

Модель очагового поражения печени для тестирования контрастных препаратов при ультразвуковом исследовании

Фомина С.В., Суходоло И.В., Завадовская В.Д., Мильто И.В., Борисова Л.В.

The model of focal liver lesions to test the contrast agents with ultrasound

Fomina S.V., Sukhodolo I.V., Zavadovskaya V.D., Milto I.V., Borisova L.V.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Фомина С.В., Суходоло И.В., Завадовская В.Д. и др.

Очаговые образования печени являются результатом большого числа доброкачественных и злокачественных процессов. Ранняя и точная дифференциальная диагностика патологических процессов актуальна, так как тактика ведения пациентов определяется природой образований. В диагностическом алгоритме ультразвуковому исследованию отводится первоочередная роль как широко используемому, не несущему лучевой нагрузки, не требующему больших временных и экономических затрат. Использование контрастных препаратов позволяет повысить чувствительность, специфичность и диагностическую точность ультразвукового исследования. Разработка и внедрение в медицину новых отечественных контрастных веществ требует их предварительного исследования на экспериментальной модели. Однако на сегодняшний день однозначных рекомендаций для создания модели очагового повреждения печени не существует.

Ключевые слова: экспериментальная модель, очаговое поражение печени, ультразвуковая диагностика, эхоконтрастные препараты, гистологическое исследование.

Focal formations of the liver are the result of a large number of benign and malignant processes. Actual an early and accuracy differential diagnostics of pathological processes, as the tactics of the patients depends on the nature formations. Ultrasound plays a key role in the diagnostic algorithm as it is a widely used, does not carry radiation exposure, does not require a lot of time and economic costs. The use of contrast agents can improve the sensitivity, specificity and diagnostic accuracy of ultrasound. Development and introduction in medicine the new domestic contrast agents requires their preliminary studies in an experimental model. However, to date, unambiguous recommendations for creating a model of focal liver damage does not exist.

Key words: experimental model, focal hepatic lesions, ultrasound diagnostics, echocontrast agents, histological study.

УДК 616.36-047.58-073.755.4:005.935.33

Введение

Очаговые образования печени являются результатом большого числа доброкачественных и злокачественных процессов, при этом среди злокачественных новообразований подавляющими являются гепатоцеллюлярный рак и метастазы. Поскольку терапевтическая тактика очаговых образований определяется их природой, то исключительную актуальность приобретает ранняя и точная дифференциальная диагностика патологических процессов [1, 2, 11].

Лучевые методы исследования (компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ), ультразвуковое исследование (УЗИ)) играют ведущую роль в выявлении и дифференциальной диагностике очаговых образований, при этом первое место в диагностическом алгоритме отводится ультразвуковому исследованию как широко используемому, не

несущему лучевой нагрузки, не требующему больших временных и экономических затрат [2, 3, 6].

Одним из существенных дифференциально-диагностических критериев в установлении конкретной нозологической формы поражения печени является характер контрастирования объекта, что косвенным образом отражает васкуляризацию образования [4, 6, 7].

В мировой клинической практике использование контрастных препаратов при КТ и МРТ представляет собой неотъемлемую часть диагностического процесса. В полной мере это относится и к ультразвуковым контрастным (импортным) препаратам, однако в отечественной клинической практике эхоконтрастные препараты не нашли широкого применения в связи с высокой стоимостью [5—8, 10, 12].

Разработка и внедрение в медицину новых отечественных контрастных веществ требуют их предвари-

тельного исследования на экспериментальной модели [5, 9, 11].

Принцип повышения качества изображения при использовании эхоконтрастного препарата состоит во введении в кровь пациента газосодержащей суспензии, которая усиливает отражение ультразвуковых волн и повышает чувствительность метода в регистрации магистрального и органного регионарного кровотока.

Известно несколько подходов к созданию модели очагового поражения органа (печени), такие как введение культуры стафилококка в участок ткани искусственно созданного воспаления, путем перевязки желчных протоков, внедрение силиконового трансплантата с последующим его заполнением жидкостью. Однако все они имеют большой недостаток — сложность воспроизведения с высокой частотой гибели экспериментальных животных, поэтому на сегодняшний день однозначных рекомендаций для создания модели очагового повреждения печени не существует [1, 11].

Цель исследования — создать модель очагового поражения печени в эксперименте и провести ее морфологическую верификацию. Оценить сформированный очаг поражения с помощью нативного ультразвукового исследования и после введения контрастного препарата.

Материал и методы

Исследование проведено на 21 беспородной крысе (самцы) массой тела (150 ± 30) г, из которых сформированы три группы. В качестве исследуемого органа использовали печень.

I группа включала 6 крыс — интактные животные, II группа: 6 крыс — ложнооперированные животные (проводили оперативное вмешательство с введением в правую долю печени 1 мл (подкапсульно) физиологического раствора), III группа: 9 крыс — опытная группа (проводили оперативное вмешательство с внедрением в правую долю печени (на глубину 5 мм) инородного тела (деревянной щепки размером 2—3 мм), предварительно загрязненную в взвеси крысиных каловых масс.

Оперативное вмешательство у животных опытной группы производилось в условиях экспериментальной операционной лаборатории, для наркоза использовался препарат «Золетил 100». Выполнялась верхнесере-

динная лапаротомия, введение инородного тела в печень, послонное ушивание передней брюшной стенки.

На первоначальном этапе морфологическое исследование осуществляли через 7, 14, 19 сут для определения оптимального срока, необходимого для формирования патологического очага.

Перед выведением животных из эксперимента им проводили стандартное ультразвуковое исследование на аппарате Sonix SP линейным датчиком с частотой 10—12 МГц до и после введения опытного образца ультразвукового контрастного препарата. Контрастный препарат вводили в хвостовую вену объемом 1 мл.

Составляющими компонентами контрастного препарата являются: газ (гексафторид серы SF₆, слаборастворимый в воде), стабилизаторы (фосфолипиды) и базовая основа (физиологический раствор). В процессе приготовления образца все компоненты помещали в вакуумный пластиковый контейнер с последующим активным взбалтыванием в течение 20 с. В результате приготовленный образец приобретал вид гомогенной суспензии белого цвета.

При сканировании оценивалась однородность паренхимы печени, ее эхогенность, зернистость, состояние трабекулярной структуры (сосудистое русло, желчные протоки). Выведение животных из эксперимента проводили методом декапитации под эфирным наркозом через 7, 14 и 19 сут после оперативного вмешательства.

Для гистологического исследования брали фрагменты печени в непосредственной близости от инородного тела и на удалении от него. Материал фиксировали в 10%-м формалине, обезвоживали в изопропанолу и заливали в парафиновую смесь. Из парафиновых блоков на микротоме готовили срезы толщиной 5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Результаты и обсуждение

На протяжении всего срока наблюдения не отмечено спонтанной гибели ни одного ложнооперированного и опытного животного. Через 7 сут после начала эксперимента на микропрепаратах участков печени, удаленных от очага внедрения инородного тела, отмечено умеренное расширение синусоидных капилляров с единичными эритроцитами. На границе с очагом заметна резкая гиперемия капилляров, общий отек, инфильтрация стромы и паренхимы сегментоядерными клетками, дистрофия и некроз гепатоцитов.

Через 14 сут строма и паренхима печени на удалении от очага — без особенностей. Вблизи очага сохраняется периваскулярный отек, определяются поля некротизированных гепатоцитов, инфильтрированные мононуклеарными и единичными полинуклеарными клетками. На границе очага воспаления и неповрежденной паренхимы четко визуализируются скопления фибробластоподобных клеток и участки фиброобразования. В этот срок уже четко определяется граница между очагом и прилежащими участками (рис. 1).

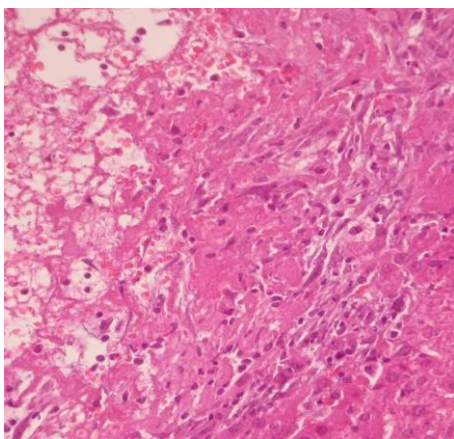


Рис. 1. Микропрепарат печени крысы на 14-е сут. Четко определяется граница зоны некроза и прилежащих участков паренхимы. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 20

На 19-е сут после начала эксперимента между интактными участками печени и очагом внедрения инородного тела гистологически определяется соединительная ткань с небольшим количеством тонкостенных сосудов (рис. 2).

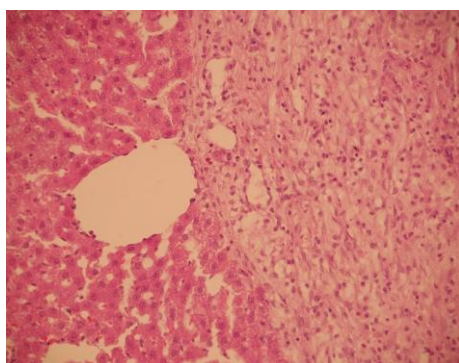


Рис. 2. Микропрепарат печени крысы. Капсула, образовавшаяся вокруг очага повреждения, и прилежащая неизменная паренхима. Пограничная зона на 19-е сут. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 40

При ультразвуковом исследовании экспериментальных животных 1-й и 2-й групп без введения опытного образца контрастного препарата на 14-е сут

на эхограмме визуализировалась паренхима печени, изоэхогенная и однородная по структуре, трабекулярные структуры прослеживаются до 2-го порядка в виде анэхогенных структур линейного характера. При внутривенном введении опытного образца контрастного препарата структура печеночной ткани приобретает зернистый характер, эхогенность ткани повышается, появляется детализация трабекулярных структур до 3—4-го порядка (рис. 3).

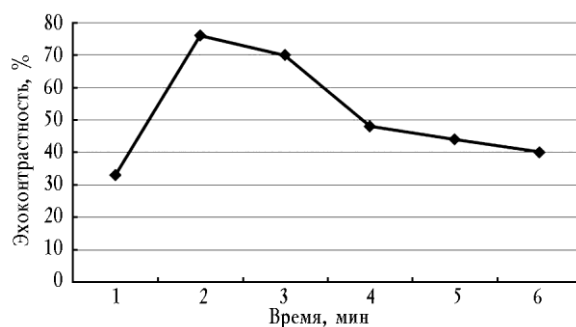


Рис. 3. Изменение эхогенности печеночной ткани при введении опытного образца эхоконтрастного препарата

Эффект усиления контрастности изображения появляется за счет усиления рассеивания ультразвуковых волн при их столкновении с микропузырьками гексафторида серы, стабилизированных фосфолипидами, с опосредованным возрастанием силы акустического обратного сигнала и его фиксации.

При ультразвуковом исследовании 3-й группы экспериментальных животных на 14-е сут без введения опытного образца контрастного препарата на эхограмме визуализировалась гиперэхогенная структура (инородное тело) с гипоэхогенным ободком по периметру толщиной 1—2 мм (зона отека), контуры очагового образования неровные, нечеткие (рис. 4).



Рис. 4. Эхограмма печени крысы на 14-е сут до введения образца контрастного препарата

При внутривенном введении опытного образца контрастного препарата на эхограмме было отмечено повышение эхогенности паренхимы печени за счет увеличения контрастности трабекулярных структур, структура печени приобрела зернистый характер. Очаговое образование было представлено гиперэхогенной структурой (инородное тело) с анэхогенной зоной по периметру толщиной 1 мм (скопление жидкости), за которой следовала зона повышенной эхогенности толщиной до 3—4 мм (зона отека). Контур приобрел неровный и четкий характер (рис. 5).



Рис. 5. Эхограмма печени крысы на 14-е сут после введения образца контрастного препарата через 55 с

Введение контрастного препарата позволило детализировать внутреннюю структуру очагового образования, определить границы зоны вовлечения задействованных тканей.

Предпринятое экспериментальное воздействие позволяет создать в печени крыс изолированный очаг, который начиная с 14-х сут оказывается четко ограниченным от прилежащей паренхимы. К 19-м сут от начала эксперимента соединительная ткань формирует вокруг очага хорошо выраженную, содержащую сосуды капсулу толщиной (35 ± 5) мкм. Удаленные от очага участки печени — без особенностей.

Изменения в печени крыс, прослеженные в динамике предпринятого эксперимента, свидетельствуют о хорошей сохранности интактных участков печеночной паренхимы. На протяжении 7 сут после оперативного вмешательства в очаге воздействия гистологически определяются признаки острого воспаления. Начиная с 14-х сут вокруг очага экспериментального воздействия формируется зона фибробластоподобных клеток и образуется соединительная ткань, которая к 19-м сут

четко ограничивает инородное тело от окружающей паренхимы капсулой, толщина которой составляет (35 ± 5) мкм. При ультразвуковом исследовании с использованием образца контрастного препарата удается визуализировать участок поражения, детализировать его внутреннюю структуру и границы распространения.

Выводы

1. Предложенная манипуляция оказывается пригодной для создания модели очагового поражения печени.
2. Внутривенное введение контрастного препарата оптимизирует визуализацию изучаемых структур.
3. Вышеизложенное позволяет сделать вывод, что предложенная манипуляция может использоваться для создания модели очагового поражения печени.

Литература

1. Борисов А.Е. Руководство по хирургии печени и желчевыводящих путей. СПб.: Скифия, 2003. 1. С. 293; 2. С. 524—529.
2. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями // Вестн. РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2007. № 18 (2). С. 52—89.
3. Лелюк В.Г., Лелюк С.Э. Ультразвуковая диагностика. Реальное время, 1999. 288 с.
4. Цвибель В.Дж., Пенлерито Д.С. Ультразвуковое исследование сосудов, 2008.
5. Feinstein et al. // J. Am. Coll. Cardiol. 1988. V. 11. P. 59—65. — альбумин
6. Greis C. Contrast-Enhanced Ultrasound in General Imaging. Springer-Verlag, 2005.
7. Kleffel T. Comparison of Contrast-enhanced LoMechanical Index Sonography and Unenhanced B-Mode Sonography for the Differentiation between Synovitis and joint Effusion in Patients with Rheumatoid Arthritis // Fortschr. Roentgenstrahlen. 2005. № 177. P. 835—841.
8. Lencioni R. Enhancing the Role of Ultrasound with Contrast Agents. Springer-Verlag Italia, 2009.
9. Quasia E. Microbubbleultrasound contrast agents: an update // Eur. Radiol. 2007. V. 17, № 8. P. 1995—2008.
10. Razor Associates, Inc. в WO 80/02365 — желатин
11. SHU 454 и SHU 508 Fritsch et al. Fritsch T. et al. Invest. Radiol. 1988. V. 23 (Suppl 1). P. 302—305.
12. Sugiama M, Atomi Y. Pyogenic hepatic abscess with biliary communication // Am. J. Surg. 2002. V. 183. P. 2.

Поступила в редакцию 12.03.2012 г.

Утверждена к печати 30.05.2012 г.

Сведения об авторах

С.В. Фомина — аспирант кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии СибГМУ (г. Томск).

И.В. Суходоло — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой морфологии и общей патологии СибГМУ (г. Томск).

В.Д. Завадовская — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой лучевой диагностики и лучевой терапии СибГМУ (г. Томск).

И.В. Мильто — канд. биол. наук, доцент кафедры морфологии и общей патологии СибГМУ (г. Томск).

Л.В. Борисова — студентка 2-го курса медико-биологического факультета СибГМУ (г. Томск).

Для корреспонденции

Фомина Светлана Викторовна, тел. 8-961-096-5637; e-mail: statfom@mail.ru