

Винахід відноситься до медицини і може бути застосований в експериментальній гастроентерології.

Розробка нових способів профілактики та лікування функціональної гіпотонії стінки жовчного міхура лімітується відсутністю адекватної моделі цього захворювання.

Відома модель розладів рухової функції жовчного міхура та жовчних шляхів у кроликів [1]. Однак вказана модель не відповідає етіопатогенезу функціональних розладів скоротливої діяльності жовчного міхура і морфофункціональним проявам цього захворювання. Крім цього довготривале подразнення вагосимпатичних нервів ниткою, змоченою розчином скипидару, в ділянці шиї, яке використовували автори для моделювання гіпотонії, приводить до глибоких змін не тільки в жовчному міхурі та жовчних шляхах, але і в органах грудної та черевної порожнини, які іннервуються вагосимпатичними нервами. Звичайно така модель знижує адекватність відтворення гіпотонії жовчного міхура, тривалість життя тварин, їх виживання, так як настають глибокі зміни зі сторони дихальної та серцево-судинної систем внаслідок порушення функції вагосимпатичних нервів.

З даних клінічних досліджень відомо, що реактивні та дегенеративні зміни в нервових волокнах аурбахівського сплетіння і в м'язовій оболонці жовчного міхура є одним із факторів, які сприяють розвитку функціональних порушень діяльності жовчного міхура, застою жовчі і ін. Оперативні втручання на блукаючих нервах також приводять до змін в стінці міхура. Атонія стінки міхура приводить до порушень евакуації жовчі, сприяє запальним процесам і створює сприятливі умови для утворення камінців.

Разом з цим, відомо, що інтрамуральне введення 25 - 50% розчину етилового спирту вибірково в підслизове чи міжм'язове сплетіння приводить до місцевого руйнування нервових сплетінь без грубих гістологічних змін в навколишніх органах.

Задачею даного винаходу є відтворення більш досконалої експериментальної моделі хронічної гіпотонії жовчного міхура, яка б адекватно відтворювала патогенез і клінічне протікання цього захворювання, забезпечувала високу відтворюваність, простоту і доступність моделювання в будь-якій лабораторії.

Вказана задача досягається тим, що в запропонованому способі вибірково руйнують міжм'язове /аурбахове/ нерве сплетіння, яке регулює скоротливу діяльність стінки жовчного міхура, шляхом введення зі сторони серозної оболонки 20% етанолу, приготовленого на 0,5% розчині новокаїну, а для локального порушення кровопостачання і вегетативної іннервації паравазально вводять 0,05% розчин адреналіну. При цьому зберігається іннервація слизової оболонки і відповідно не страждають, на початку моделювання, інкреторна, секреторна, екскреторна функції жовчного міхура і не наступає грубих гістологічних змін як в стінці міхура, так і в навколишніх органах.

Спосіб здійснюють слідуючим чином. Тварині під гексеналовим знечуженням проводять верхнесередню лапаротомію, виводять в рану жовчний міхур. В міжм'язовий шар останнього зі сторони серозної оболонки вводять від 3 до 10мл 20% етанолу, приготовленого на 0,5% розчині новокаїну з розрахунку 1мл/кг маси. В залежності від величини експериментальних тварин проводять від 2 до 4 ін'єкцій по передній та задній поверхні міхура, поступово створюючи зони інфільтрації від шийки. Так як жовчний міхур у собак і кроликів зміщується без його мобілізації, ця маніпуляція виконується без технічних труднощів. Потім по ходу артерії жовчного міхура вводять 0,05% розчин адреналіну з розрахунку 0,05мл/кг маси. Рану черевної порожнини пошарове зашивають наглухо.

Шляхом порівняльного аналізу /проб та помилок/ нами встановлено, що найбільш оптимальний розчин, який викликає руйнування міжм'язового сплетіння жовчного міхура у дослідних тварин є 20% розчин етанолу, який не приводить до грубих морфологічних змін в навколишніх тканинах і самому міхурі. Зменшення концентрації розчину неефективне, а підвищення до 30 - 50% викликає некротичні зміни в тканинах.

Враховуючи багатогранність і сегментарність іннервації та кровопостачання жовчного міхура, нами в процесі розробки апробовані різні варіанти виключення артерії жовчного міхура, які показали, що введення 0,05% розчину адреналіну на всьому протязі цієї артерії викликало грубі зміни в стінці міхура, а якщо розчин вводився тільки в ділянці її відходження від печінкової, то вищеназваних ускладнень не наступало.

Нами вивчена будова стінки жовчного міхура у 10 собак і 15 кроликів до і після відтворення моделі. На тваринах вивчалось: 1/ внутріміхуровий тиск, 2/ кількість жовчі в міхурі, 3/ моторна функція електроентерографічним способом по Собакину. Тварини виводились з дослідів через 5, 30, 60, 90 і 270 діб після моделювання. Вивчалась будова стінки жовчного міхура, жовчевих ходів на всьому протязі руйнування міжм'язового сплетіння.

Матеріал фіксували в рідині Карнуа, заливали в парафін. Парафінові зрізи товщиною 5 - 7мкм зафарбовували гематоксилінеозином по методу Ван-Пзон та Маллорі. Проводилась морфометрія слизової, підслизової та м'язової оболонки стінки. Матеріал, фіксований в 12% розчині нейтрального формаліну, після приготування препаратів імпрегнували азотнокислим сріблом по Більшовському-Грос. В експерименті використано 10 собак і 15 кроликів. Так як у білих щурів жовчний міхур відсутній, на останніх моделювання не проводилось.

При мікроскопічному дослідженні жовчного міхура в перші 5 - 10 діб після відтворення моделі відмічені набряк і гіперемія його стінки, які проходили до кінця 20 доби. До цього часу наступала

хронізація процесу, що підтверджувалось даними функціональних та морфологічних досліджень. Як видно з табл.1, 2, показники рухової активності, кількість застійної жовчі не досягали контрольних величин і до кінця 270 діб після відтворення моделі. Разом з тим показниками внутрішньоміхурового тиску (табл.3) підвищувались, що стверджує про наростання атонії його стінки.

Порівняльний аналіз морфометричних показників структури стінки жовчного міхура, а також рентгеноангіографії виявив корелятивну залежність морфофункціональних особливостей його будови і розмірів після моделювання гіпотонії. При цьому разом з атрофією м'язової оболонки жовчного міхура, ослабленням його рухової функції, нарастають запальні та деструктивні процеси в слизовій оболонці, що завжди спостерігається в клініці при застійному жовчному міхурі.

Таким чином, на основі вищеописаного ми маємо чіткі докази виникнення і розвитку функціональної атонії жовчного міхура внаслідок відтворення моделі по запропонованому способу. Відтворення моделі одержано в 100% випадків.

Приклад. Собака, маса тіла 26кг. Під загальним знечуленням /гексенал 25 - 30мг/кг маси в/пневральнo/ пошарово розкрита черевна порожнина. В рану введено жовчний міхур. Починаючи від шийки останнього по передній та задній стінці, введено в міжм'язове сплетіння зі сторони серозної оболонки 20% етанол, приготований на 0,5% розчині новокаїну. Введення проводилось тонкою голкою по всьому периметру від шийки міхура. Всього поступово проведено 6 інфільтрацій, використано 5мл розчину. Паравазально по ходу артерії жовчного міхура введено 0,1% розчин адреналіну 1мл. Міхур побілів, але перистальтичні рухи зберігались, судини пульсували. Рана пошарово зашита наглухо.

Цьому собаці до проведення моделювання в стінку жовчного міхура вживлено платиновий електрод і встановлена пластинчаста резетка під шкіру. Записані контрольні дані. Після моделювання моторна функція міхура вивчена на 5, 10, 20, 30 і 130 добу. Загальним для всіх досліджень було порушення періодичної діяльності жовчного міхура. Ритмічні скорочення з частотою 0,4 - 0,6 в 1хв, амплітуда 2,0 до 1,5мв, ритм перистальтики 2 - 3 в хв.

При морфологічному дослідженні стінки жовчного міхура в цей строк /180 діб/ виявлено зменшення товщини стінки міхура, потоншення м'язової оболонки, атрофія слизової. Контури нервових клітин міжм'язового нервового сплетіння нечіткі, ядра їх пікнотичні. Багато клітин м'язового шару знаходяться в стані коагуляційного некрозу, між ними проростає сполучна тканина.

Таким чином, через місяць після моделювання гіпотонії жовчного міхура наступають дегенеративні та деструктивні зміни в міжм'язовому нервовому сплетінні, що підтверджувалось розширенням жовчного міхура, застоєм жовчі і зниженням скоротливої діяльності його стінки, що підтверджувалось даними електрографії, проведеної в ці строки у піддослідних тварин. Запропонований спосіб моделювання функціональної гіпотонії жовчного міхура дозволяє в порівнянні з відомим способом /прототипом/:

а/ легко і просто одержати адекватну модель гіпотонії жовчного міхура, що відповідає клінічному проявленню морфофункціонального статусу цієї хвороби;

б/ відтворити дану модель на великих та малих лабораторних тваринах з високим ступенем відтворюваності.

Таблиця 1

Біоелектрична активність жовчного міхура голодних собак в різні строки після моделювання гіпотонії / $M \pm m$ /

Показник	Контроль	Строки після моделювання				
		5	30	60	90	270
1. Амплітуда скорочень	0.69 ± 0.01	0.50 ± 0.01	0.45 ± 0.02	0.40 ± 0.010	0.35 ± 0.02	0.28 ± 0.01
2. Частота скорочень	2.1 ± 0.11	2.0 ± 0.1	1.8 ± 0.12	1.8 ± 0.01	1.9 ± 0.12	1.8 ± 0.12

*Методика запису біоелектричної активності жовчного міхура опублікована нами в журналі "Клінічна хірургія" – 1990 – № 4 – с. 28–30.

Таблиця 2

Кількість жовчі /в мл/ в різні строки при моделюванні гіпотонії жовчного міхура / $M \pm m$ /

Вид тварини	Контроль ($M \pm m$)	Строки після моделювання в добах ($M \pm m$)				
		5	30	60	90	270
1.	25 ± 5.5	28.0 ± 2.5	30.1 ± 4.2	32.2 ± 2.2	33.2 ± 3.3	38.3 ± 4.5
2.	2.5 ± 1.2	2.8 ± 1.1	3.0 ± 1.5	3.1 ± 1.0	3.2 ± 1.4	3.7 ± 1.3

Таблиця 3

Внутрішньоміхуровий тиск в різні строки при моделюванні гіпотонії жовчного міхура в мл вод.ст. / $M \pm m$ /

Вид тварини	Контроль ($M \pm m$)	Строки після моделювання в добах ($M \pm m$)				
		5	30	60	90	270
1.	130 ± 5.5	140 ± 6.5	148 ± 7.2	150 ± 4.5	165 ± 6.5	150 ± 4.5