравнении с показателями псевдокисты, не подвергшейся пункционной аспирации: # p < 0,05; ## p < 0,01; ### p < 0,001;

3) в скобках указано количество клеток в 1 мм² стенки псевдокисты поджелудочной железы, не подвергшейся пункционной аспирации.

Полученные морфометрические данные позволяют изучить преобразования клеточных популяций псевдокисты после однократной пункционной аспирации ее содержимого.

Спустя 1 сутки после пункционной аспирации снизилось общее количество клеток на 1 мм² стенки псевдокисты на 5,5 %. Уменьшилось количество нейтрофильных лейкоцитов на 15,1 %. Число макрофагов, фибробластов и лимфоцитов увеличилось, соответственно, на 1,1, 2,7 и 0,8 % (p > 0,05). Соотношение исследованных клеточных популяций установилось следующее: нейтрофильные лейкоциты — 42,2 %, макрофаги — 29,8 %, фибробласты — 21,7 % и лимфоциты — 6,3 % (рисунок 1).

На 3 сутки после однократной пункционной аспирации в сравнении с первыми сутками на 10,1 % снизилось общее количество клеток. Уменьшились популяции нейтро-

фильных лейкоцитов и макрофагов, соответственно, на 48,1 и 1,1 %. Увеличилось количество фибробластов на 16,1 %, а лимфоцитов — на 7,7 %. Соотношение клеточных популяций: нейтрофильные лейкоциты — 31,4 %, макрофаги — 32,6 %, фибробласты — 28,5 %, лимфоциты — 7,5 %.

На 7 сутки эксперимента в сравнении с 3 сутками изменение морфологических параметров следующее: на 5,4 % снизилось общее количество клеток на 1 мм² стенки псевдокисты, уменьшились на 31,7 % популяции нейтрофильных лейкоцитов и 9,8 % — макрофагов. Число фибробластов и лимфоцитов увеличилось, соответственно, на 12,7 и 15,3 %. Соотношение клеточных популяций установилось следующее: нейтрофильные лейкоциты — 25,1 %, макрофаги — 31,3 %, фибробласты — 34,4 % и лимфоциты — 9,2 %.

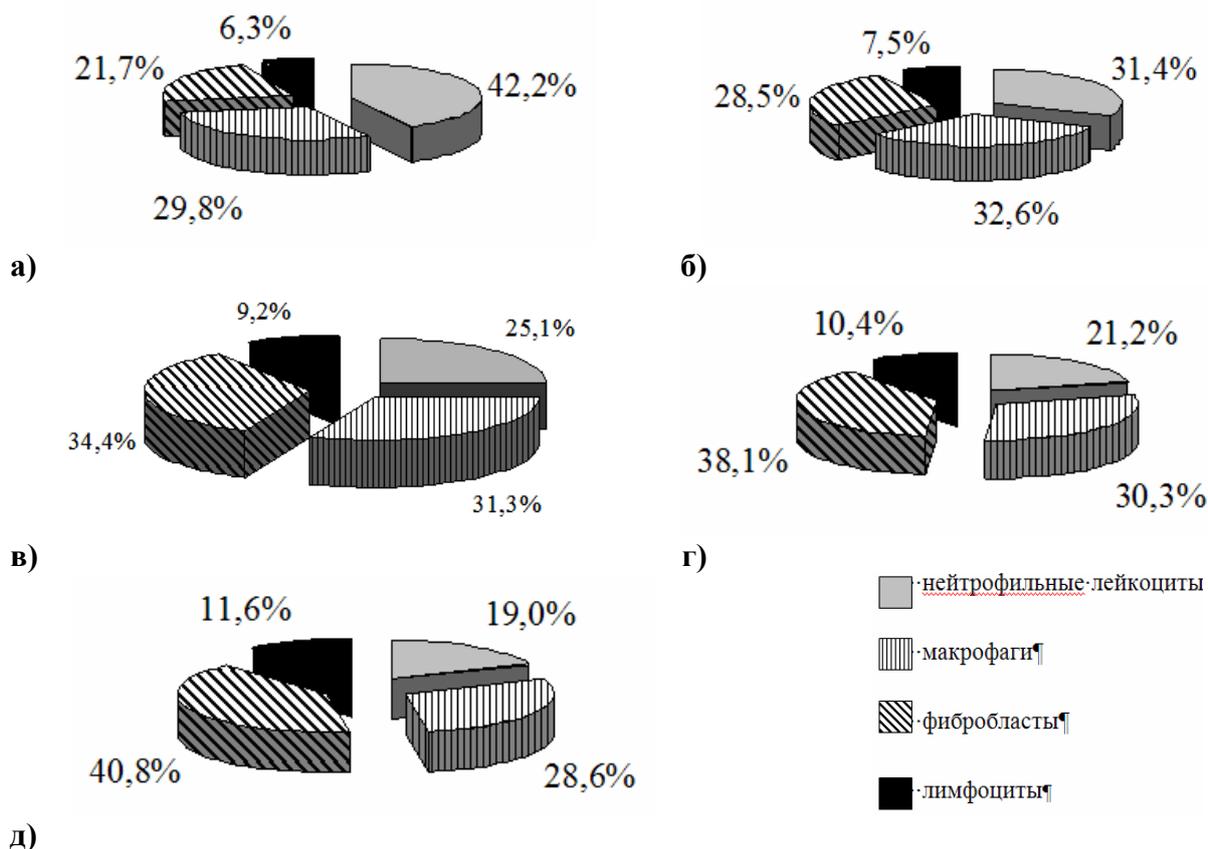


Рисунок 1 — Соотношение исследуемых клеточных популяций в стенке псевдокисты белой крысы после однократной пункционной аспирации в разные сроки эксперимента: а) 1 сутки, б) 3 сутки, в) 7 сутки, г) 16 сутки, д) 31 сутки

На 16 сутки после однократной пункционной аспирации по сравнению с 7 сутками эксперимента общее количество клеток снизилось на 5,3 %. Отмечено достоверное ($p < 0,001$) уменьшение числа нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов, соответственно, на 24,6 и 8,5 %. Увеличилось количество фибробластов на 4,9 % и лимфоцитов — на 6,8 %. Соотношение между исследуемыми клеточными популяциями установилось следующее: нейтрофильные лейкоциты — 21,2 %, макрофаги — 30,3 %, фибробласты — 38,1 % и лимфоциты — 10,4 %.

К завершению эксперимента на 31 сутки по сравнению с 16 сутками общее содержание клеток исследуемых популяций на 1 мм² стенки псевдокисты сократилось на 5,2 %, снизилось количество нейтрофильных лейкоцитов, макрофагов и фибробластов, соответственно, на 17,5, 11,6, и 1,8 %. Число лимфоцитов возросло на 5,8 %. Соотношение между клеточными популяциями следующее: нейтрофильные лейкоциты — 19,0 %, макрофаги — 28,6 %, фибробласты — 40,8 % и лимфоциты — 11,6 %.

У псевдокисты через 1 сутки после пункционной аспирации содержимого в сравнении с псевдокистой, у которой не производилась пункционная аспирация, содержание клеток в 1 мм² стенки псевдокисты снижено на 3,9 %.

Отличалось количество клеток в каждой из исследуемых популяций. Содержание нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов меньше, соответственно, на 10,0 и 4,0 %, а макрофагов и фибробластов — больше на 3,9 и 0,2 %. Различия в относительном соотношении лимфоцитов не установлено. Определяется относительное снижение нейтрофильных лейкоцитов на 2,9 % и увеличение макрофагов и фибробластов, соответственно, на 2,0 и 0,9 %.

Спустя 3 суток после пункционной аспирации содержание клеток снизилось на 7,2 %. Установлено различие в количестве клеток изучаемых популяций: число нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов уменьшилось, соответственно, на 30,7 и 4,4 %, а макрофагов и фибробластов — увеличилось на 9,8 и 13,7 %. Сократилось относительное содержание нейтрофильных лейкоцитов на 10,6 %, а макрофагов, фибробластов и лимфоцитов соответственно возросло на 5,1, 5,3 и 0,2 %.

Псевдокиста, подвергшаяся пункционному аспирированию содержимого, спустя 7 суток имела на 4,6 % меньшее содержание клеток в 1 мм² стенки псевдокисты. Количество нейтрофильных лейкоцитов сокращается на 34,9 %. Число макрофагов, фибробластов и лимфоцитов возрастает, соответственно, на 4,9; 24,4 и 4,9 %. Различия в отно-

сительном соотношении заключаются в уменьшении на 11,8 % нейтрофильных лейкоцитов и увеличении макрофагов, фибробластов и лимфоцитов, соответственно, на 2,9, 8,0 и 0,9 %.

У псевдокисты через 16 суток после аспирационной пункции в сравнении с псевдокистой, у которой не проводилось аспирирование, содержание клеток снизилось на 5,6 %. Количество нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов уменьшилось, соответственно, на 23,3 и 16,2 %, увеличилось число фибробластов и лимфоцитов — на 19,4 и 1,9 %. Снизилось относительное содержание нейтрофильных лейкоцитов на 4,9 %, макрофагов — на 3,9 % и возросло фибробластов — на 8,0 %, лимфоцитов — на 0,8 %.

На 31 сутки после однократной аспирации в сравнении с псевдокистой, не подвергшейся данной манипуляции, установлен ряд различий. Общее содержание клеток на 1 мм² стенки псевдокисты меньше на 2,0 %. Снижено на 22,7 % количество нейтрофильных лейкоцитов и 3,0 % макрофагов. Возросло на 11,1 % число фибробластов и на 3,0 % лимфоцитов. Установлены различия в относительном соотношении изучаемых клеточных популяций. Меньше нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов, соответственно, на 5,1 и 0,3 %. Больше фибробластов и лимфоцитов — на 4,8 и 0,6 %.

В сложных процессах морфогенеза псевдокисты поджелудочной железы после однократной пункционной аспирации ключевую роль играет дифференциация клеток, а также межклеточные взаимодействия.

Общее количество клеток исследуемых популяций после пункционной аспирации снижено. Достоверно меньше нейтрофильных лейкоцитов, что обусловлено удалением содержимого псевдокисты, включающего большое число физиологически активных продуктов из разрушенных клеточных компонентов, таких как цитоплазматические и ядерные белки, полипептиды, аминокислоты, нуклеопротеиды, нуклеотиды, а также лизосомные кислые гидролазы и нейтральные протеазы.

Количество макрофагов на протяжении с 1 по 7 сутки больше, а на 16 сутки снижается. Увеличение числа макрофагов связано с реакцией тучных клеток. Гистамин и другие продукты, выделяемые при дегрануляции тучных клеток, способны привлекать мононуклеарные клетки и активировать функцию фагоцитов [5]. Достоверно больше фибробластов, что обусловлено интенсивным процессом реорганизации соединительной ткани. С 7 суток количество лимфоцитов больше в сравнении с псевдокистой, не подвергавшейся пункционной аспирации. Увеличение числа лимфоцитов свидетельствует об усилении иммунного контроля за морфогенезом соединительной ткани. Лимфоциты регулируют необходимое соотношение структуры и функции. В-лимфоциты стимулируют, а Т-лимфоциты тормозят клеточную пролиферацию.

Заключение

Однократная пункционная аспирация содержимого псевдокисты включает ряд клеточных реакций. Снижается содержание нейтрофильных лейкоцитов в стенке псевдокисты. Выявляется макрофагальная реакция в виде увеличения количества макрофагов на 1–7 сутки после пункционной аспирации. Возрастает число фибробластов и лимфоцитов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Чрескожное дренирование панкреатических псевдокист / Н. Григоров [и др.] // Хирургия. — 1990. — № 11. — С. 111–113.
2. Ачкасов, Е. Е. Пункционный метод в лечении постнекротических кист поджелудочной железы / Е. Е. Ачкасов, А. В. Пугаев, А. Л. Харин // Хирургия. — 2007. — № 8. — С. 33–37.
3. Percutaneous management of pancreatic collections / S. McNeese, E. Van Sonnenberg, B. Goodarce // The pancreas / H. Beger [et al.] // Blackwell Science. — 1998. — Vol. 1, № 64. — P. 650–655.
4. Способ моделирования псевдокисты поджелудочной железы: пат. 12268 Респ. Беларусь, МПК (2006) G 09B 23/00, А 61 В 18/00 С.В. Дорошкевич, Е.Ю. Дорошкевич; заявитель Гомельский гос. мед. ун-т. — № а 20070428; заявл. 30.12.2008; опубл. 01.09.2009 // Афишны бюл. / Нац. центр інтэлектуал. уласнасці. — 2009. — № 4. — С. 160.
5. Юрина, Н. А. Морфофункциональная гетерогенность и взаимодействие клеток соединительной ткани / Н. А. Юрина, Н. А. Радостина. — М.: Изд-во УДН, 1990. — С. 62–143.

Поступила 11.06.2010

УДК 615.9:615.375

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ 24-ЭПИБРАСИНОЛИДА В ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Ю. Д. Коваленко, Р. П. Литвиновская, Н. Н. Веялкина, А. В. Адамович,
Т. М. Юрага, О. М. Соловей, Н. В. Ламовская, Е. В. Рыжова**

**Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск
Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, г. Минск**

В статье приведены результаты токсикологической оценки 24-эпибрасинолида, относящегося к стероидным гормонам растений, на организм белых мышей обоего пола в ходе острого опыта. Показано, что среднесмертельная доза 24-эпибрасинолида при однократном скормливании с пищей составляет более 5 000 мг/кг. Отмечено влияние высокой дозы 24-эпибрасинолида на липидный и белковый обмен белых мышей.

Ключевые слова: стероидные гормоны растений, 24-эпибрасинолид, острая токсичность.