

УДК 616.36:615.849.19

DOI: 10.37895/2071-8004-2022-26-2-26-30

ОЦЕНКА МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ ПЕЧЕНИ МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ ДОППЛЕРОВСКОЙ ФЛОУМЕТРИИ ПОСЛЕ ЕЕ ОБШИРНОЙ РЕЗЕКЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

С.Д. Леонов¹, О.В. Халепов², А.В. Родин², А.С. Карасев², А.А. Сорокина², Д.Н. Панченков^{1,3}¹ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина» ФМБА России, Москва, Россия²ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск, Россия³ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Провести оценку микроциркуляции и механизмов ее регуляции в печени после обширной ее резекции.

Материалы и методы. Исследование проведено на 10 крысах линии Вистар обоего пола массой 180–270 г, которым под наркозом производили срединную лапаротомию. Оценка микроциркуляции в печени крыс выполняли с помощью лазерного доплеровского флоуметра ЛАКК-02 (Россия). Световод для определения микроциркуляции помещали на висцеральную поверхность правой доли печени животного и записывали показатели лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ-грамму) в течение 7 мин. Затем последовательно накладывали лигатуры на левую боковую и срединную доли печени с последующим их отсечением, удаляя около 70 % от массы органа. После удаления обеих долей печени повторно проводили запись ЛДФ-граммы в течение 7 минут, помещая датчик на висцеральную поверхность правой доли печени. С помощью программного обеспечения флоуметра получали базовые параметры микроциркуляции соответственно до и после обширной резекции печени.

Результаты. После проведения обширной резекции печени значения среднего арифметического показателя микроциркуляции ее паренхимы снизились на 11,71 % ($p < 0,05$), что свидетельствует о снижении перфузии на уровне микроциркуляторного русла. При этом показатели среднеквадратичного отклонения показателя микроциркуляции и коэффициента вариации статистически значимо не изменились. Медиана максимальной амплитуды нейрогенных колебаний после резекции увеличилась в 2,3 раза ($p < 0,05$). Амплитуда миогенных колебаний после резекции также возрастала ($p < 0,05$), но степень увеличения была меньше, чем у нейрогенных ритмов. Обнаружено, что у 70 % животных возрастала максимальная амплитуда эндотелиальных колебаний при исследовании микроциркуляции в печени после проведения обширной ее резекции, однако в целом различия между средними показателями эндотелиальных колебаний до и после резекции были статистически не значимыми.

Заключение. В случае экспериментальной резекции печени наиболее информативными достоверными ЛДФ-критериями развития ишемии в культе печени оказались среднее арифметическое показателя микроциркуляции, амплитуда нейрогенных и миогенных колебаний. Подчеркнем, что степень изменения этих показателей может служить признаком выраженности ишемии в культе печени после ее резекции и иметь прогностическое значение, хотя полученные результаты и нуждаются в дальнейших исследованиях.

Ключевые слова: обширная резекция печени, лазерная доплеровская флоуметрия, эксперимент

Для цитирования: Леонов С.Д., Халепов О.В., Родин А.В., Карасев А.С., Сорокина А.А., Панченков Д.Н. Оценка микроциркуляции печени методом лазерной доплеровской флоуметрии после ее обширной резекции в эксперименте // *Лазерная медицина*. 2022; 26 (2): 26–30. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2022-26-2-26-30>

Контакты: Леонов С.Д., e-mail: leonov-serg@yandex.ru

ASSESSMENT OF THE LIVER MICROCIRCULATION BY LASER-DOPPLER FLOWMETRY AFTER EXTENDED LIVER RESECTION IN THE EXPERIMENT

Leonov S.D.¹, Khalepo O.V.², Rodin A.V.², Karasev A.S.², Sorokina A.A.², Panchenkov D.N.^{1,3}¹Skobelkin Scientific and Practical Center for Laser Medicine, FMBA of Russia, Moscow, Russia²Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia³A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

Abstract

Purpose. To assess microcirculation and mechanisms of its regulation in the liver after its extended resection.

Materials and methods. 10 Wistar rats of both sexes weighing 180–270 g which had median laparotomy under general anesthesia were taken in the trial. Microcirculation in the liver of rats was assessed with LAKK-02 Laser-Doppler flowmeter (Russia). A light guide for determining microcirculation was placed on the visceral surface of the right liver lobe; parameters of Laser-Doppler flowmetry (LDF-gram) were registered for 7 min. Then, ligatures were sequentially applied to the left lateral and median lobes of the liver followed by their cutting off; then, about 70 % of the organ were removed. After removal of both liver lobes, LDF-gram was recorded again for 7 minutes with a sensor placed on the visceral surface of the right liver lobe. Basic microcirculation parameters were registered before and after extended liver resection.

Results. After the extended liver resection, average arithmetic parameters of microcirculation in the liver parenchyma decreased by 11.71 % ($p <$

0.05), which indicates the decrease in the microvasculature perfusion. At the same time, indicators of standard deviation of the microcirculation index and the coefficient of variation did not change statistically significantly. The median maximum amplitude of neurogenic oscillations after the resection increased by 2.3 points ($p < 0.05$). The amplitude of myogenic oscillations also increased after resection ($p < 0.05$); however, the degree of increase was less than that of the neurogenic rhythms. It was found that in 70 % of animals the maximum amplitude of endothelial oscillations increased in the liver microcirculation after the extended resection; however, in general, differences between the average endothelial oscillations before and after the resection were not statistically significant.

Conclusion. In the experimental liver resection, the most informative and reliable LDF criteria on ischemia development in the liver stump were average arithmetic microcirculation indices as well as the amplitude of neurogenic and myogenic oscillations. The authors emphasize that the degree of changes in these indices may be a sign of ischemia severity in the liver stump after its resection and may have a prognostic value, although the results obtained require further research.

Keywords: extended liver resection, laser-Doppler flowmetry, experiment

For citations: Leonov S.D., Khalepo O.V., Rodin A.V., Karasev A.S., Sorokina A.A. Assessment of the liver microcirculation by laser Doppler flowmetry after extended liver resection in the experiment. *Laser medicine*, 2022; 26 (2): 26–30. [In Russ.]. <https://doi.org/10.37895/2071-8004-2022-26-2-26-30>

Contacts: Leonov S.D., e-mail: leonov-serg@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Обширная резекция печени (ОРП) широко применяется в хирургической практике для лечения пациентов с первичными или метастатическими опухолями печени. Выполнение подобных оперативных вмешательств сопровождается риском развития печеночной недостаточности, которая считается наиболее серьезным осложнением и является основной причиной летальных исходов после операции [1, 2].

Изучение патогенетических аспектов развития печеночной недостаточности после ОРП позволяет разработать новые способы инструментальной диагностики пострезекционных осложнений, расширяет критерии прогноза исхода оперативного вмешательства и открывает дополнительные возможности для профилактики данного осложнения.

Важнейшим аспектом в развитии печеночной недостаточности после ОРП является ишемическо-реперфузионное повреждение паренхимы после восстановления кровотока в оставшейся части печени. Поэтому исследование микрогемодинамики печеночной паренхимы после ОРП является актуальной задачей хирургической гепатологии.

Для оценки микроциркуляции печени в эксперименте успешно применяется метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) [3]. Он позволяет оценить перфузию в тканях и определить роль различных факторов регуляции периферического кровотока.

Цель исследования: провести оценку микроциркуляции и механизмов ее регуляции в печени после обширной ее резекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 10 крысах линии Вистар обоего пола массой 180–270 г. Содержание крыс и уход за животными осуществляли в условиях вивария с соблюдением «Принципов надлежащей лабораторной практики» (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ № 33044-2014, введен с 01.08.2015 г.) и приказа Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил

надлежащей лабораторной практики». Эвтаназию животных осуществляли под общим наркозом методом декапитации.

Оценку микроциркуляции в печени крыс выполняли с помощью лазерного доплеровского флоуметра ЛАКК-02 (Россия). Под ксилазин-золетилловым наркозом (золетил 20–40 мг/кг массы, ксилазин 5–10 мг/кг массы животного внутривенно) производили срединную лапаротомию. Световод для определения микроциркуляции помещали на висцеральную поверхность правой доли печени животного. Записывали ЛДФ-грамму в течение 7 мин. Затем последовательно накладывали лигатуры на левую боковую и срединную доли печени с последующим их отсечением. Тем самым удаляли около 70 % от массы органа, что является предельно допустимой по объему резекцией печени [4, 5]. После удаления обеих долей печени повторно проводили запись ЛДФ-граммы в течение 7 минут, помещая датчик на висцеральную поверхность правой доли печени.

С помощью программного обеспечения флоуметра получали базовые параметры микроциркуляции соответственно до и после обширной резекции печени: среднее арифметическое показателя микроциркуляции (ПМ), среднее квадратичное отклонение ПМ (СКО), коэффициент вариации (Kv). Оценивали активные факторы регуляции микроциркуляции – максимальную амплитуду в диапазоне эндотелиальных ($A_{\max E}$), миогенных ($A_{\max M}$) и нейрогенных колебаний ($A_{\max N}$), а также пассивные механизмы – максимальную амплитуду в диапазоне кардиогенных ($A_{\max C}$) и дыхательных ритмов ($A_{\max D}$). Активные факторы контроля микроциркуляции модулируют поток крови со стороны сосудистой стенки. Пассивные факторы – это пульсовая волна со стороны артерий и присасывающее действие «дыхательного насоса» со стороны вен, характеризующие состояние артериального притока и венозного оттока из микроциркуляторного русла [6].

Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики с помощью программы StatSoft Statistica 10.0. Для определения статистической значимости использовали непараметрический метод оценки

данных – тест Уилкоксона для зависимых выборок. Результаты были представлены в виде медианы с указанием минимума и максимума. Для оценки статистической значимости использовалась величина $p < 0,05$, при которой различия признавались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У крыс до резекции медиана показателя микроциркуляции паренхимы печени равнялась 47,5 (39,49; 63,03) пф. ед., медиана среднего квадратичного отклонения была 5,2 (1,45; 11,25) пф. ед., а коэффициента вариации – 10,52 (3,39; 23,01) (табл.).

После проведения обширной резекции печени ПМ ее паренхимы снизился на 11,71 % до 41,94 (30,32; 50,92) пф. ед. ($p < 0,05$), что свидетельствует о снижении перфузии на уровне микроциркуляторного русла.

При этом показатели среднеквадратичного отклонения ПМ и коэффициента вариации, которые в соответствии с данными литературы характеризуют вазомоторную активность микрососудов [6], статистически значимо не изменились и составили 5,51 (2,28; 15,04) пф.ед. и 15,08 % (5,73; 38,65).

Базовые параметры периферического кровообращения (ПМ, σ , Kv), дают общую оценку состояния микроциркуляции, однако метод ЛДФ с помощью вейвлет-преобразования доплерограмм с последующим анализом амплитуд колебаний кровотока в различных частотных диапазонах, позволяет провести детальный анализ механизмов регуляции микроциркуляторного русла [7].

При оценке активных и пассивных механизмов регуляции регионарного кровотока в печени до и после ее обширной резекции выявлены статистически значимые изменения максимальной амплитуды нейрогенных и миогенных колебаний.

Медиана максимальной амплитуды нейрогенных колебаний, которая до ОРП составила 1,21 (0,75; 3,69), после резекции увеличилась в 2,3 раза до 2,81 (0,83; 5,52) ($p < 0,05$).

В соответствии с данными литературы нейрогенная симпатическая адренергическая активность является одним из основных механизмов поддержания тонуса периферических сосудов, и прежде всего артериол и артериовенозных анастомозов [6]. Таким образом, повышение амплитуды колебаний в нейрогенном диапазоне является признаком снижения сопротивления этих сосудов.

Таблица

Параметры микроциркуляции в печени крыс до и после обширной резекции печени

Table

Parameters of microcirculation in the liver of rats before and after extended liver resection

Показатель микроциркуляции Microcirculation index	До обширной резекции печени Before extended liver resection			После обширной резекции печени After extended liver resection		
	Me	min	max	Me	min	max
ПМ Average arithmetic microcirculation index	47,50*	39,49	63,03	41,94*	30,32	50,92
СКО Standard deviation of microcirculation index	5,20	1,45	11,25	5,51	2,28	15,04
Kv Variation coefficient	10,52	3,39	23,01	15,01	5,73	38,65
$A_{\max \Delta}$ Maximum amplitude in the range of endothelial oscillations	2,54	0,4	6,12	4,72	0,67	6,96
$A_{\max H}$ Maximum amplitude in the range of neurogenic oscillations	1,21*	0,75	3,69	2,81*	0,83	5,52
$A_{\max M}$ Maximum amplitude in the range of myogenic oscillations	1,15*	0,72	2,31	1,92*	1,04	4,46
$A_{\max D}$ Maximum amplitude in the range of respiratory rhythms	0,82	0,43	3,47	1,41	0,37	2,60
$A_{\max C}$ Maximum amplitude in the range of cardiogenic rhythms	0,26	0,17	1,02	0,34	0,18	1,02

Примечание: * – различия статистически значимы между идентичными показателями до и после обширной резекции печени ($p < 0,05$).

Note: * – differences are statistically significant between identical parameters before and after extended liver resection ($p < 0,05$).

Амплитуда миогенных колебаний после резекции также возрастала, но степень увеличения была меньше, чем у нейрогенных ритмов: с 1,15 (0,72; 2,31) до 1,92 (1,04; 4,46).

Миогенная активность отражает в соответствии с литературными данными колебательный компонент мышечного тонуса прекапилляров, регулирующих приток крови в микроциркуляторное русло. Показано, что увеличение амплитуды этих колебаний свидетельствует о снижении миогенного компонента периферического сосудистого сопротивления, нутритивного кровотока, снижении числа функционирующих капилляров [6].

Обнаружено, что у 70 % животных возрастала максимальная амплитуда эндотелиальных колебаний при исследовании микроциркуляции в печени после проведения обширной ее резекции. Однако в целом различия между средними показателями до и после резекции были статистически не значимыми.

Тенденция к нарастанию эндотелиальной НО-зависимой активности в соответствии с литературными данными отражает дилатацию артерий и крупных артериол.

Таким образом, сразу после обширной резекции печени фиксировалось уменьшение показателя микроциркуляции с тенденцией к нарастанию вазомоторной активности сосудов в оставшейся паренхиме, что свидетельствовало о снижении перфузии в микроциркуляторном русле.

Доминирование амплитуд в диапазоне симпатической, нейрогенной и эндотелиальной активности свидетельствует о преобладании вклада кровотока артериол, артерио-венулярных анастомозов, снижении периферического сопротивления в капиллярах и снижении нутритивного кровотока.

Снижение перфузии на фоне увеличения амплитуды миогенных и нейрогенных колебаний в соответствии с данными литературы может служить ЛДФ-критериями ишемии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют, что в случае экспериментальной резекции печени наиболее информативными достоверными ЛДФ-критериями развития ишемии в культе печени оказались ПМ и амплитуда нейрогенных и миогенных колебаний. Подчеркнем, что степень изменения этих показателей может служить признаком выраженности ишемии в культе печени после ее резекции и иметь прогностическое значение, хотя полученные результаты и нуждаются в дальнейших исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чжао А.В., Ботиралиев А.Ш., Степанова Ю.А., Вишневецкий В.А. Билиарные осложнения резекций печени (причины, факторы риска, профилактика, вопросы тактики).

Высокотехнологическая медицина. 2021; 8(3): 14–24. DOI: 10.52090/2542-1646_2021_8_3_14

2. Asahi Y., Kamiyama T., Kakisaka T. et al. Outcomes of reduction hepatectomy combined with postoperative multidisciplinary therapy for advanced hepatocellular carcinoma. *World J. Gastrointest. Surg.* 2021; 13(10): 1245–1257. DOI: 10.4240/wjgs.v13.i10.1245
3. Андреева И.В., Виноградов А.А., Телия В.Д., Симаков Р.Ю. Влияние пищевого нагрузочного теста на показатели микроциркуляции в печени крыс различного пола и возраста. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2022; 21(1): 71–77. DOI: 10.24884/1682-6655-2022-21-1-71-77
4. Храмых Т.П., Ермолаев П.А., Барская Л.О. Особенности регенерации оставшейся части печени крыс в ранние сроки после ее предельно допустимой резекции. *Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал).* 2018; 2(3): 9–13. DOI: 10.17116/operhirurg201820319
5. Барская Л.О., Ермолаев П.А., Храмых Т.П., Полуэктов В.Л. Способ резекции печени у мелких лабораторных животных. Патент РФ на изобретение № 2601160. Опубл. 27.10.2016.
6. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. М.: Издательство «Медицина»; 2005: 256.
7. Бархатов И.В. Оценка системы микроциркуляции крови методом лазерной доплеровской флоуметрии. *Клиническая медицина.* 2013; 11: 21–27.

REFERENCES

1. Chzhao A.V., Botiraliyev A.Sh., Stepanova Yu.A., Vishnevskiy V.A. Biliary complications of liver resections (causes, risk factors, prevention). *Vysokotekhnologicheskaya meditsina.* 2021; 8(3): 14–24. [In Russ.]. DOI: 10.52090/2542-1646_2021_8_3_14
2. Asahi Y., Kamiyama T., Kakisaka T. et al. Outcomes of reduction hepatectomy combined with postoperative multidisciplinary therapy for advanced hepatocellular carcinoma. *World J. Gastrointest. Surg.* 2021; 13(10): 1245–1257. DOI: 10.4240/wjgs.v13.i10.1245
3. Andreeva I.V., Vinogradov A.A., Telia V.D., Simakov R.Yu. Impact of food load test on microcirculation parameters in the liver of rats of different gender and age. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya.* 2022; 21(1): 71–77. [In Russ.]. DOI: 10.24884/1682-6655-2022-21-1-71-77
4. Khramykh T.P., Ermolaev P.A., Barskaya L.O. Features of regeneration of the rat remnant liver in the early periods after its maximum permissible resection. *Operativnaya khirurgiya i klinicheskaya anatomiya (Pirogovskii nauchnyi zhurnal).* 2018; 2(3): 9–13. [In Russ.]. DOI: 10.17116/operhirurg201820319
5. Barskaya L.O., Ermolaev P.A., Khramykh T.P., Poluectov V.L. The method of liver resection in small laboratory animals. Patent № 2601160. Pub. 27.10.2016. [In Russ.].
6. Krupatkin A.I., Sidorov V.V. Lazernaya dopplerovskaya floumetriya mikrotsirkulyatsii krovi. Moscow: Izdatel'stvo «Meditsina»; 2005: 256. [In Russ.].
7. Barkhatov I.V. Assessment of the microcirculation system by laser Doppler flowmetry. *Klinicheskaya meditsina.* 2013; 11: 21–27. [In Russ.].

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены правила обращения с животными в случаях их использования в работе.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that respect the rules of treatment of animals when they are used in the study.

Сведения об авторах

Леонов Сергей Дмитриевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУ «Научно-практический центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина» ФМБА России, e-mail: leonov-serg@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8024-4456>

Халепо Ольга Владиславовна – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: halepo71@mail.ru, ORCID: 0000-0003-1369-9896

Родин Антон Викторович – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий Молодежным научно-исследовательским центром, доцент кафедры общей хирургии с курсом хирургии ФДПО ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: doc82@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-9046-7429

Карасев Алексей Сергеевич – студент 6-го курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России

Сорокина Арина Алексеевна – студентка 5-го курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России

Панченков Дмитрий Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, советник директора – главный научный сотрудник ФГБУ «Государственный научный центр лазерной медицины им. О.К. Скобелкина» ФМБА России; заведующий кафедрой хирургии и хирургических технологий с лабораторией минимально инвазивной хирургии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России

Information about the authors

Sergey Leonov – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher at the Skobelkin Scientific and Practical Center for Laser Medicine FMBA of Russia, Moscow, Russia, e-mail: leonov-serg@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8024-4456>

Olga Khalepo – Dr. Sci. (Med.), Head of the Department of pathological physiology, Smolensk State Medical University, e-mail: halepo71@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1369-9896>

Anton Rodin – Dr. Sci. (Med.), Head of the Scientific Research Center for young scientists, associate professor at the department of general surgery, Smolensk State Medical University, e-mail: doc82@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9046-7429>

Alexey Karasev – 6th year student at the Faculty of medicine in Smolensk State Medical University

Arina Sorokina – 5th year student at the Faculty of medicine in Smolensk State Medical University

Dmitry Panchenkov – Dr. Sci. (Med.), Professor, Director Advisor and Chief Researcher in Skobelkin Scientific and Practical Center for Laser Medicine of FMBA, Moscow, Russia; Head of the Department of surgery and surgical technologies with the Laboratory of minimally invasive surgery in A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry; Subordinate to the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia