

Влияние денервации печеночной артерии и криодеструкции печени на биохимические показатели при экспериментальном циррозе

UDC 616.36-004-092.9:615.832.9+617

N.A. CHIZH, I.V. BELOCHKINA*, B.P. SANDOMIRSKY

Hepatic Artery Denervation and Liver Cryodestruction Effects on Biochemical Indices Under Experimental Cirrhosis

Проводили сравнение эффективности периаартериальной печеночной денервации и локальной криодеструкции 10% массы печени на модели CCl_4 -индуцированного диффузного поражения печени крыс. Денервация печеночной артерии выполнялась механическим и криохирургическим способами. Результаты биохимических исследований сыворотки крови (альбумин, аланин-аминотрансфераза, аспартат-аминотрансфераза, тимоловая проба) показали, что все виды хирургических вмешательств в равной степени способствуют ускоренной нормализации исследуемых биохимических показателей в течение 2 месяцев наблюдения. Отмечена техническая простота выполнения криоденервации печеночной артерии.

Ключевые слова: диффузные заболевания печени, денервация печеночной артерии, криодеструкция печени.

На моделі CCl_4 -індукованого дифузного ураження печінки щурів проведено порівняння ефективності периаартеріальної печінкової денервації і локальної криодеструкції 10% маси печінки. Денервація печінкової артерії виконувалася механічним і криохірургічним способами. Результати біохімічних досліджень сироватки крові (альбумін, аланін-амінотрансферази, аспартат-амінотрансферази, тимолова проба) показали, що всі види хірургічних втручань однаково сприяють прискореній нормалізації досліджуваних біохімічних показників протягом 2 місяців спостереження. Відзначається технічна простота виконання криоденервації печінкової артерії як перевага цього способу денервації.

Ключові слова: дифузні захворювання печінки, денервація печінкової артерії, криодеструкція печінки

Efficiency of periarterial hepatic denervation and local cryodestruction of 10% liver mass was compared in the model of CCl_4 -induced diffuse rat liver injury. Hepatic artery was mechanically and surgically denervated. Results of blood serum biochemical studies (albumin, alanine-aminotransferase, aspartate-aminotransferase, thymol test) have demonstrated that all types of surgery contribute equally to an accelerated normalisation of studied biochemical indices within 2 observation months. A technical simplicity of hepatic artery cryodestruction performance is noted as this denervation method advantage.

Key-words: diffusive liver diseases, hepatic artery denervation, liver cryodestruction.

Хронические диффузные заболевания печени (ХДЗП), к которым относят хронический гепатит и цирроз, являются актуальной проблемой гепатологии. Несмотря на широкое внедрение в клиническую практику новых гепатотропных препаратов, результаты консервативной терапии ХДЗП не всегда эффективны [2, 3].

Альтернативным путем решения данной проблемы могут быть хирургические методы, основанные на высоком регенераторном потенциале печени и способствующие обратному развитию патологического процесса и стимуляции регенерации функционирующей печеночной паренхимы. Это может быть достигнуто увеличением нагрузки на печень как за счет резекции органа, так и его частичной деструкции [2]. В данном направлении перспективно использование локального повреждения печени низкими температурами [4, 6].

Изучение патогенеза ХДЗП показало, что одним из звеньев в развитии патологического процесса является нарушение печеночного кровообращения,

Liver chronic diffusive diseases (LCDDs), namely chronic hepatitis and cirrhosis are the actual problem in hepatology. In spite of wide introduction of new hepatotropic preparations into clinical practice the results of medical therapy in LCDDs are not always efficient [2, 3].

Surgical methods, owing to the fact that liver has a high regenerative potential, would contribute to pathological process regression and regeneration stimulation of functioning liver parenchyma may be an alternative way in solving this task. It may be achieved if increasing the loads on liver either due to the organ resection or its partial destruction [2]. Usage of local liver injury by low temperatures is perspective in this direction [4, 6].

Study of LCDDs pathogenesis has demonstrated that one of the links in pathological process development is a disorder in liver blood circulation, resulting in organ's ischemia and hypoxia [1, 3, 7]. Liver blood circulation is controlled by vegetative nervous system. Periarterial liver denervation is oriented to eliminate

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38
(057) 373-74-35, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта:
cryo@online.kharkov.ua

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 7435, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

которое приводит к ишемии и гипоксии органа [1, 3, 7]. Кровообращение печени регулируется вегетативной нервной системой. Периаартериальная печеночная денервация направлена на устранение нейротрофических и циркуляторных нарушений печени путем блокады суживающих импульсов со стороны симпатического отдела вегетативной системы [8, 9].

Цель данного исследования – сравнение эффективности локальной криодеструкции и периаартериальной денервации печени, при ее индуцированном хроническом диффузном поражении, а также исследование возможности применения криоденервации печеночной артерии (КДПА) и сравнение эффективности КДПА и механической денервации печеночной артерии (МДПА).

Материалы и методы

Эксперименты проводили на 45 беспородных крысах-самцах массой 200-250 г. Токсическое поражение печени моделировали подкожным введением 40%-го масляного раствора тетрахлорметана (CCl_4) в дозе 2 мл/кг массы тела 2 раза в неделю в течение 3-х месяцев. К концу срока моделирования печень животного имеет признаки хронического гепатита и начальной стадии цирроза.

Все животные с развитым ХДЗП были разделены на 4 группы. Первая (CCl_4 -контроль) – 6 животных с токсическим поражением печени; вторая – 9 животных, которым производили локальное криоповреждение 10% печени (КП); третья и четвертая – по 12 животных после МДПА и КДПА соответственно. Группу нормы составили 6 животных.

Криоповреждения печени выполняли на ее правой доле криоаппликатором КД-3 с температурой рабочей поверхности $-150^\circ C$, (время экспозиции – 2 мин); МДПА – иссечением и резекцией периаартериального нервного сплетения механическим путем на отрезке сосуда длиной 1 см; КДПА – криоаппликатором КД-3 с насадкой в виде 2/3 незамкнутой окружности (время экспозиции – 2 мин).

Эффективность хирургического воздействия оценивали по биохимическим показателям сыворотки крови после окончания моделирования токсического поражения и через 2, 4, 8 недель после оперативного вмешательства. В работе использовали стандартные наборы для определения альбумина, альбуминовой и аланиновой аминоксифераз (АлАТ и АсАТ), тимоловой пробы («Філісіт–Діагностика», Днепропетровск).

Эксперименты проведены в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными I Национальным конгрессом положениями «Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для

neurotrophic and circulatory disorders in liver by blocking vasoconstrictor pulses from sympathetic compartment of nervous system [8, 9].

This research was targeted to compare the efficiency of local cryodestruction and periaarterial liver denervation under its induced chronic diffusive injury as well as to investigate the possibilities of application of cryodenervation of liver artery (CDLA) and comparing efficiency of CDLA and mechanical denervation of liver artery (MDLA).

Materials and methods

Experiments were carried-out in 45 breedless 200-250 g male rats. Liver toxic injury was modelled via subcutaneous introduction of 40% oil tetrachloromethane (CCl_4) solution in 2 ml/kg dose of body mass twice a week for 3 months. To the end of modelling term the animal liver has signs of chronic hepatitis and early cirrhosis.

All animals with developed LCDDs were divided into 4 groups. The first one (CCl_4 -control) comprised 6 animals with liver toxic injury, untreated; the second one consisted of 9 animals with local cryoinjury of 10% liver (CL); in the third and fourth ones there were by 12 animals after MDLA and CDLA, correspondingly. The 'norm' group comprised 6 animals.

Liver cryoinjury was performed in right lobe using KD-3 cryoapplicator at $-150^\circ C$ operating surface temperature (2 min exposure); MDLA was done using mechanical dissection and resection of periaarterial nerve plexus at the 1 cm length vessel. CDLA was done using KD-3 cryoapplicator with the 2/3 open circle-type head (2 min exposure).

Surgical efficiency was estimated by biochemical indices of blood serum after finishing to model a toxic injury in 2, 4, 8 weeks after operative treatment. The standard kits to determine albumin, alanine and asparagine aminotransferases (ALT and AST), thymol test («Філісіт-Діагностика», Ukraine) were used in the work. Experiments were carried-out according to the «General ethical principles of experiments in animals», approved by the 1st National Congress on Bioethics (Kiev, 2001) and agreed with the statements of the «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes» (Strasbourg, 1985).

Results and discussion

Mechanical periaarterial denervation performance faces some difficulties. This operation is long-lasting, very laborious, requires huge practical experience of surgeon. This operation in small animals, including rats is much more complicated. In our research the vessel injuries with following arterial bleeding, resulting in lethal outcome were observed in 20% of cases.

Cryosurgical way facilitates the denervation technique. The stage of liver artery isolation out of surround-

экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985).

Результаты и обсуждение

Проведение периаартериальной денервации механическим способом связано с рядом трудностей. Данная операция длительна по времени, очень кропотлива, требует большого практического опыта хирурга. Выполнение этой операции на мелких животных, в том числе крысах, еще более осложнено. В наших исследованиях в 20% случаев отмечались повреждения сосудов с последующим артериальным кровотечением, что приводило к летальному исходу.

Криохирургический способ упрощает технику проведения денервации. Этап выделения печеночной артерии из окружающих тканей остается таким же, как при механическом способе, однако выполнение собственно денервации непродолжительно и технически проще. Оно заключается в подведении к артерии криоапликатора и промораживании сосуда в течение 2-х минут. Каких-либо осложнений в послеоперационный период после данной манипуляции не наблюдалось.

При диагностике заболеваний печени определяют активность аланиновой (АлАТ) и аспарагиновой (АсАТ) аминотрансфераз, которые являются наиболее специфическими биохимическими маркерами цитолитического синдрома. Активность этих ферментов резко повышается при дисфункции печени, вызванной различной этиологией. В наших исследованиях после прекращения введения токсического агента CCl_4 активность АлАТ и АсАТ у всех животных была выше нормы соответственно в 7 и 7,5 раза (табл. 1, 2). Через 2 недели после хирургического вмешательства наблюдалось снижение активности обоих ферментов в 2,5 раза. В группах оперированных животных эти показатели были достоверно ниже, чем в группе нелеченых животных, где снижение активности АлАТ и АсАТ было менее выраженным (в 1,5-2 раза). На протяжении всего срока наблюдения тенденция к нормализации рассматриваемых показателей поддерживалась во всех группах. Однако эти показатели уровня нормы достигли лишь в группах, где была проведена периаартериальная денервация или локальная криодеструкция печени. Примечательно, что в группах оперированных животных динамика изменений активности аминотрансфераз была сходной.

ding tissues remains the same as for mechanical way, but the own denervation performance is of short duration and technically simple. It consists in approaching the cryoapplicator towards an artery and vessel freezing out for 2 min. No complications within a post-operation period after this manipulation performance were observed.

Activity of ALT and AST, being the most specific biochemical markers of cytolytic syndrome are determined for liver disease diagnosis. These enzymes activity sharply increases at liver dysfunction of different etiology. In our research after finishing to introduce CCl_4 toxic agent the ALT and AST activity in all animals was 7 and 7.5 times higher than norm, correspondingly (Table 1, 2). Two weeks after surgery a 2.5 times decrease in both enzymes activity was observed. In the groups of operated animals these indices were statistically and significantly lower than in the untreated animal group, where a decrease in ALT and AST activity was less manifested (in 1.5-2 times). Within the whole observation term the tendency to normalisation of all considered indices maintained in all groups. However these indices achieved the norm level only in the groups, where periaarterial denervation and local liver cryodestruction were carried-out. Of note is that in the group of operated animals the dynamics of aminotransferase activity changes was similar.

Liver chronic diffusive diseases are known to manifest in alteration of liver synthetic function, characterising by a change in protein formation, participating in realisation of many important functions in an

Таблица 1. Активность АлАТ (мкмоль/ч мл) в сыворотке крови крыс
Table 1. ALT activity ($\mu\text{mol/hr ml}$) in rat blood serum

Группа Group	Сроки наблюдения, неделя Observation terms, week			
	После моделирования After modelling	После операции After operation		
		2	4	8
CCl_4 -контроль CCl_4 -control	6,56±0,72 ²	3,98±0,43 ²	2,16±0,16 ²	1,11±0,14 ²
КДПА CDLA	6,95±0,63 ²	2,75±0,05 ^{1,2}	1,63±0,03 ^{1,2}	0,59±0,07 ¹
МДПА MDLA	7,02±0,53 ²	2,58±0,15 ^{1,2}	1,39±0,14 ^{1,2}	0,43±0,08 ¹
КП CL	7,34±0,19 ²	2,94±0,21 ^{1,2}	1,82±0,18 ^{1,2}	0,51±0,03 ¹
Норма Norm	0,74±0,03			

Примечания: ¹ – различие достоверно относительно CCl_4 -контроля того же срока наблюдения, $p < 0,05$; ² – различие достоверно относительно нормы, $p < 0,05$.

Notes: ¹ – difference is statistically significant in respect of CCl_4 -control of the same observation term, $p < 0.05$; ² – difference is statistically significant in respect of the norm, $p < 0.05$.

Таблица 2. Активность АсАТ (мкмоль/ч мл) в сыворотке крови крыс
Table 2. AST activity ($\mu\text{mol/hr ml}$) in rat blood serum

Группа Group	Сроки наблюдения, неделя Observation terms, week			
	После моделирования After modelling	После операции After operation		
		2	4	8
CCl ₄ -контроль CCl ₄ -control	8,22±0,27 ²	4,14±0,39 ²	2,49±0,04 ²	1,17±0,08 ²
КДПА CDLA	7,32±0,63 ²	2,67±0,25 ^{1,2}	1,78±0,05 ^{1,2}	0,53±0,02 ¹
МДПА MDLA	7,26±0,75 ²	3,19±0,18 ^{1,2}	1,88±0,22 ^{1,2}	0,68±0,07 ¹
КП CL	7,40±0,68 ²	2,90±0,28 ^{1,2}	1,94±0,17 ^{1,2}	0,63±0,05 ¹
Норма Norm	0,78±0,03			

Примечания: ¹ – различие достоверно относительно CCl₄-контроля того же срока наблюдения, $p < 0,05$; ² – различие достоверно относительно нормы, $p < 0,05$.

Notes: ¹ – difference is statistically significant in respect of CCl₄-control of the same observation term, $p < 0,05$; ² – difference is statistically significant in respect of the norm, $p < 0,05$.

Известно, что ХДЗП часто проявляются в нарушении синтетической функции печени, характеризующейся изменением образования белков, участвующих в реализации многих важнейших функций в организме. Нарушение белоксинтетической функции печени может выражаться гипоальбуминемией [5]. В наших исследованиях во всех группах животных после прекращения введения CCl₄ отмечается лишь тенденция к снижению альбумина (табл. 3). Через 2 недели в контрольной группе эта тенденция усиливается. В остальных группах концентрация альбумина остается на уровне нормы. К концу 2-го месяца послеоперационного периода во всех группах животных содержание альбумина в сыворотке крови поддерживается на уровне физиологической нормы.

Хронические диффузные заболевания печени характеризуются усилением активности стромы печени (мезенхимально-воспалительный синдром). Повышение показателей осадочных проб, в том числе тимоловой, может свидетельствовать о степени выраженности данного синдрома. Количественные и качественные изменения сывороточных протеиновых фракций, выражающиеся в увеличении флоккуляционной или уменьшении ингибиторной активности, становятся причиной измененных осадочных проб [5]. Через 2 недели после операций в группах с периа-

organism. Disorder in protein-synthetic liver function may be manifested in hypoalbuminemia [5]. In our research in all animal groups after finishing CCl₄ introduction the only tendency to albumin reduction was observed (Table 3). In the control group this tendency strengthens in 2 weeks. In the rest groups the albumin concentration remains at the norm level. To the end of 2nd month of post-operation period in all animal groups the albumin content in blood serum is maintained at the level of physiological norm.

Liver chronic diffusive diseases are characterised by the strengthening of liver stroma activity (mesenchymal and inflammatory syndrome). Increase in indices of flocculation tests, including thymol test, may testify to the manifestation extent of this syndrome. Quantitative and qualitative changes in serum protein fractions, manifesting in augmen-

tation of flocculation activity or decrease in inhibition one, resulted in changed flocculation tests [5]. Two weeks after operation in the groups with periaarterial denervation and liver cryodestruction there was occurred a 1,6-fold decrease in thymol test, remaining at previous level in CCl₄-control group (Table 4). To the end of observation term this index was constantly significantly higher than in the norm group. Of note is that a thymol test was at a high limit of physiological norm in all the experimental groups [5].

Conclusions

1. When performing periaarterial denervation of liver artery for the CCl₄-induces LCDDs therapy the

Таблица 3. Концентрация альбумина (г/л) в сыворотке крови крыс
Table 3. Albumin concentration (g/l) in rat blood serum

Группа Group	Сроки наблюдения, неделя Observation terms, week			
	После моделирования After modelling	После операции After operation		
		2	4	8
CCl ₄ -контроль CCl ₄ -control	36,27±2,70	34,41±3,21	35,59±3,46	36,39±3,58
КДПА CDLA	36,12±2,16	37,08±1,64	36,87±2,88	37,76±3,86
МДПА MDLA	35,17±3,22	36,36±2,32	37,29±2,54	38,65±3,44
КП CL	36,39±3,34	38,14±1,99	38,22±3,23	40,78±3,43
Норма Norm	38,30±0,55			

териальной денервацией и криодеструкцией печени происходило снижение тимоловой пробы в 1,6 раз, в группе CCl₄-контроля этот показатель оставался на прежнем уровне (табл. 4). Далее до конца срока наблюдения этот показатель был стабильно достоверно выше, чем в группе нормы. Следует отметить, что в целом в экспериментальных группах показатель тимоловой пробы находился на верхней границе физиологической нормы [5].

Выводы

1. При проведении периаартериальной денервации печеночной артерии для терапии CCl₄-индуцированного ХДЗП в равной степени эффективными являются механический и криохирургический способы проведения этой манипуляции. Криохирургический вариант денервации обеспечивает необходимый лечебный эффект и имеет преимущество перед механическим из-за технической простоты и быстроты выполнения операции.

2. Локальное криоповреждение 10% массы печени с CCl₄-индуцированным патологическим процессом способствует нормализации биохимических показателей плазмы крови (содержание альбумина, активность АлАТ, АсАТ, тимоловая проба) на всех этапах послеоперационного периода в такой же степени, как и периаартериальная денервация печеночной артерии.

Литература

1. *Гарбузенко Д. В.* Патогенез портальной гипертензии при циррозе печени // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.– 2002.– № 5.– С. 23-28.
2. *Левитан Б. Н., Дедов А. В.* 50-летний опыт клинического изучения цирроза печени // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.– 2002.– Т.12, №1.– С. 76-79.
3. *Милонов О. Б., Мовчун А. А., Завейан З. С., Мамамтавришвили Г. Д.* Хирургия хронического гепатита // Хирургия.– 1989.– №12.– С. 62-67.
4. *Парамонова Л. М.* Криохирurgia печени в эксперименте // Достижения криомедицины.– СПб: Наука, 2001.– С. 47-50.
5. *Подымова С.Д.* Болезни печени.– М.: Медицина, 1993.– 473 с.
6. *Сандомирский Б. П., Сигал Н.С., Дубровский К.В. и др.* Низкие температуры при лечении хронических диффузных заболеваний печени.– Киев: Наук. думка, 1992.– 134 с.
7. *Хворостинка В. Н., Лахно О.В.* Состояние биоэлементного состава сыворотки крови у больных хроническими гепатитами и циррозами печени // Врачебная практика.– 2004.– №3.– С. 51-54.

Таблица 4. Показатели тимоловой пробы (ед) в сыворотке крови крыс
Table 4. Thymol test indices (Units) in rat blood serum

Группа Group	Сроки наблюдения, неделя Observation terms, week			
	После моделирования After modelling	После операции After operation		
		2	4	8
CCl ₄ -конт- роль CCl ₄ -control	3,63±0,26 ²	3,54±0,37 ²	2,85±0,11 ²	3,55±0,37 ²
КДПА CDLA	3,32±0,22 ²	2,45±0,30 ^{1,2}	2,28±0,12 ^{1,2}	2,45±0,29 ^{1,2}
МДПА MDLA	3,47±0,13	2,78±0,26 ^{1,2}	2,42±0,14 ^{1,2}	3,23±0,29 ^{1,2}
КП CL	3,33±0,25 ²	2,87±0,19 ^{1,2}	2,89±0,38 ^{1,2}	2,57±0,12 ^{1,2}
Норма Norm	1,69±0,03			

Примечания: ¹ – различие достоверно относительно CCl₄-контроля того же срока наблюдения, p<0,05; ² – различие достоверно относительно нормы, p<0,05.

Notes: ¹ – difference is statistically significant in respect of CCl₄-control of the same observation term, p<0.05; ² – difference is statistically significant in respect of the norm, p<0.05.

mechanical and cryosurgical ways of this manipulation performance are equally efficient. But cryosurgical denervation has significant advantage over mechanical one due to the rate of operation performance because of technical simplicity.

2. The local cryoinjury of 10% liver mass with CCl₄-induced pathological process was established to normalise biochemical indices of blood plasm (albumin content, ALT and AST activity, thymol test) at all stages of post-operation period at the same extent as for periaarterial denervation of liver artery.

References

1. *Garbuzenko D.V.* Pathogenesis of portal hypertension at liver cirrhosis // Ros. zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii.– 2002.– N5.– P. 23-28.
2. *Levitan B.N., Dedov A.V.* 50-years' experience of clinical study of liver cirrhosis // Ros. Zhurnal Gastroenterologii, Gepatologii, Koloproktologii.– 2002.– Vol. 12, N1.– P. 76-79.
3. *Milonov O.B., Movchun A.A., Zaveyan Z.S., Mamamtavrisshvili G.D.* Surgery of chronic hepatitis // Khirurgiya.– 1989.– N12.– P. 62-67.
4. *Paramonova L.M.* Liver cryosurgery in experiment // Achievements of cryomedicine.– Saint-Petersburg: Nauka, 2001.– P. 47-50.
5. *Podymova S.D.* Liver diseases.– Moscow: Meditsina, 1993.– 473 p.
6. *Sandomirsky B.P., Sigal N.S., Dubrovsky K.V., Litvinenko A.A. et al.* Low temperatures when treating chronic diffusive liver diseases.– Kiev: Naukova Dumka, 1992.– 134p.
7. *Khvorostinka V.N., Lakhno O.V.* State of bioelement composition of blood serum in patients with chronic liver hepatitis and cirrhoses // Vrachebnaya Praktika.– 2004.– N3.– P.51-54.

8. *Mochinaga N.* Lipid metabolism in partially hepatectomized dogs and effect of hepatic periarterial neurectomy // Jpn. J. Surg.– 1981.– Vol. 11, N 2.– P. 115-123.
9. *Ito Y., Takanashi T., Kakita A. et al.* Immediate effects of hepatic denervation on hepatic hemodynamics in dogs // Int. Surg.– 1998.– Vol. 83, N1.– P. 48-52.
8. *Mochinaga N.* Lipid metabolism in partially hepatectomized dogs and effect of hepatic periarterial neurectomy // Jpn. J. Surg.– 1981.– Vol. 11, N2.– P. 115-123.
9. *Ito Y., Takanashi T., Kakita A. et al.* Immediate effects of hepatic denervation on hepatic hemodynamics in dogs // Int. Surg.– 1998.– Vol. 83, N1.– P. 48-52.

Поступила 12.12.2006

Accepted in 12.12.2006