

Изучение кровотока печени после криоденервации печеночной артерии

UDC 616.36-004-092.9:615.832.9+617

N.A. CHIZH

Studying of Blood Flux in Liver After Hepatic Artery Cryodervation

Кровообращение регулируется различными системами организма, включая симпатическую вегетативную нервную систему, которая оказывает вазоконстрикторное влияние на сосуды. Устранить нейротрофические и циркуляторные нарушения, путем блокады сосудосуживающих импульсов симпатической нервной системы, можно денервацией, что имеет важное прикладное значение при различных патологиях, сопровождаемых гипоксией и ишемией органов.

Денервация сосудов проводится различными способами, включая воздействие низкими температурами, что основано на большой чувствительности нервной ткани к холоду [3]. Отсутствие тромбоза и ярких деструктивных нарушений в крупных сосудах свидетельствует о сохранении их функциональной полноценности и восстановлении нормального кровообращения, что дает основание применять криометод в операциях на магистральных сосудах [2, 4].

Цель работы – исследование в ранние сроки криоденервированной общей печеночной артерии (ОПА) и кровотока печени после денервации.

Материалы и методы

Эксперименты проведены в соответствии с “Общими принципами экспериментов на животных”, одобренными III Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2007).

Для исследования использовали 60 крыс-самцов массой 220-250 г, здоровых и с CCl_4 – индуцированным циррозом печени (0,2 мл $\text{CCl}_4/100$ г массы тела животного 2 раза в неделю на протяжении 10 недель).

Криоденервацию ОПА проводили криоапликатором дерматологическим КД-3 с температурой рабочей поверхности -150°C , с насадкой в виде незамкнутой окружности $2/3$, время воздействия – 1 мин. Кровоток в артерии восстанавливался в течение 7–10 с после криовоздействия.

Blood flux is regulated with organism systems, including sympathetic vegetative nervous system, rendering vasoconstrictor effect on vessels. To eliminate neurotrophic and circulatory impairments by means of blocking the vasoconstrictor impulses of sympathetic nervous system is possible by denervation, being of important applied value at different pathologies, accompanied by hypoxia and ischemia of organs.

Vessel denervation is performed by different ways, including the effect of low temperatures, that is based in higher sensitivity of nerve tissue to cold [3]. The absence of thrombosis and vivid destructive disorders in large vessels testify to a preserved their functional integrity and recovery of normal blood circulation, enabling to apply the cryopreserved method in operation in major vessels [2, 4].

The research aim was to study in early terms of cryodervation of common hepatic artery (CHA) and liver blood flux after denervation.

Materials and methods

The experiments were performed in accordance to the “General principles of experiments in animals”, approved by the 3rd National Congress on Bioethics (Kiev, Ukraine, 2007).

For the research 60 male rats of 220-250g weight, healthy animals and those with CCl_4 -induced liver cirrhosis (0.2 ml $\text{CCl}_4/100$ g of animal’s body mass twice a week for 10 weeks).

CHA denervation was done with dermatological cryoapplicator CD-3 with operating surface temperature of -150°C with the nozzle as incomplete circle $2/3$, the effect time is 1 min. Blood flux in artery recovered 7–10 seconds later the cryoeffect.

State of denervated vessel was estimated with light microscopy of semi-thin epon slices, stained with methylene blue and toluidine blue 2 mins later denervation.

Vital biomicroscopic study of microhemocirculation (MHC) of liver was done using “Lumam K-1” contact

Состояние денервированного сосуда оценивали по световой микроскопии полутонких эпоновых срезов, окрашенных метиленовым синим и толуидиновым синим, через 2 мин после денервации.

Прижизненное биомикроскопическое исследование микрогемодинамики (МГЦ) печени проводили с помощью контактного микроскопа "Люмам К-1" и программного обеспечения "Advanced Paint Shop" через сутки после оперативных вмешательств.

Кровенаполнение ткани печени в норме и после криоденервации оценивали по изменению концентрации люминесцентного красителя нафтоилбензимидазола (НБИ) с максимумом флуоресценции при $\lambda = 525$ нм [1]. НБИ вводили в дозе $2,54 \times 10^{-2}$ мг/100 г животного в нижнюю полую вену. Взятие ткани печени производили через 20 мин после введения препарата, предварительно перевязав гепатодуоденальную связку. Концентрацию НБИ определяли в гомогенате печени методом люминесцентной спектрофотометрии.

Результаты и обсуждение

Световая микроскопия полутонких срезов ОПА показала, что в норме структура всех слоев исследуемого сосуда сохранена. Отмечалось четкое разграничение элементов по слоям, что не наблюдалось на срезах оперируемого сосуда. Через 2 мин после криоденервации ОПА в стенке сосуда имели место деструктивные процессы разной степени выраженности, соотношение основных тканевых компонентов изменялось.

Адвентициальная оболочка в норме была представлена пучками нервных волокон, идущих вдоль сосуда и перекрещивающихся между собой, коллагеновыми волокнами, фибробластами и жировыми клетками. После криоденервации большинство нервных волокон были дефрагментированы и имели вид размытых по поверхности очагов. В мышечной оболочке каркас из эластических и коллагеновых волокон сохранялся, как и большинство гладкомышечных клеток. Клетки эндотелия при доступных увеличениях на полутонких срезах не определялись. Внутренняя эластическая мембрана была четко выражена и ее связь с мышечным слоем сохранялась. Изменение межтканевых взаимоотношений может иметь функциональное значение, вызывая снижение силы сокращения артерии и повышение жесткости сосуда.

При исследовании МГЦ методом контактной биомикроскопии оценивается только состояние периферического отдела микроциркуляторного русла печени, при этом артериальные сосуды редко можно видеть на поверхности в связи с более глубоким их расположением в печеночной ткани.

Известно, что денервация ОПА почти мгновенно отражается в повышении артериального кро-

мископического и "Advanced Paint Shop" software in 24 hrs after operative invasion.

Liver tissue blood filling in the norm and after cryodenervation was estimated on the change of concentration of naphthoilen benzimidazol (NBI) luminescent dye with fluorescence maximum at $\lambda = 525$ nm [1]. The NBI dye was introduced in a dose of 2.54×10^{-2} mg/100 g of animal's body into inferior *vena cava*. The liver tissue was derived in 20 mins after the preparation introduction, with preliminary ligating of hepato-duodenal ligament. NBI concentration was determined in liver homogenate with luminescent spectroscopy.

Results and discussion

Light microscopy of semi-thin slices of the CHA has shown that in the norm the structure of all the layers of the studied vessel is preserved. There was also found distinct demarcation of the elements on layers that was observed in the slices of the vessels under operation. In 2 mins after CHA cryodenervation in vessel wall there were destructive processes of various manifestation extents and the ratio of main tissue components changed.

Adventitial membrane in the norm was represented by the bunches of nerve fibers coming along the vessel and crossing between each other, collagen fibers, fibroblasts and fat cells. After cryodenervation the majority of nerve fibers was de-fragmented and had the appearance of the smudgy on surface foci. In muscular membrane the carcass from elastic and collagen fibers was kept as well as the majority of smooth muscles' cells. The endothelium cells at available magnifications in semi-thin slices were not found. Inner elastic membrane was distinctly manifested and it bond with muscular layer was kept. The change of inter-tissue relationships may be of a functional value, by causing the reduced force of aorta contractions and increased vascular stiffness.

When investigating the MHC by means of contact biomicroscopy only the state of peripheral part of microcirculatory channel of liver is estimated, herewith arterial vessels are rarely seen on a surface due to their deep location in hepatic tissue.

The CHA denervation is known to be promptly manifested in a rise of arterial blood flux of liver [5]. Elimination of stimulation of hepatic sympathetic nerves after denervation of hepatic artery likely decreases the resistance in the area of pre-sinusoidal sphincters and arterioles, as well as contributes to the opening of arteriosinusoid and arteriovenous bypasses. It is supposed that in the animals with CCl_4 , induced with cirrhosis in 24 hrs after denervation of CHA, these processes were indirectly manifested in a rise of relative area of vascular channel from 19 to 27%, in this case the diameter of sinusoids increased insignificantly.

The studies using NBI have shown that in the group of the norm in 20 mins after being introduced the dye

вотока печени [5]. Устранение стимуляции печеночных симпатичных нервов после денервации печеночной артерии, вероятнее всего, снижает сопротивление в области пресинусоидальных сфинктеров и артериол, а также способствует открытию артериосинусоидных и артериовенозных шунтов. Предполагается, что у животных с CCl_4 -индуцированным циррозом через сутки после денервации ОПА эти процессы косвенно выражались в увеличении относительной площади сосудистого русла с 19 до 27%, при этом диаметр синусоидов расширился незначительно (таблица).

Исследования с использованием НБИ показали, что в группе нормы через 20 мин после введения концентрация красителя была на 23% меньше, чем в группе после криоденервации ОПА. Полученные данные косвенно подтверждают увеличение объема артериального кровотока в органе после денервации ОПА, которая снимает нейротрофические влияния со стороны симпатической нервной системы ниже места проведения манипуляции, способствуя расширению диаметров артериальных сосудов всех уровней.

Выводы

1. После криовоздействия на печеночную артерию в ранние сроки отмечается деструкция адвентиции сосуда, подтверждающая адекватно выполненную денервацию.

2. Через сутки после денервации печеночной артерии на основании метода прижизненной биомикроскопии МГЦ отмечается 1,5-кратное увеличение площади сосудистого русла.

3. Результаты исследований показали целесообразность применения НБИ как люминесцентного красителя для изучения кровенаполнения печени.

Литература

1. Красовицкий Б.М., Болотин Б.М. Органические люминофоры.– Л.: Химия, 1974.– 344 с.
2. Криохирургия / Под ред. Э. И. Канделя.– М.: Медицина, 1974.– 302 с.
3. Сандомирский Б. П., Хворостов Е. Д. Криохирургические методы в лечении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки // Хирургия.– 1988.– №11.– С. 107–110.
4. *Basics of Cryosurgery* / Ed. By N. N. Korpan.– Springer.– Wien – New York, 2001.– 325 p.
5. Ito Y., Takahashi T., Kakita A. et al. Immediate effects of hepatic denervation on hepatic hemodynamics in dogs // *Int. Surg.*–1998.– Vol. 83, N1.– P. 48–52.

Диаметр синусоидов и относительная площадь сосудистого русла через сутки после денервации ОПА у крыс с циррозом печени

Diameter of sinusoids and relative area of vascular channel 24hrs later the CHA denervation in rats with hepatic cirrhosis

Группы Groups	Диаметр синусоидов, мкм Diameter of sinusoids, μm	Относительная площадь сосудистого русла, % Relative area of vascular channel, %
Норма Norm	11,0 \pm 1,36	51,7 \pm 1,3
CCl_4 (контроль) CCl_4 (control)	7,84 \pm 1,34	19,8 \pm 2,92
Криоденервация Cryodenervation	9,4 \pm 1,8	27,2 \pm 1,78

concentration was 23% less than in the group after CHA denervation. The obtained data indirectly confirm the increase of the volume of arterial blood flux in an organ after CHA denervation, which eliminates neurotrophic effects from the side of sympathetic nervous system lower the site of manipulation, thereby contributing to increase of the diameters of arterial vessels of all the levels.

Conclusions

1. After cryoeffect on hepatic artery in early terms the destruction of vascular adventitia, confirming adequately performed denervation, is noted.

2. In 24 hrs after denervation of hepatic artery with the method of vital biomicroscopy of MHC the 1.5-fold rise in the area of vascular channel is found.

3. The research results have shown the expediency of NBI use as a luminescent dye for studying liver blood filling.

References

1. Krasovitsky B.M., Bolotin B.M. Organic lumonophores.– Leningrad: Khimiya, 1974.– 344 p.
2. *Cryosurgery* / Ed. By E.I. Kandel.– Moscow: Meditsina, 1974.– 302 p.
3. Sandomirsky B.P., Khvorostov E.D. Cryosurgical methods in treatment of ulcer duodenal disease // *Khirurgiya.*– 1988.– N11.– P. 107–110.
4. *Basics of Cryosurgery* / Ed. By N. N. Korpan.– Springer.– Wien – New York, 2001.– 325 p.
5. Ito Y., Takahashi T., Kakita A. et al. Immediate effects of hepatic denervation on hepatic hemodynamics in dogs // *Int. Surg.*–1998.– Vol. 83, N1.– P. 48–52.

Accepted in 13.05.2008

Accepted in 13.05.2008