

О. С. Попов¹, С. В. Логвинов¹, Н. И. Лян¹, М. М. Ларионов¹, А. Н. Галян¹, В. Р. Латыпов¹, В. В. Удуг²

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ЭНДОВАЗАЛЬНОЙ АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ ОКОЛОЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ

O. S. Popov¹, S. V. Logvinov¹, N. I. Lyan¹, M. M. Larionov¹, A. N. Galyan¹, V. R. Latypov¹, V. V. Oudout²

THE EXPERIMENTAL MODEL OF PARATHYROID GLANDS ENDOVASCULAR AUTOTRANSPLANTATION

¹ГБОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития России, г. Томск²НИИ фармакологии СО РАМН, г. Томск

© Попов О. С., Логвинов С. В., Лян Н. И., Ларионов М. М., Галян А. Н., Латыпов В. Р., Удуг В. В.

С целью разработки в эксперименте методики эндовазальной аутоотрансплантации околощитовидных желез для профилактики послеоперационного гипопаратиреоза и на ее основе модель хирургического лечения первичного гиперпаратиреоза, обеспечивающую профилактику послеоперационного гипопаратиреоза, проводились эксперименты на 35 беспородных собаках обоего пола. Особое внимание уделялось изучению морфологии и уровней паратгормона и общего кальция. Проводилась паратиреоидэктомия со свободной гетеротопической околощитовидной железой, которую помещали внутрь венозного сосуда через продольный разрез стенки вены. Далее накладывали швы на стенку вены, затем ушивали рану. Установлено, что эндовазально трансплантированная ткань околощитовидной железы сохраняет свою морфологическую структуру и функциональную активность. Методика эндовазальной аутоотрансплантации околощитовидной железы предупреждает развитие послеоперационного гипопаратиреоза. Разработанная модель эндовазальной аутоотрансплантации околощитовидной железы с последующей программированной паратиреоидэктомией обеспечивает профилактику послеоперационного гипопаратиреоза и может быть применена в хирургическом лечении первичного гиперпаратиреоза.

Ключевые слова: гипопаратиреоз, первичный гиперпаратиреоз, околощитовидные железы, аутоотрансплантация, щитовидная железа.

The aim of this study was to develop method of parathyroid glands endovascular autotransplantation in postoperative hypoparathyroidism and the model of postoperative hypoparathyroidism prevention after surgical treatment of primary hyperparathyroidism in the experiment. METHODS: The experiments were performed on 35 mongrel dogs of both sexes. Special attention was paid to examination of morphology and levels of parathyroid hormone and total calcium. RESULTS: Firstly, we performed parathyroidectomy on the neck and performed free heterotopic parathyroid glands' autotransplantation. Then we placed parathyroid glands inside venous vessel through the longitudinal incision of the venous wall, inserted sutures on the damaged area of venous vessel sutured the wound. CONCLUSION: Endovascular autotransplantation of parathyroid glands tissue preserves its morphological structure and functional activity. Method of parathyroid glands' endovascular autotransplantation prevents postoperative hypoparathyroidism. The model of endovascular autotransplantation of parathyroid glands of postoperative hypoparathyroidism prevention may be used in the surgical treatment of primary hyperparathyroidism.

Key words: hypoparathyroidism, primary hyperparathyroidism, parathyroid glands, autotransplantation, thyroid gland.

УДК 616.447-089.843/.844-035-089.168.1-06-008.61/-008.64-039.74]-092.6

ВВЕДЕНИЕ

Возросший в последние годы интерес практических врачей к околощитовидным железам (ОЩЖ) объясняется прежде всего высокой частотой и разнообразием эндокринопатий этих органов.

Одной из актуальных проблем хирургической эндокринологии является проблема предупреждения послеоперационного гипопаратиреоза, встречающегося в 1–7 % случаев после операций на щитовидной железе.

Первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ) в развитых странах мира выходит на третье место среди

эндокринологических заболеваний, уступая лишь сахарному диабету и болезням щитовидной железы. Распространенность ПГПТ составляет 0,05–0,1 %. До настоящего времени дискутируется вопрос выбора объема операции при ПГПТ, морфологическим субстратом которого является гиперплазия ОЩЖ. В связи с тем, что предсказать функциональную активность оставленной или аутоотрансплантированной ткани ОЩЖ затруднительно, в ряде случаев остается проблема возникновения гипопаратиреоза после традиционно выполняемых операций при первичном гиперпаратиреозе, в том числе с применением того или иного варианта аутоотрансплантации околощитовидных желез [1–4].

Вышеизложенные данные стали мотивацией к разработке в эксперименте методики эндоваскулярной аутоотрансплантации случайно удаленных или лишенных кровоснабжения ОЩЖ с целью профилактики послеоперационного гипопаратиреоза (патент РФ № 2009105306 от 10.07.2010 г.) и ее возможного применения при хирургическом лечении первичного гиперпаратиреоза.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Разработать в эксперименте методику эндоваскулярной аутоотрансплантации ОЩЖ с целью профилактики послеоперационного гипопаратиреоза после операций на ЩЖ.

2. Разработать в эксперименте модель хирургического лечения ПГПТ, предупреждающую развитие гипопаратиреоза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для решения первой задачи эксперименты выполнены на 18 беспородных собаках обоего пола, массой 10–19 кг (первая группа животных).

Была выполнена субтотальная паратиреоидэктомия (резекция 2 верхних (наружных) околощитовидных желез) с одномоментной свободной гетеротопической аутоотрансплантацией околощитовидных желез в просвет большой подкожной вены задней конечности с последующей резекцией нижних полюсов щитовидной железы, содержащих нижние (внутренние) ОЩЖ.

С целью оценки результатов исследования проводились:

1. Морфологическое исследование фрагментов венозного сосуда, содержащего аутоотрансплантаты ОЩЖ, в различные сроки после проведения аутоотрансплантации. Фиксация

материала для гистологического исследования осуществлялась 12 % нейтральным формалином с последующей заливкой в парафин. Депарафинированные срезы толщиной 5–6 мкм окрашивались гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону.

2. Оценка функционального состояния аутоотрансплантатов ОЩЖ в различные сроки после аутоотрансплантации и после частичной программированной паратиреоидэктомии: определение показателей паратгормона (ПТГ) (радиоиммуннологическим методом), общего кальция сыворотки крови (с помощью автоматического анализатора).

Проводилась статистическая обработка полученных результатов. Данные представлены в виде среднего значения и ошибки достоверности (по Манну-Уитни), уровень статистической значимости $P < 0,05$.

Для решения второй задачи эксперименты выполнены на 17 беспородных собаках обоего пола, массой 10–19 кг (вторая группа животных).

Была выполнена тотальная паратиреоидэктомия с одномоментной свободной гетеротопической аутоотрансплантацией околощитовидных желез в просвет малой подкожной вены задней конечности с последующим программированным частичным уменьшением количества паратиреоидной ткани у исследуемого животного путем резекции участков вены, содержащих аутоотрансплантаты ОЩЖ.

С целью оценки результатов исследования проводились:

1. Морфологическое исследование фрагментов венозного сосуда, содержащего аутоотрансплантаты ОЩЖ, в различные сроки после проведения аутоотрансплантации. Фиксация материала для гистологического исследования осуществлялась 12 % нейтральным формалином с последующей заливкой в парафин. Депарафинированные срезы толщиной 5–6 мкм окрашивались гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону.

2. Оценка функционального состояния аутоотрансплантатов ОЩЖ в различные сроки после аутоотрансплантации и после частичной программируемой паратиреоидэктомии: определение показателей паратгормона (ПТГ) (радиоиммуннологическим методом), общего кальция сыворотки крови (с помощью автоматического анализатора).

Проводилась статистическая обработка полученных результатов. Данные представлены в виде среднего значения и ошибки достоверности (по Манну-Уитни), уровень статистической значимости $P < 0,05$.

Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первой группе животных под эндотрахеальным наркозом проводились 2 операции: вначале

выполняли забор (паратиреоидэктомию) наружных (верхних) ОЩЖ и помещали их в охлажденный до $+4^{\circ}\text{C}$ 0,9% раствор хлорида натрия (рис. 1, 2).

Так же в ходе первого этапа выполняли визуализацию и маркировку внутренних (нижних) ОЩЖ (рис. 3)

После этого выполняли вторую операцию — выделение на внутренней поверхности бедра основного ствола медиальной вены и ее ближайшего притока. Под устье притоковой вены подводили две лигатуры-держалки. С помощью

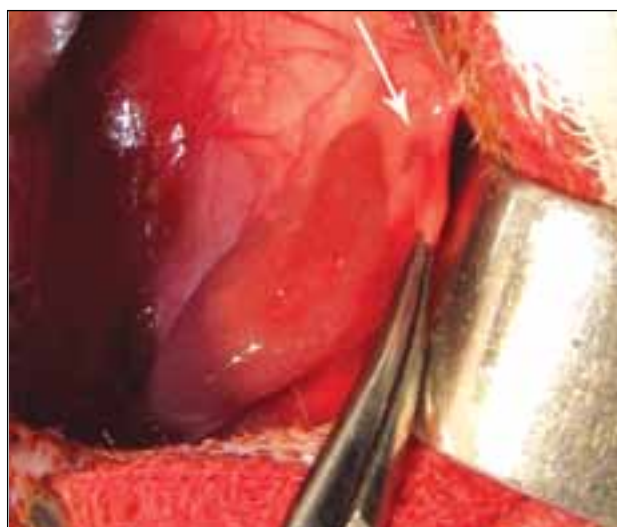


Рис. 1. Визуализация наружных (верхних) ОЩЖ

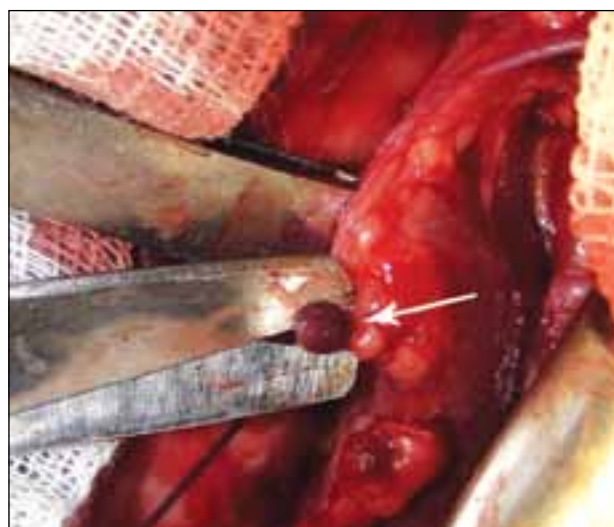


Рис. 2. Удаление наружных (верхних) ОЩЖ

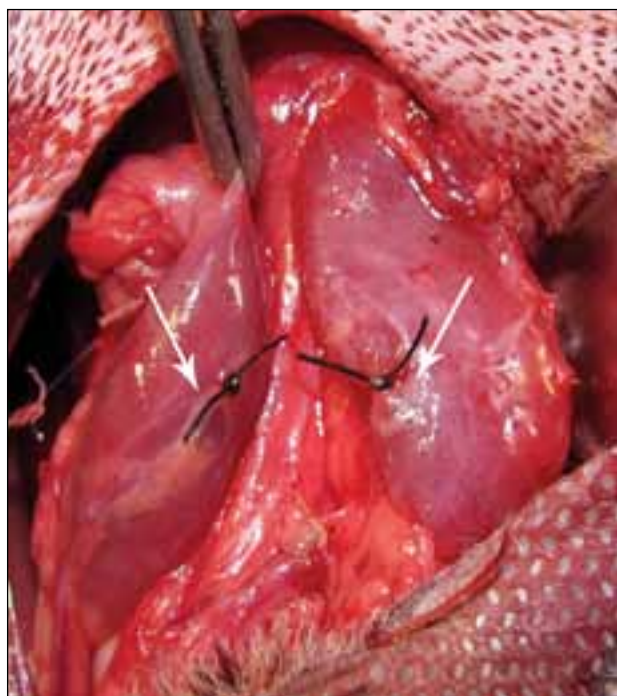


Рис. 3. Визуализация и маркировка внутренних (нижних) ОЩЖ

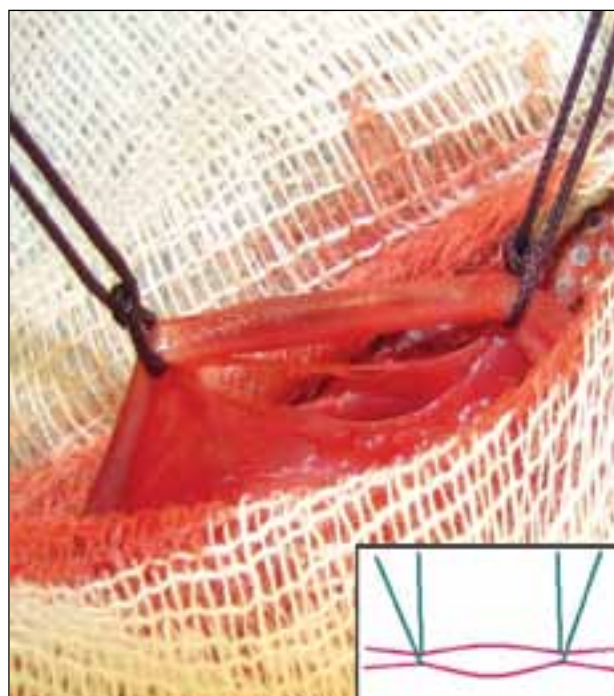


Рис. 4. Выделение притока большой подкожной вены

лигатур временно прекращали кровоток в выбранный сегменте притоковой вены (рис. 4).

Проводили вскрытие просвета вены путем продольного разреза длиной до 3 мм. Удаленные ОЩЖ рассекали острой бритвой на 2–3 фрагмента, прошивали нитью 5/0 на атравматичной игле и поочередно вводили в просвет притоковой вены, где фиксировали к интиме (рис. 5, 6).

Затем выполняли наложение сосудистых швов на получившееся «окно» в вене и восстанавливали кровоток (рис. 7).

Целью предлагаемого способа аутоотрансплантации ОЩЖ являлось сохранение их жизнеспособности и функциональной активности при случайном удалении или повреждении во время операций на ЩЖ. Эффективность предлагаемого способа обеспечивается функциональной активностью интимы венозной стенки и другими эффектами: в частности, происходит выработка вазоактивных факторов — эндотелина, ангиотензина



Рис. 5. Фрагмент ОЩЖ прошит нитью 5/0 на атравматичной игле



Рис. 6. Момент проведения фрагмента ОЩЖ в просвет вены

I, ангиотензина II и тромбоксана, осуществляющих гемостаз и формирование тромба. В ответ на это, по принципу обратной связи, в венозном сосуде в зоне трансплантации происходит выработка веществ, препятствующих коагуляции, способствующих фибринолизу простациклина и NO — естественных дезагрегантов, образование тканевого активатора плазминогена, тромбомодулина — белка, способного связывать тромбин и гепариноподобные гликозаминогликаны. Все это приводит к восстановлению кровотока в сосуде с имплантированными фрагментами ОЩЖ. Существенную роль в формировании кровотока в трансплантате играет система vasa vasorum. Транспорт гормонов, кислорода, питательных и других биологически активных веществ, в том числе и полипотентных мезенхимальных стромальных клеток с кровотоком обеспечивают условия для сохранения жизнеспособности и функциональной активности аутоотрансплантата ОЩЖ. Вышеизложенное было подтверждено гистологическим исследованием аутоотрансплантатов и показателями общего кальция и паратгормона (ПТГ) в крови экспериментальных животных.

Клиническим доказательством жизнеспособности и функциональной достаточности аутоотрансплантатов служило проведение через 1 месяц второго этапа исследования — удаления оставшихся нижних (внутренних) ОЩЖ путем резекции нижней трети долей ЩЖ, в которых и локализуются у собак эти ОЩЖ (рис. 8).

При этом клинических проявлений гипопаратиреоза не отмечено.

На сохранившуюся функциональную активность эндовазально аутоотрансплантированных фрагментов ОЩЖ указывают результаты исследования уровня ПТГ. При допустимой норме ПТГ 8,6 пг/мл в наших исследованиях до

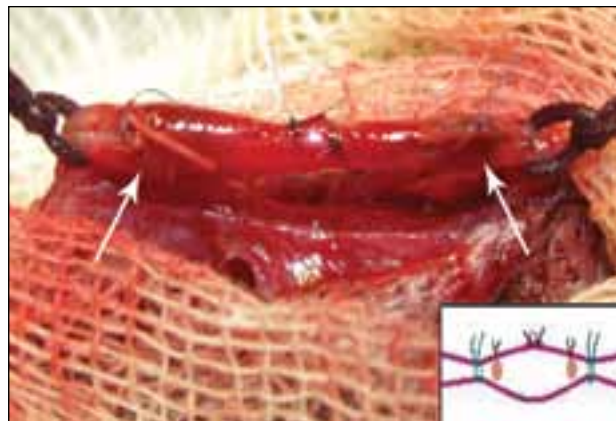


Рис. 7. Участок вены с аутоотрансплантатами ОЩЖ



Рис. 8. Вид нижнего полюса ЩЖ спустя 1 месяц после маркировки места расположения нижних (внутренних) ОЩЖ

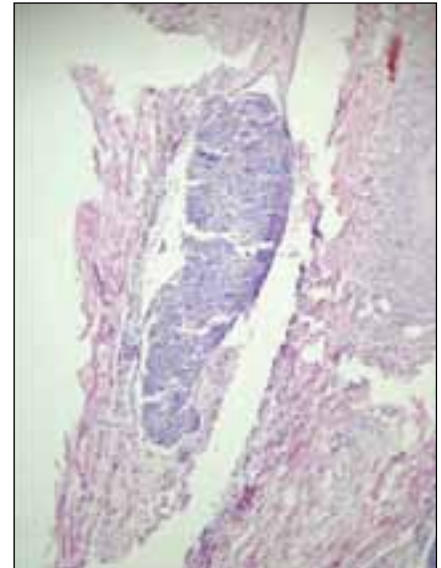


Рис. 9. Фрагмент волокнистой соединительной ткани с очагом, содержащим структуры ОЩЖ

проведения аутотрансплантации уровень ПТГ соответствовал $8,0 \pm 0,4$ пг/мл, через 1 месяц после эндовазальной аутотрансплантации — $7,3 \pm 0,6$ пг/мл, после проведения второго этапа операции ПТГ составлял $5,8 \pm 0,6$ пг/мл.

Концентрация общего кальция в крови до аутотрансплантации составила $2,7 \pm 0,3$ ммоль/л, через 1 месяц после аутотрансплантации — $2,3 \pm 0,3$ ммоль/л, а после второго этапа исследований — $2,0 \pm 0,1$ ммоль/л.

Гистологическое исследование материала через 1 месяц после аутотрансплантации установило во фрагментах волокнистой соединительной ткани наличие очагов различных размеров со структурами ОЩЖ (рис. 9).

На второй группе животных, взяв за основу методику эндовазальной аутотрансплантации ОЩЖ, в эксперименте разработана модель хирургического лечения ПГПТ, включающая в себя несколько этапов. На первом этапе у экспериментальных животных проводили тотальную паратиреоидэктомию с одномоментной свободной аутотрансплантацией ОЩЖ в просвет притоков малой подкожной вены обеих задних конечностей. Через 4, 5, 6 недель выполняли следующие этапы исследования: программированную частичную паратиреоидэктомию методом удаления фрагментов вены с расположенными в них аутотрансплантатами ОЩЖ. Ориентиром для облегчения интраоперационной визуализации фрагмента нужного притока малой подкожной вены, содержащего аутотрансплантаты ОЩЖ, служили лигатуры из цветного нерассасывающегося шовного материала, наложенные при проведении первого этапа. Выполняли перевязку и удаление участка притока вены с расположенными в нем аутотрансплантатированными фрагментами ОЩЖ. Гетеротопическая эндовазальная

аутотрансплантация ОЩЖ дает возможность доступной, дозированной (программированной) коррекции ПГПТ путем удаления необходимой части аутотрансплантатов, предупреждая развитие тяжелых форм гипопаратиреоза.

Если через 4 недели после трансплантации уровни ПТГ и кальция были близки к нижним границам нормы (ПТГ — $8,1 \pm 0,4$ пг/мл, Са — $2,1 \pm 0,1$ ммоль/л), то после удаления одного фрагмента уровни ПТГ и Са составляли: ПТГ — $7,4 \pm 0,4$ пг/мл, Са — $2,0 \pm 0,1$ ммоль/л, после удаления второго фрагмента: ПТГ — $6,8 \pm 0,2$ пг/мл, Са — $1,9 \pm 0,1$ ммоль/л, после удаления третьего: ПТГ — $5,9 \pm 0,4$ пг/мл, Са — $1,7 \pm 0,2$ ммоль/л.

Предлагаемый способ показал эффективность в сохранении жизнеспособности и функциональной активности реплантационных ОЩЖ, а также возможность программированного уменьшения количества функционально активной аутотрансплантационной ткани ОЩЖ, что позволит применить данную методику при лечении ПГПТ и предупредит развитие послеоперационного гипопаратиреоза.

На методику получено положительное решение на выдачу патента.

ВЫВОДЫ

1. Разработана методика эндовазальной ауто-трансплантации ОЩЖ, предупреждающая развитие

послеоперационного гипопаратиреоза, которую можно применить при случайном удалении или травме ОЩЖ во время проведения операции на ЩЖ.

2. Разработана модель эндовазальной аутоотрансплантации ОЩЖ с последующей

программированной паратиреоидэктомией, которая может быть применена в хирургическом лечении первичного гиперпаратиреоза и позволяет обеспечить профилактику послеоперационного гипопаратиреоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Методы визуализации околощитовидных желез и паратиреоидная хирургия: Руководство для врачей / Под ред. А. П. Калинина. — М.: Видар-М, 2010. — 311 с.
2. Романчишен А. Ф. Хирургия щитовидной и околощитовидной желез. — СПб.: Вести, 2009. — 647 с.
3. Хирургическая эндокринология / Под ред. А. П. Калинина, М. А. Майстренко, П. С. Ветшева. — СПб.: Питер, 2004. — 960 с.
4. Черенько С. М. Первичный гиперпаратиреоз: основы патогенеза, диагностики и хирургического лечения: Монография. — Киев, 2011. — 148 с.
5. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. — 2008. — № 1. — С. 23–40.

Поступила в редакцию 03.10.2011

Утверждена к печати 11.11.2011

Авторы:

Попов О. С. — д-р мед. наук; профессор кафедры общей хирургии, заведующий клиникой общей хирургии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России.

Логвинов С. В. — профессор, д-р мед. наук, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России.

Лян Н. И. — ординатор клиники общей хирургии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России.

Ларионов М. М. — очный аспирант, кафедра общей хирургии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России.

Галян А. Н. — канд. мед. наук., ассистент кафедры общей хирургии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России.

Латыпов В. Р. — профессор, д-р мед. наук, заведующий отделением урологии клиники общей хирургии, ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития России.

Удут В. В. — профессор, д-р мед. наук, заместитель директора по науке и клинической работе НИИ Фармакологии СО РАМН.

Контакты

Попов Олег Сергеевич

тел.: 8 (3822) 53-11-25

Ларионов Михаил Михайлович

тел.: 8 (3822) 53-31-82

e-mail: lmm902@yandex.ru