

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СПОСОБА ЛЕЧЕНИЯ СИНДРОМА ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ ПРИ ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE METHOD OF TREATMENT OF PORTAL HYPERTENSION SYNDROME IN LIVER CIRRHOSIS

**S. Kapralov
M. Polidanov
K. Volkov
L. Vysotskii
A. Abramov
V. Marchenko**

Summary. Objective. Experimentally justify the method of treatment of portal hypertension syndrome in liver cirrhosis. *Materials and methods.* A series of experiments were performed on white male rats of the Standard breed in the number of 80 animals, weighing 200 ± 50 g. Beforehand, the laboratory animals were modeled liver cirrhosis according to the previously developed technique, the essence of which was intraoperative injection of 0.3–0.5 ml of 60–79 % ethanol solution under the glisson capsule into the liver parenchyma of the animal. Due to this technique cirrhosis was modeled within 14 days from the experiment in 100 % of animals and had expressed morphological (macro- and microscopic) signs. Further laser non-directed fenestration of the cirrhosis zone under the influence of a solid-state laser (laser device Lasermid 1–10 (Russia), near-infrared range) with the wavelength of 1064 nm, power 7–8 W was applied to the changed area of the liver by creating non-directed laser channels on the changed fragment of the liver. After 14 days the animals were taken out of the experiment, the fragments of the altered liver after laser exposure were dissected. For histological examination the liver pieces were preliminary fixed in 12 % formalin, paraffinized, then cut on a microtome and stained with hematoxylin and eosin, as well as Van-Gizon and subsequently examined under the microscope «Olympus» «BX43F» (Japan). *Results.* When laser fenestration was applied to the cirrhotic liver for 14 days the manifestations of metabolism-synthetic and proliferative activity in the liver parenchymatous cells significantly increased, involution of sclerotic changes in the liver by the 21st day after laser revascularization was traced, and, accordingly, the process of neoangiogenesis significantly increased. *Conclusions.* The study of microchannels morphology at different terms showed that at early terms — a day or two — the channel formation under ultrasound control with coagulation necrosis and absence of hemorrhage into parenchyma occurs (the main advantage — safety of the method); at the term of 14 days — neoangiogenesis and appearance of young hepatocytes in microchannels outside hepatic lobules reliably occurs; and at the term of 21 days and more — liver regeneration with lobules restoration.

Keywords: liver cirrhosis, experimental modeling, portal hypertension syndrome in cirrhosis, laser fenestration, liver regeneration.

Капралов Сергей Владимирович

Доктор медицинских наук, доцент,
Саратовский государственный медицинский
университет им. В.И. Разумовского
sergejkapralov@yandex.ru

Полиданов Максим Андреевич

специалист научно-исследовательского отдела,
Университет «Реавиз», г. Санкт-Петербург
maksim.polidanoff@yandex.ru

Волков Кирилл Андреевич

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского»
maksim.polidanoff@yandex.ru

Высоцкий Лев Ильич

Саратовский государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского
maksim.polidanoff@yandex.ru

Абрамов Антон Максимович

Саратовский государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского
maksim.polidanoff@yandex.ru

Марченко Владислав Сергеевич

ординатор кафедры урологии,
Саратовский государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского
maksim.polidanoff@yandex.ru

Аннотация. Цель. Экспериментально обосновать способ лечения синдрома портальной гипертензии при циррозе печени. *Материалы и методы.* Были проведены серии экспериментов на белых крысах-самцах породы «Стандарт» в количестве 80 штук, массой 200 ± 50 г. Предварительно у лабораторных животных моделировали цирроз печени по ранее разработанной методике, суть которой заключалась в интраоперационном введении 0,3–0,5 мл 60–79 % раствора этанола под глиссонову капсулу в паренхиму печени животного. Благодаря данной методике цирроз моделируется в срок 14 суток от проведения эксперимента у 100 % животных и имеет выраженные морфологические (макро- и микроскопические) признаки. В дальнейшем осуществлялась лазерная несквозная фенестрация зоны цирроза под воздействием твердотельного лазера (лазерный аппарат Lasermid 1–10 (Россия), ближнего инфракрасного диапазона) длиной волны 1064 нм, мощностью 7–8 Вт на измененную область печени воздействовали излучением, путем создания несквозных лазерных каналов на измененном фрагменте печени. Через 14 суток животных выводили из эксперимента, иссекали фрагменты измененной печени после лазерного воздействия. Для проведения гистологического исследования кусочки печени предварительно фиксировали в 12 % формалине, парафинизировали, после чего нарезали на микротome и окрашивались гематоксилином и эозином, а также по Ван-Гизону и впоследствии исследовали под микроскопом «Olympus» «BX43F» (Япония). *Результаты.* При воздействии лазерной фенестрации на цирротически из-



Введение

В настоящее время достигнут значительный прогресс в изучении патогенеза, диагностики и лечения цирроза печени, однако проблема хронических диффузных заболеваний печени еще далека от разрешения, а многие ее аспекты требуют дальнейшего глубокого изучения. Одним из важных звеньев патогенеза цирроза печени является структурная перестройка долек печени с разобщением портального притока и коваляного оттока крови, что приводит к прогрессирующей портальной гипертензии [1–3]. Цирроз печени сопровождается нарушениями портального кровотока, развитием портальной гипертензии, приводящей к возникновению порто системных анастомозов и гипердинамического типа кровообращения [4].

При этом портальная гипертензия в своем развитии обгоняет печеночную недостаточность, замыкая порочный круг: каждый эпизод кровотечения из варикозных вен пищевода через гипоксию и всасывание продуктов разложения крови усугубляет печеночную недостаточность. Купирование портальной гипертензии разрывает этот порочный круг, позволяет существенно продлить жизнь пациента и улучшить ее качество. В связи с чем, в настоящее время актуальными являются исследования способов коррекции портальной гипертензии при циррозе печени.

Для лечения портальной гипертензии было предложено несколько методик. Метод снижения портальной гипертензии через создание рубцовых сращений печени, известный как гепатопексия, был предложен Chiari в 1921 году. В России эта методика получила широкую известность после выхода в свет монографии Г.Ф. Николаева [5], хотя внедрение в практику связано с именем М.В. Алферова (в 1924 г). Авторы предложили использовать эту методику при травмах печени, однако сочли

менённую печень в течение 14 суток достоверно нарастали проявления обменно-синтетической и пролиферативной активности в паренхиматозных клетках печени, прослеживалась инволюция склеротических изменений в печени к 21-м суткам после осуществления лазерной реваскуляризации, и, соответственно, достоверно нарастал процесс неоангиогенеза. *Выводы.* Изучение морфологии микро каналов на различных сроках показало, что на ранних сроках — сутки-двое — происходит формирование канала под УЗИ контролем с коагуляционным некрозом и отсутствием кровоизлияния в паренхиму (главное достоинство — безопасность метода); на сроке 14 дней — достоверно происходит неоангиогенез и появление молодых гепатоцитов в микро каналах вне печеночных долек; и при сроке 21 сутки и более — регенерация печени с восстановлением долек.

Ключевые слова: цирроз печени, экспериментальное моделирование, синдром портальной гипертензии при циррозе печени, лазерная фенестрация, регенерация печени.

ее применение возможным для снижения портальной гипертензии. Однако клинический опыт показал недостаточную эффективность гепатопексии.

На сегодняшний день имеются исследования на тему непрямой реваскуляризации различных анатомических областей и органов. К числу не прямых методов реваскуляризации конечностей при облитерирующих заболеваниях артерий относят операцию Илизарова-Зусмановича (СССР № 1061803, МПК А61В17/00, опубл. 23.12.1983) и операцию Зусмановича (СССР № 1680092, МПК А61 В17/00, опубл. 30.09.1991). Особую привлекательность в последние годы приобрела операция Зусмановича, так как по её применению имеется наибольшее количество публикаций. Операция Илизарова-Зусмановича более сложна техническому исполнению и для её выполнения требуются аппарат Илизарова и хирургический опыт ортопеда-травматолога. Сосудистые же больные лечатся в общехирургических или специализированных сосудистых отделениях, где не всегда работают подобные специалисты.

Известен способ лазерной реваскуляризации миокарда [6], включающий подвод импульсов лазерного излучения к сердцу пациента, фокусировку указанного излучения на эпи кардиальной поверхности миокарда и формирование канала в миокарде, при этом формируют несквозной канал с использованием импульсного лазерного излучения, генерируемого в областях длин волн 1,05–1,1 и 1,3–3 мкм с энергией в импульсе 0,1–0,2 Дж. Показанием к нему является наличие у пациента хронической ишемии миокарда с кардиосклерозом. Авторами методики было зафиксировано развитие неоангиогенеза в зоне лазерной фенестрации миокарда с улучшением его кровоснабжения.

Известен способ лечения цирроза печени (СССР № 1789230, МПК А61В18/20, опубл. 1993.01.23) путем ла-

зерной реваскуляризации печени и стимуляции регенераторных процессов, в котором для удлинения периода ремиссии обнажают цирротически измененную поверхность печени, создают микро каналы импульсным лазерным излучением мощностью 20 Дж и длительностью импульса 300–400 мс из 10 каналов на 1 см², зону наружных отверстий лазерных микро каналов обрабатывают плазменным потоком при температуре 37–40° С мощностью 250–300 Вт, затем закрывают на всем протяжении большим сальником в первые трое суток и, начиная с девярых суток после операции, осуществляют лимфосорбцию до нормализации печеночных проб. Однако способ обеспечивает большую длительность и травматичность операции, и, соответственно, недостаточную эффективность гепатопексии.

Наиболее близким к заявленному решению является способ лазерной фенестрации печени в эксперименте [6] путем лазерной реваскуляризации печени, включающий формирование микроканалов в цирротически измененной поверхности печени излучением кварцевого твердотельного лазера с мощностью 7–8 Вт с длиной волны 1,06 мкм. Кварцевым световодом диаметром 600 мкм выполняют сквозные перфорации со снижением мощности. Однако способ недостаточно эффективен.

В связи с вышесказанным, целью исследования экспериментально обосновать способа лечения синдрома портальной гипертензии при циррозе печени.

Материалы и методы исследования

В оперативном блоке кафедры факультетской хирургии и онкологии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского были проведены серии экспериментов на белых крысах-самцах породы «Стандарт» в количестве 80 штук, массой 200±50 г. Все манипуляции и содержание животных было регламентировано этической комиссией ФГБОУ ВО «Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (протокол № 2, 15.09.2023). Условия содержания в виварии лабораторных животных регламентированы РД-АПК 3.10.07.02-09 «Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений», приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» (актуализированным от 01.01.2021).

Предварительно у лабораторных животных моделировали цирроз печени по ранее разработанной мето-

дике [8], суть которой заключалась в интраоперационном введении 0,3–0,5 мл 60–79 % раствора этанола под глиссонову капсулу в паренхиму печени животного. Благодаря данной методике цирроз моделируется в срок 14 суток от проведения эксперимента у 100 % животных и имеет выраженные морфологические (макро- и микроскопические) признаки. В дальнейшем осуществлялась лазерная несквозная фенестрация зоны цирроза под воздействием твердотельного лазера (лазерный аппарат Lasermed 1–10 (Россия), ближнего инфракрасного диапазона) длиной волны 1064 нм, мощностью 7–8 Вт на измененную область печени воздействовали излучением, путем создания несквозных лазерных каналов на измененном фрагменте печени. Кварцевый световод вводили на глубину 3–4 мм (на всю глубину пораженного фрагмента печени). Микроканалы создавались на расстоянии друг от друга 3 мм, перекрывая всю пораженную долю печени, за исключением ее ворот. Через 14 суток животных выводили из эксперимента, иссекали фрагменты измененной печени после лазерного воздействия. Для проведения гистологического исследования кусочки печени предварительно фиксировали в 12 % формалине, парафинизировали, после чего нарезали на микротоме и окрашивались гематоксилином и эозином, а также по Ван-Гизону и впоследствии исследовали под микроскопом «Olympus» «BX43F» (Япония). Для проведения гистологического исследования кусочки печени предварительно фиксировали в 12 % формалине, парафинизировали, после чего нарезали на микротоме. Срезы толщиной 6 мкм окрашивались гематоксилином и эозином, а также по Ван-Гизону для оценки общей гистологической картины цирроза печени, впоследствии исследовали под микроскопом «Olympus» «BX43F» (Япония).

Результаты и их обсуждение

Технический результат достигается тем, в способе лечения синдрома портальной гипертензии при циррозе печени в эксперименте путем лазерной непрямой реваскуляризации, включающем формирование микроканалов в цирротически измененной печени контактной коагуляцией лазером ближнего инфракрасного диапазона длиной волны 1064 нм, мощностью 7–8 Вт, согласно решению, под УЗИ контролем формируют несквозные микро каналы глубиной 3–4 мм, перекрывая всю пораженную долю печени, за исключением ее ворот.

Способ осуществляется следующим образом. По стандартной методике проводили общую анестезию лабораторных животных. В асептических условиях выполняли микро-лапаротомию в правом подреберье для обеспечения хирургического доступа к правой доли печени. Предварительно у лабораторных животных моделировали цирроз печени по ранее разработанной методике [8], суть которой заключалась в интраопера-

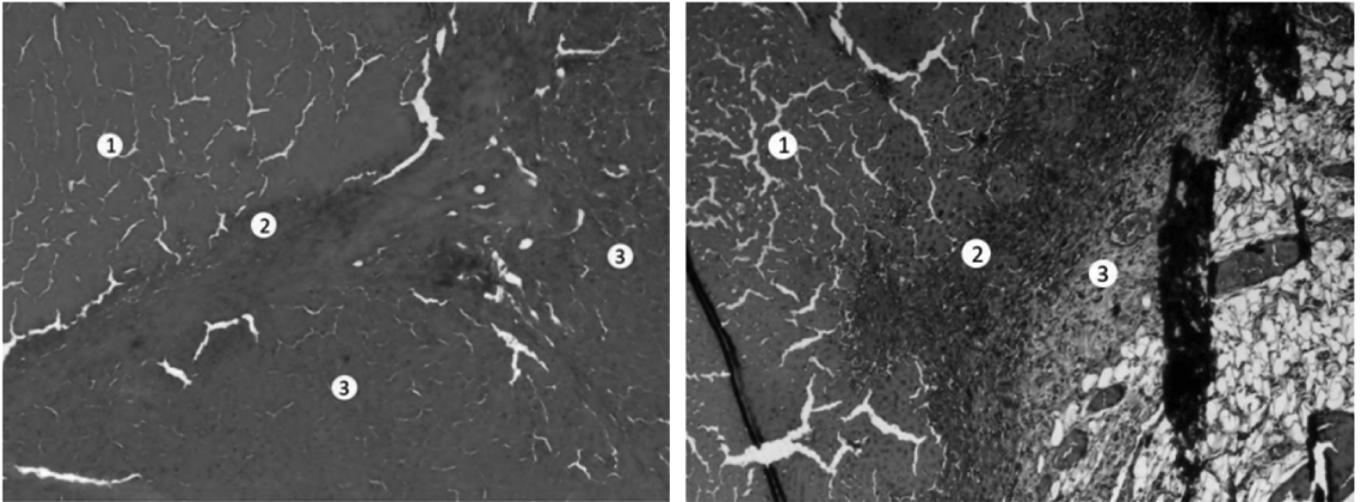


Рис. 1. На рисунке приведены результаты микроскопии препаратов печени после проведенного эксперимента, окраска: гематоксилин-эозин

Примечание: 1. здоровая ткань печени; 2. демаркационная зона; 3. зона цирроза

ционном введении 0,3–0,5 мл 60–79 % раствора этанола под глиссонову капсулу в паренхиму печени животного. В дальнейшем морфологическое исследование показало формирование выраженного фиброза паренхимы печени со структурной перестройкой печеночных долек, что является характерным признаком цирроза печени (рисунок 1). Благодаря данной методике цирроз моделируется в срок 14 суток от проведения эксперимента у 100 % животных и имеет выраженные морфологические (макро- и микроскопические) признаки.

В дальнейшем осуществлялась лазерная несквозная фенестрация зоны цирроза под воздействием твердотельного лазера (лазерный аппарат Lasermed 1-10 (Россия), ближнего инфракрасного диапазона) длиной волны 1064 нм, мощностью 7–8 Вт (экспериментально подобрана оптимальная мощность 7–8 Вт, до 6 Вт не обеспечивается гемостаз, свыше 10 Вт — происходит чрезмерное разрушение). Кварцевый световод вводили на глубину 3–4 мм (на всю глубину пораженного фрагмента печени). Микроканалы создавались на расстоянии друг от друга

3 мм, перекрывая всю пораженную долю печени, за исключением ее ворот (рисунок 2).

При морфологических исследованиях, выполненных на разных сроках течения эксперимента, наблюдали формирование микроканалов глубиной 3–4 мм с коагуляционным некрозом — сразу после лазерной фенестрации и затем — в течение первых двух-трех суток. При этом ни в одном наблюдении не наблюдали кровоизлияния в паренхиму печени, что свидетельствовало о безопасности методики. При дальнейшем наблюдении в течение 14 дней наблюдали развитие грануляционной ткани в созданных лазером микроканалах с выраженным неоангиогенезом и появлением молодых гепатоцитов в зоне повреждения вне печеночных долек. При сроке наблюдения в течение трех недель и более наблюдали морфологические признаки регенерации печени с восстановлением ее долек.

В ходе гистологического исследования обращало на себя внимание сужение и укорочение соединительнотканых септ и уменьшение функциональных волокон

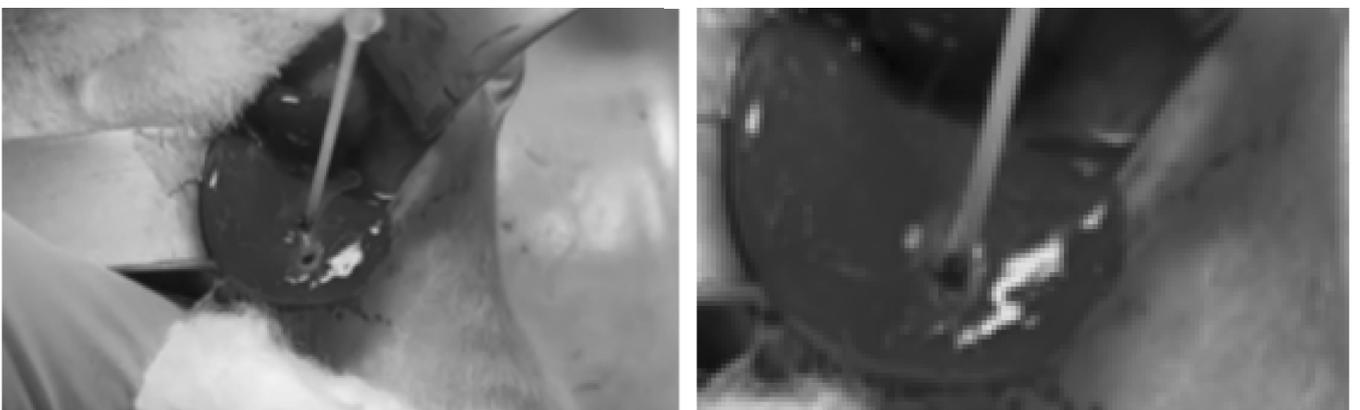


Рис. 2. Изучение лазеркоагуляции в эксперименте in vitro

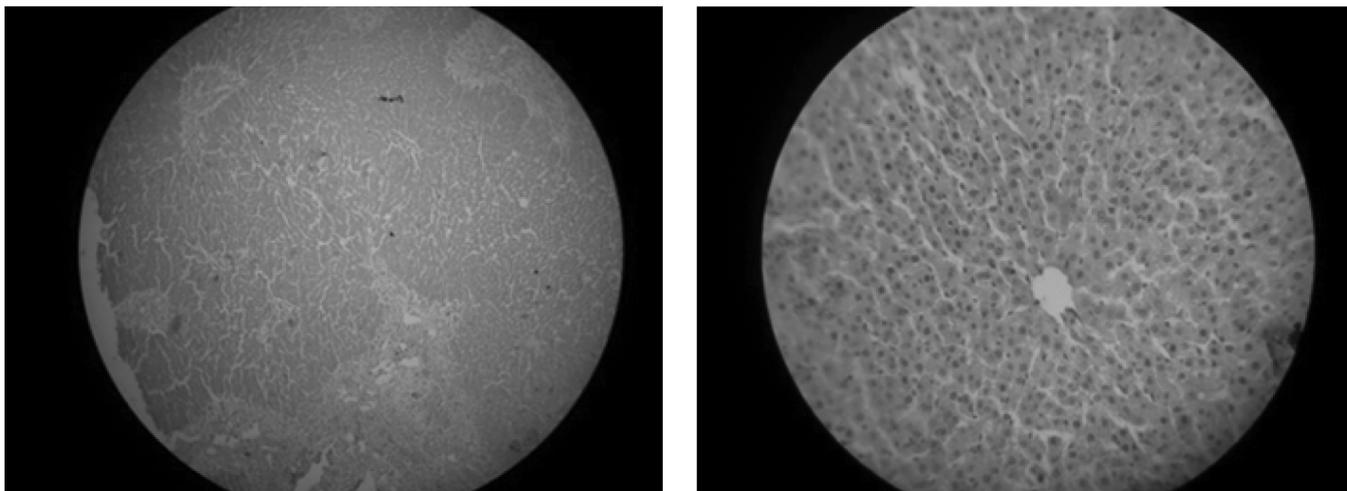


Рис. 3. Неоангиогенез сосудистой системы печени по результатам гистологического исследования, окраска по Ван-Гизону

в портальных трактах. Неоангиогенез, обусловленный существенной перестройкой внутриорганный сосудистой системы печени при циррозе в портальных трактах и септах у лабораторных животных, достоверно ($p < 0,05$) увеличился с $7,22 \pm 0,15$ до $9,23 \pm 0,18$ в течение 14 дней. Во всех препаратах среди вновь сформированных сосудов регистрировались мелкие артерии (12,9 %), вены (30,2 %), сосуды микроциркуляторного русла, на долю которых пришлось 62,5 %. Также было отмечено сохранение контуров долек печени, которые также можно определить по положению двух структур: триад меж долькового уровня, которые находятся на стыке долек, и центральной вены, расположенной в центре каждой дольки. Стенка центральных вен образована одним слоем плоских эндотелиальных клеток и тонкой прослойкой соединительной ткани, в просвете которой отмечается стабильный уровень ферментов, в отличие от предыдущих препаратов (рисунок 3). В ходе гистологического исследования препаратов при сроке до 21 суток и более — отмечалась регенерация печени с восстановлением долек, формирование хорошей дольчатой структуры ткани, что свидетельствует о восстановлении тканей печени.

Преобразование зон лазерного воздействия в печени лабораторных животных через 14 суток в зрелую соединительную ткань с новообразованными мелкими артериями (12,9 %), венами (30,2 %), и сосудами микроциркуляторного русла, на долю которых пришлось 62,5 %, в нашем эксперименте обусловлено комплекс-

ным взаимодействием факторов роста и протеолитических ферментов, которые создают необходимые условия для пролиферации и миграции эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудистой стенки и ремоделирования тканей в зонах лазерной фенестрации. Данный факт является отражением повышения уровня активности синтетических процессов в печени после стимуляции регенерации лазерной фенестрации.

Таким образом, при воздействии лазерной фенестрации на цирротически изменённую печень в течение 14 суток достоверно нарастали проявления обменно-синтетической и пролиферативной активности в паренхиматозных клетках печени, прослеживалась инволюция склеротических изменений в печени к 21-м суткам после осуществления лазерной реваскуляризации, и, соответственно, достоверно нарастал процесс неоангиогенеза.

Выводы

Изучение морфологии микро каналов на различных сроках показало, что на ранних сроках — сутки-двое — происходит формирование несквозных микро каналов с коагуляционным некрозом и отсутствием кровоизлияния в паренхиму (главное достоинство — безопасность метода); на сроке 14 дней — достоверно происходит неоангиогенез и появление молодых гепатоцитов в микро каналах вне печеночных долек; и при сроке 21 сутки и более — регенерация печени с восстановлением долек [9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Hartroft W.S. The sequence of pathologic events in the development of experimental fatty liver and cirrhosis. *Ann NY Acad Sci.* 1954; 57 (6): 633–645.
2. Beckett A.G., Livingstone A.V., Hill K.R. Acute alcoholic hepatitis. *Br Med J.* 1961; 2 (5260): 1113–1119.
3. Hall E.M, Ophüls W. Progressive Alcoholic Cirrhosis: Report of Four Cases. *Am J Pathol.* 1925; 1 (5): 477–494.
4. Гарбузенко Д.В. Механизмы адаптации сосудистого русла к гемодинамическим нарушениям при портальной гипертензии. *Вестник РАМН.* 2013; 1: 52–57.
5. Николаев Г.Ф. Закрытые повреждения печени. Государственное издательство медицинской литературы. 1955; 164 с.
6. Патент РФ на изобретение № 2195345, МПКА61N5/067, опубл. 27.12.2002 Гордов Е.П., Макогон М.М., Суханов В.Б. Способ лазерной реваскуляризации миокарда.
7. Попова И.А. Изучение лазерной фенестрации печени в эксперименте. *Бюллетень медицинских интернет-конференций.* 2011; 1 (1): 79 с.
8. Патент на изобретение RU 2828542 C1, 14.10.2024. Заявка от 03.05.2024. Высоцкий Л.И., Капралов С.В., Абрамов А.М., Полиданов М.А., Волков К.А., Марченко В.С. Способ моделирования экспериментального цирроза печени. Среди соавторов — специалист научно-исследовательского отдела, ассистент кафедры медико-биологических дисциплин Полиданов М.А.
9. Заявка на патент РФ на изобретение № 2024127297 от 17.09.2024. Капралов С.В., Высоцкий Л.И., Полиданов М.А., Абрамов А.М., Волков К.А., Марченко В.С. Способ лечения синдрома портальной гипертензии при циррозе печени в эксперименте.

© Капралов Сергей Владимирович (sergejkapralov@yandex.ru); Полиданов Максим Андреевич (maksim.polidanoff@yandex.ru);
Волков Кирилл Андреевич (maksim.polidanoff@yandex.ru); Высоцкий Лев Ильич (maksim.polidanoff@yandex.ru);
Абрамов Антон Максимович (maksim.polidanoff@yandex.ru); Марченко Владислав Сергеевич (maksim.polidanoff@yandex.ru)
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»