© Усенко О.Ю., Радьога Я.В., Гребенюк Д.І., Таран І.В., Стукан О.К.

**УДК:** 616.33:617-7

***Усенко О.Ю.[1], Радьога Я.В.[2], Гребенюк Д.І.[2], Таран І.В.[2], Стукан О.К.***

[1]Національний Інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова НАМН України (вул. Героїв Севастополя, 30, м. Київ, Україна, 03680), [2]Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, курс "Основи ендоскопічної та лазерної хірургії" (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

# ОПТИМІЗАЦІЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ СИМЕТРИЧНИХ ВИРАЗКОВИХ УРАЖЕНЬ ШЛУНКУ

**Резюме.** *У статті наведено результати експериментального дослідження по оптимізації моделі ацетатної виразки III типу, що являє собою симетричні виразкові ураження передньої та задньої стінок шлунку та є найбільш наближеною за морфологічною картиною до пептичної виразки шлунку. Застосування авторської моделі дозволяє позбавитися такого недоліку оригінальної методики, як важкість позиціонування ін'єкційної голки, а також знизити частоту перфорацій та спайкоутворення в ділянці передньої стінки шлунку.*

**Ключові слова:** *пептична виразка шлунку, ацетатна виразка, експериментальна модель виразки шлунку.*

## Вступ

Виразки шлунку та дванадцятипалої кишки продовжують залишатися актуальною проблемою сучасної гастроентерології, а поширеність даної патології з кожним роком збільшується. У структурі поширеності хвороб органів травлення пептична виразка шлунка та дванадцятипалої кишки становить 12,83%. За даними МОЗ України, захворюваність на виразку шлунка і дванадцятипалої кишки в Україні у 2010 році становила 127,3 осіб на 100 тис. населення, поширеність - 2299,4 на 100 тис. населення. Порівняно з 2009 роком захворюваність і поширеність пептичної виразки дещо знизилися, хоча й залишаються далекими від бажаних [Наказ МОЗ України 03 вер. 2014 р. № 613].

Окрім того, зростає кількість виразок із важким хронічним перебігом, що погано піддаються консервативному лікуванню. Все це веде до зростання частоти життєво небезпечних ускладнень виразкової хвороби. Так, у структурі кровотеч із верхніх відділів шлунково-кишкового тракту, кровотечі виразкового ґенезу складають 46-61%. Крім того, виразкові кровотечі складають 18-23% серед усієї ургентної патології органів черевної порожнини [Багненко и др., 2006]. Частота перфорації у пацієнтів з виразковою хворобою складає від 4 до 15%, посідаючи третє місце серед гострої абдомінальної хірургічної патології [Тутченко, Клюзько, 2009].

Зважаючи на це постає питання про розробку та впровадження нових методів лікування, серед яких перспективним напрямком є місцеве лікування пептичних виразок.

Серед усіх експериментальних моделей виразок шлунку до пептичної виразки найбільш наближеною за морфологічною картиною є ацетатна виразка, різні варіанти моделювання якої протягом тривалого часу вивчалися S. Okabe та K. Amagase [2005]. Серед описаних методик найбільший інтерес викликає ацетатна виразка III типу, що являє собою симетричні виразкові ураження передньої та задньої стінок шлунку. Такий тип виразки добре підходить для дослідження локальних методів лікування, так як дозволяє у кожної піддослідної тварини одночасно спостерігати процеси репарації у лікованій та нелікованій виразках, що створює додатковий контроль за чистотою експерименту.

Проте, дана методика має ряд недоліків. Так, після затискання передньої та задньої стінок шлунку між браншами вікончатого затискача, стінки щільно прилягають одна до одної, а тому технічно важко при введенні оцтової кислоти розмістити кінчик голки між ними. Також, оцтова кислота, що знаходиться під тиском у просторі між передньою та задньою стінками шлунку, може виходити у черевну порожнину через канал у стінці шлунку створений голкою, що веде до утворення внутрішньої шлункової нориці, локального перитоніту та стимулює спайковий процес. Крім того, після зняття вікончатого затискача, оцтова кислота потрапляє у порожнину шлунку, де може створювати додаткові виразкові ураження.

*Мета* дослідження: шляхом удосконалення вікончатого затискача спростити моделювання симетричних виразкових уражень шлунку та скоротити кількість ускладнень, що виникають при цьому.

## Матеріали та методи

Експериментальне дослідження проводилося на базі віварію Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова. Всі досліди виконувалися з дозволу комітету з біоетики з дотриманням основних положень Хельсинської декларації про гуманне ставлення до тварин (1964-2000 р.), GLP (1981 р.), Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин (1977 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р.

Дослідження проводили на 14 щурах, що були порівну поділені на контрольну та дослідну групу.

Усіх тварин утримували на стандартному раціоні з вільним доступом до води та їжі. З метою забезпечення спорожнення шлунку, перед дослідами тварини залишалися на 12 годин без доступу до їжі, але із вільним доступом до води. Усі досліди виконувалися в умовно стерильних умовах, під кетаміновим наркозом із розрахунку 0,22 мл на 100 грам маси тіла піддослідної тварини.

У контрольній групі, що налічувала 7 щурів, було виконання моделювання виразок шлунку за методикою S. Okabe, K. Amagase [2005]. Після загального знеболення піддослідній тварині виконували верхньо-серединну лапаротомію. У лапаротомну рану виводили шлунок. Вікончатий затискач із розкритими браншами позиціонували на м'язовій частині шлунку піддослідної тварини таким чином, щоб одна із бранш прилягала до передньої стінки шлунка, а інша - до задньої. Бранші затискача закривали. Через вікно бранші, розташованої на передній стінці шлунка шприцом із голкою калібру 30G вводили 0,1 мл 60% оцтової кислоти, а голку видаляли. Час аплікації складав 45 секунд, після чого затискач знімали. Шлунок вправляли в черевну порожнину. Після ревізії черевної порожнини та промивання її розчином декасану, лапаротомну рану ушивали пошарово наглухо.

У дослідній групі (7 щурів) моделювання виразок проводили із використанням розробленого пристрою. Під загальним знеболенням піддослідній тварині виконували верхньо-серединну лапаротомію. У лапаротомну рану виводили шлунок. Модифікований затискач із розкритими вікончатими браншами позиціонували на м'язовій частині шлунку піддослідної тварини таким чином, щоб одна із вікончатих бранш прилягала до передньої стінки шлунка, а інша - до задньої. Після цього ін'єкційну голку калібру 30G проводили через дистальну частину L-подібного фіксатора модифікованого затискача і в умовно безсудинній ділянці проколювали велику кривизну шлунка таким чином, щоб не пошкодити судини. Ін'єкційну голку фіксували у L-подібному фіксаторі. При цьому, завдяки конструкції модифікованого затискача, кінчик ін'єкційної голки розташовувався на рівні центру вікон вікончатих бранш. Модифікований затискач закривали. Під час закриття модифікованого затискача, для попередження потрапляння повітря в простір між передньою та задньою стінками шлунка, пальцями стискали стінки шлунку в передньозадньому напрямі через вікна вікончатих бранш. У закритому положенні затискач фіксували за допомогою замикаючого елементу. До ін'єкційної голки приєднували шприц, за допомогою якого в обмежений простір між передньою та задньою стінками шлунка вводили 0,1 мл 60% розчин оцтової кислоти на 45 секунд. Далі за допомогою цього самого шприца видаляли введену оцтову кислоту. Від ін'єкційної голки від'єднували шприц із оцтовою кислотою та приєднували шприц із фізіологічним розчином, яким промивали обмежений простір між передньою та задньою стінками шлунка шляхом триразового введення та видалення невеликої кількості фізіологічного розчину. Вікончаті бранші модифікованого затискача розкривали, після чого видаляли ін'єкційну голку із L-подібного фіксатора, а сам модифікований затискач знімали зі шлунка. Шлунок вправляли в черевну порожнину. Виконували ревізію черевної порожнини та промивали її розчином декасану. Лапаротомну рану ушивали пошарово наглухо.

Результат експерименту оцінювали на 3 добу, коли, згідно літературних даних, формуються хронічні виразки. Для цього щурів виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців під загальним знеболенням. Виконували лапаротомію та макроскопічно оцінювали стан стінок шлунку, черевної порожнини, наявність у ній ексудату. Видаляли шлунок, виконували гастротомію та макроскопічно оцінювали стан слизової оболонки. Матеріал забирали на морфологічне дослідження.

## Результати. Обговорення

При аналізі результатів моделювання виразок за стандартною та модифікованою методиками, в першу чергу, увагу звертали на наявність та вираженість описаних вище недоліків та їх наслідків.

У 5 (71,4%) випадках із 7 тварин контрольної групи на початку ін'єкції оцтової кислоти спостерігалося витікання її через прокол голки. Це пояснюється тим, що через неможливість контролю глибини проколу, голка позиціонувалася в підслизовому шарі передньої стінки шлунку. Корекцію положення голки проводили шляхом просування її вглиб та продовжували введення оцтової кислоти. Ці 5 випадків були відмічені, як такі, що входили в групу ризику розвитку перфорації та перитоніту.

На третю добу, коли оцінювали результати моделювання виразкових дефектів у всіх 5 щурів в місці перфорації мав місце виражений спайковий процес, як наслідок хімічного опіку очеревини. Ще в одного щура відмічалася аналогічна картина, незважаючи на те, що витікання оцтової кислоти нами не спостерігалося. На нашу думку, це пояснюється травмою стінки шлунку ін'єкційною голкою під час моделювання виразок. Таким чином, у 6 (85,7%) щурів із 7 мала місце перфорація шлунку внаслідок маніпуляції.

У всіх 6 щурів у ділянці передньої стінки шлунка локалізувався щільно спаяний конгломерат, що включав петлі тонкої кишки та великий чепець. У 2 (28,6%) щурів в конгломерат входила також частка печінки. Ще у 1 щура (14,3%) відмічався спайковий процес між стінкою шлунку та передньою черевною стінкою.

Фізіологічні особливості очеревини щурів, а саме здатність до локалізації запального процесу, в сукупності із хімічним її опіком, запобігали подальшому виходу шлункового вмісту в черевну порожнину та розвитку перитоніту. Проте, саме наявність спайкового процесу унеможливлювала будь-які подальші маніпуляції в ділянці виразкового дефекту передньої черевної стінки. Не зважаючи на короткий термін розвитку процесу, спайки були досить щільні, погано розділялися. Всі намагання роз'єднання спайок завершувалися десерозацією стінки шлунка та тонкої кишки, а у випадку залучення в спайковий процес частки печінки - незначною паренхіматозною кровотечею.

Прижиттєве вимірювання площі виразкових дефектів дало наступні результати. Площа виразкових дефектів передньої та задньої стінок шлунку достовірно не відрізнялася ($p>0,05$, t-критерій Стьюдента) і становила $9,8\pm0,8$ мм$^2$ та $9,8\pm1,11$ мм$^2$ відповідно.

Макроскопічне дослідження слизової шлунку виявило у всіх щурів контрольної групи сформовані дзеркальні виразкові дефекти однакових розмірів, із заглибленим дном, вкритим фібринозним нальотом та характерним запальним валом.

У 2 (28,6%) щурів відмічалися додаткові виразкові дефекти по задній стінці шлунка, ближче до великої кривизни, розмірами близько 1,5 та 2,5 мм.

Наявність додаткових виразок на задній стінці шлунка пояснюється тим, що під дією сили гравітації залишки оцтової кислоти стікали в найнижчу точку. Крім того, протягом моделювання та до моменту виходу із наркозу щурі знаходяться спочатку на спині, а згодом на боку. А, отже, вся залишкова оцтова кислота локалізується

саме на задній стінці, ближче до великої кривизни.

Мікроскопічна картина була характерною для виразки шлунку та не відрізнялася від морфології пептичних виразок. На дні виразки виявлялися безструктурні маси, злущені епітеліоцити з домішкою лімфоцитодоподібних клітин. Під некротизованими ділянками спостерігали серед грануляційної тканини дрібні переривчасті зони фібриноїдного некрозу. Дисциркуляторні порушення були представлені у вигляді розширення судин мікроциркуляторного русла власної пластинки слизової оболонки з еритроцитарними стазами у просвітах. В окремих судинах як формені елементи, так і плазма були відсутні. Стінки як венозних, так і артеріальних судин власної пластинки слизової оболонки мали ознаки набряку, ендотелій місцями вакуолізований та десквамований. В дні виразки в ділянках прилеглих до шару грануляційної тканини судинні стінки були розрихленими, розволокненими, місцями просочені лейкоцитарним ексудатом з лейкостазами у просвітах. Зустрічалися скупчення гемосідерофагів, множинні дрібні крововиливи, здебільшого діапедезного типу. У дні виразок грануляційна тканина складалася з вузького поверхневого шару, що містить судинні петлі та тісно розташовані запальні елементи, переважно лейкоцити, густу мережу фібрину та ряд горизонтальних фібробластів, що лежать на поверхні судинних петель. Тут мали місце набухання ендотелію, просочування стінок судин фібринозними масами і лейкоцитами, випадіння в просвіті судин згортків фібрину, закриття просвіту, контури судин при цьому іноді нечіткі, розпливчасті, стінка їх дифузно фарбується, некротизована. Шар вертикальних судин, більш глибокий, значно перевищував по своїй товщині поверхневий шар і містив вертикально розташовані судини з витягнутими вздовж них фібробластами. Між судинами багато аморфної проміжної речовини, в якій розсіяні дрібні одноядерні клітини моноцитарного ряду, макрофаги та у великій кількості - поліморфноядерні лейкоцити, переважно в поверхневих ділянках цього шару; в глибоких ділянках його, на межі з шаром горизонтальних фібробластів, нерідко зустрічаються, хоч і в невеликій кількості, еозинофільні лейкоцити, поодинокі одноядерні клітини і окремі плазматичні клітини. Глибше залягав шар горизонтально розташованих фібробластів, що скаладався з вертикально розташованих судин та дрібних одноядерних клітини моноцитарного ряду місцями у вигляді скупчень, останні зустрічалися разом з не чисельними плазматичними клітинами. Шар цей тонкий і на поперечних зрізах виглядав в кілька разів тонше шару вертикальних судин. На поздовжніх зрізах цей процес проявлявся концентрацією клітинних елементів фібробластичного ряду, які мали орієнтовний хід перпендикулярно до дна виразки. Поперечні зрізи ядер клітин мали овальну і паличкоподібну форму. Між останніми визначались щілиноподібні просвіти, тому їх можна визначити як ендотеліальні клітини, які формували стінки новоутворених судин в безпосередній близькості до дна виразкового дефекту. Серозна оболонка в зоні виразки була стовщена.

У дослідній групі, що налічувала 7 щурів, яким виконували моделювання ацетатної виразки за модифікованою методикою S. Okabe, K. Amagase [2005] із використанням авторського пристрою жодного випадку підтікання оцтової кислоти із місця проколу не спостерігалося. Це пояснюється тим, що прокол стінки шлунку виконували на віддалі від місця моделювання виразкових дефектів. Перфорації стінок шлунку, як і спайковий процес в ділянці передньої стінки шлунку, не спостерігалися. У 2 (28,6%) випадках мали місце злуки між місцем проколу та великим чепцем. Проте, через віддалене знаходження місця проколу по відношенню до виразкових дефектів, доступ до виразок як передньої, так і задньої стінок шлунку був вільним.

Прижиттєве вимірювання площі виразкових дефектів, аналогічно до контрольної групи, вказувало на відсутність достовірної різниці між площами виразкових дефектів передньої та задньої стінки ($p>0,05$, t-критерій Стьюдента). Показники площі складали 9,4±1,1 мм$^2$ для передньої стінки та 9,3±1,07 мм$^2$ для задньої стінки.

Макроскопічна та мікроскопічна картина слизової оболонки була ідентичною із контрольною групою, за винятком відсутності додаткових виразкових дефектів по задній стінці шлунку. Відсутність додаткових виразок пояснюється особливістю виконання модифікованої методики, а саме повною евакуацією залишків оцтової кислоти перед зняттям затискача із стінки шлунку.

При статистичному порівнянні кількості ускладнень було отримано наступні дані.

Важкість позиціонування голки в контролі мала місце в 5 (71,4%) випадках, розвиток перфорації та спайкового процесу - у 6 (85,7%) випадків, а додаткові виразкові дефекти наявні у 2 (28,6%) випадків. У дослідній групі дані ускладнення не спостерігалися в жодному випадку. Тобто, при використанні авторської методики, позиціонування голки виконувалося достовірно легше ($p<0,05$, точний двосторонній критерій Фішера), а наявність таких ускладнень маніпуляції, як перфорація передньої стінки шлунку та спайковий процес в цій ділянці зустрічалися достовірно рідше ($p<0,01$, точний двосторонній критерій Фішера). Хоча додаткові виразкові дефекти при використанні авторської методики не спостерігалися в жодному випадку, статистично достовірність підтверджена не була ($p>0,05$, точний двосторонній критерій Фішера).

Крім того, при порівнянні площі усіх виразкових дефектів нами не було встановлено достовірної різниці між контрольною та дослідною групами ($p>0,05$, t-критерій Стьюдента). При цьому показники площі складали 9,8±0,93 мм$^2$ для контрольної групи та 9,3±1,2 мм$^2$ для дослідної групи.

## Висновки та перспективи подальших розробок

1. Застосування запропонованої модифікації моделі

симетричних виразкових уражень шлунку не лише дозволяє статистично достовірно полегшити позиціонування ін'єкційної голки ($p<0,05$, точний двосторонній критерій Фішера), а й достовірно знижує частоту перфорацій та спайкоутворення ($p<0,01$, точний двосторонній критерій Фішера) - ускладнень, що унеможливлюють подальші маніпуляції на передній стінці шлунку.

На нашу думку, розробка і впровадження у клінічну практику методів локального прискорення репаративних процесів на модифікованій моделі симетричних виразкових уражень шлунку є перспективним напрямком подальших досліджень.

## Список літератури


Багненко С. Ф. Применение протоколов организации лечебно-диагностической помощи при язвенных кровотечениях в клинической практике / С. Ф. Багненко, Г. И. Синенченко, В. Г. Вербицкий // Вестник хирургической гастроэнтерологии. - 2006. - № 1. - С. 57.

Тутченко Н. И. Перфоративная язва желудка и двенадцатиперстной кишки / Н. И. Тутченко, И. В. Клюзько. - К.: Лыбидь, 2009. - 208 с.

Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги - Пептична виразка шлунка та дванадцятипалої кишки у дорослих: Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 03 вер. 2014 р. № 613.

Okabe S. An overview of aceticacid ulcer models - The history and state of the art of peptic ulcer research / S. Okabe, K. Amagase / / Biological and pharmaceutical bulletin. - 2005. - № 8. - С. 1321-1341.


***Усенко А.Ю., Радёга Я.В., Гребенюк Д.И., Таран И.В., Стукан О.К.***

**ОПТИМИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ СИММЕТРИЧНЫХ ЯЗВЕННЫХ ПОРАЖЕНИЙ ЖЕЛУДКА**

**Резюме.** *В статье приведены результаты экспериментального исследования по оптимизации модели ацетатной язвы III типа, которая представляет собой симметричные язвенные поражения передней и задней стенок желудка и наиболее приближенна по морфологической картине к пептической язве желудка. Применение авторской модели позволяет избавиться от такого недостатка оригинальной методики, как сложность позиционирования инъекционной иглы, а также снизить частоту перфораций и спайкообразования в области передней стенки желудка.*

**Ключевые слова:** *пептическая язва желудка, ацетатная язва, экспериментальная модель язвы желудка.*

***Usenko O.Yu., Radoha Ya.V., Hrebeniuk D.I., Taran I.V., Stukan O.K.***

**OPTIMIZATION OF THE EXPERIMENTAL MODEL OF SYMMETRIC STOMACH ULCERS**

**Summary.** *The results of experimental study on optimization of acetic acid ulcer model III type are presented in this article. Aacetic acid ulcer model III type is symmetric ulcerative impairment of the front and rear wall of stomach. The morphological peculiarities of the above mentioned model are the most similar to peptic ulcer of stomach. Use of the model proposed by the author permits to avoid shortage which is difficulty of positioning of the injection needle. The proposed model also allows to decrease a frequency of perforation as well as formation of adhesions in the area of front wall of stomach.*

**Key words:** *peptic ulcer of stomach, acetic acid ulcer, experimental model of stomach ulcer.*

***Рецензент - д.мед.н., проф. Петрушенко В.В.***

*Стаття надійшла до редакції 11.06.2015 р.*

*Усенко Олександр Юрійович* - д.мед.н., проф., головний позаштатний спеціаліст МОЗ України зі спеціальності "Хірургія", керівник відділу хірургії шлунково-кишкового тракту та реконструктивної гастроентерології, директор Національного інституту хірургії та трансплантології імені О.О. Шалімова НАМН України; o.usenko@shalimov.org

*Радьога Ярослав Володимирович* - асистент курсу "Основи ендоскопічної та лазерної хірургії" Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 097 998-95-25; radega09@mail.ru

*Гребенюк Дмитро Ігорович* - к.мед.н., асистент курсу "Основи ендоскопічної та лазерної хірургії" Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 067 595-44-83; Doctor.Svo@gmail.com

*Таран Ілля Васильович* - асистент кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; +38 097 450-97-70; scienceandroid@gmail.com

*Стукан Оксана Константинівна* - к.мед.н., доцент кафедри мікробіології, вірусології і імунології ВНМУ ім.М.І.Пирогова; recipient@mail.ru