

УДК 616.34-005.4-036.1

©І.А. Даниленко¹, М.Г. Кононенко¹, О.П. Манжос², Р.А. Москаленко¹, Л.Г. Кащенко¹
 Медичний інститут Сумського державного університету¹
 Кафедра загальної хімії Сумського державного університету²

ОПТИМІЗАЦІЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ КИШКОВОЇ СТІНКИ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ГОСТРОГО ПОРУШЕННЯ МЕЗЕНТЕРІАЛЬНОГО КРОВООБІГУ

ОПТИМІЗАЦІЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ КИШКОВОЇ СТІНКИ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ГОСТРОГО ПОРУШЕННЯ МЕЗЕНТЕРІАЛЬНОГО КРОВООБІГУ - Значення редокс-потенціалу репрезентує перебіг окисно-відновних процесів у клітинах кишкової стінки. В експерименті знайдено кореляцію некробіотичних змін у стінці кишки з різницею редокс-потенціалів її слизового та серозного шарів. Рекомендовано використання редоксметрії в якості адекватного методу визначення життєздатності кишкової стінки.

ОПТИМИЗАЦИЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ СТЕНКИ КИШКИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ - Величина редокс-потенциала характеризует состояние окислительно-восстановительных процессов в клетках кишечной стенки. Результаты эксперимента свидетельствуют о корреляции некробиотических изменений стенки кишки с разностью редокс-потенциалов её слизистого и серозного слоев. Рекомендовано использование редокс-метрии в качестве адекватного метода определения жизнеспособности кишечной стенки.

OPTIMIZATION OF DEFINITION OF VIABILITY OF INTESTINAL WALL IN EXPERIMENTAL MODEL OF ACUTE DISORDERS OF MESENTERICAL CIRCULATION - The value of the redox-potential characterises a condition of oxidation-reduction processes in cells of an intestinal wall. The correlation between necrobiotic changes in intestinal wall and a difference of redox-potentials of its mucous and serous layers are discovered in experiment. Use the redoxmetria as an adequate method of definition of viability of an intestinal wall is recommended.

Ключові слова: життєздатність кишки, редоксметрія, гостре порушення мезентеріального кровообігу.

Ключевые слова: жизнеспособность кишки, редоксметрия, острое нарушение мезентериального кровообращения.

Key words: viability of intestine, redoxmetria, acute disorder of mesenterical circulation.

ВСТУП Оцінка життєздатності стінки кишки є однією з невирішених проблем абдомінальної хірургії [1]. Найчастіше використовують суб'єктивні методи клінічної оцінки стану кишкової стінки за кольором, блиском очеревини, пульсацією судин брижі, перистальтикою. Об'єктивізація діагностики за допомогою доплерівської флоуметрії, реовазографії, імпедансометрії, пульсоксиметрії, термометрії, введення в судинне русло досліджуваної ділянки різних за механізмом дії вазоактивних та контрастних речовин дозволяє покращити точність визначення життєздатних ділянок [3 - 6]. Та, незважаючи на безліч різноманітних методик, важко виділити універсальний спосіб з'ясування життєздатності кишки, оскільки кожен з них відображає якийсь один параметр життєдіяльності органа і не гарантує адекватності інших.

При гострих порушеннях мезентеріального кровообігу (ГПМК) першочерговим є точне визначення межі життєздатності тонкої кишки з поширенням чи субтотальним її ураженням. З метою зменшення проявів післярезекційної ентеральної недостатності (синдром

короткої кишки) важливо залишити якомога більшу площу функціонуючої слизової органа.

Методи, що базуються на вивченні стану мікроциркуляції, відмінно зарекомендували себе за наявності відносно чіткої візуальної межі між життєздатною та некротизованою ділянками. Але при ГПМК на стадії інфаркту ділянки сумнівної життєздатності охоплюють значну площу функціональної поверхні кишки і головним питанням, що турбує хірурга, є стан слизової оболонки. В деяких пацієнтів серозна оболонка кишки здається неушкодженою, але слизова оболонка та підслизова основа вже некротично змінені. Це потрібно враховувати при визначенні межі резекції [2].

Об'єктивну інформацію про зміни окисно-відновних процесів у клітинах дозволяє отримати один із методів оцінки стану біологічних процесів на молекулярному рівні - редокс-метрія. Вимірювання змін редокс-потенціалу тонкої кишки визнається найточнішим об'єктивним методом, бо репрезентує стан, перш за все, дихальних ферментних систем, що забезпечують клітини енергією. Аналіз сучасних публікацій показує невирішеність кількісної оцінки та інтерпретації отриманих результатів, що зумовлює актуальність клініко-експериментального дослідження.

Метою роботи стало підвищення точності визначення меж некрозу кишкової стінки при ГПМК за допомогою редоксметрії.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Проведено експериментальне дослідження на 36 білих статевозрілих щурах лінії "Вістар" масою 200-230 г. Під час експерименту лабораторних тварин утримували відповідно до правил, прийнятих Європейською конвенцією із захисту хребетних тварин, яких використовували для експерименту і наукових завдань (Страсбург, 1986 р.), "Загальних етичних правил експериментів над тваринами", затверджених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Експеримент проводили в весняно-літній період. Для дослідів відбирали мінімально припустиму для статистичної обробки і одержання достовірних результатів загальноприйняту кількість тварин (6 у кожній групі), що згруповані у 6 груп.

Для початкового знечулення використовували діетиловий ефір, надалі - кетамін 50 мг/кг внутрішньом'язово. Після лапаротомії моделювали ГПМК перев'язкою артеріальних судин, що живлять тонку кишку. Середину рану зашивали. Експозиції декомпенсованого ГПМК в різних групах складали відповідно 2, 3, 4, 5, та 6 год. У контрольній групі проводили лапаротомії без моделювання ГПМК. Після повторного введення у наркоз проводили дослідження редокс-потенціалу стінки кишки.

Для визначення редокс-потенціалу стінки кишки нами запропонований "Спосіб визначення окисно-

відновного потенціалу стінки кишки" (Патент України на корисну модель U 2010 03515, МПК 6 01 N33/84, публ. 26. 03. 2010). Згідно з способом використовують скляний редоксметричний та хлорсрібний порівняльний електроди та рН-метр з функцією потенціометрії. Також ми застосовували розроблений "Спосіб оцінки життєздатності кишки та оптимальних меж резекції при гострих порушеннях мезентеріального кровообігу" (Патент України на корисну модель U 2010 03566, МПК G 01 N33/48, публ. 29. 03. 2010).

Методика: робочу частину вимірювального електроду прикладали до кожної обраної ділянки кишки, чим і здійснювали реєстрацію окисно-відновного потенціалу цього сегмента. Редокс-потенціал серозної оболонки визначали прикладанням робочої частини вимірювального електроду до протибрижового краю кишки сумнівної життєздатності. Час, необхідний для стабілізації результату кожного вимірювання, складає 20 с. Надалі в цьому місці виконували ентеротомію і зануреною в просвіт кишки робочою частиною вимірювального електроду реєстрували редокс-потенціал слизової оболонки. Додатково для попередження пасивації (забруднення кров'ю, ексудатом, вмістом просвіту кишки) після кожного вимірювання робочу поверхню вимірювального електроду обробляли стерильною серветкою з 70 % спиртом. Після цього визначали різницю редокс-потенціалів слизової та серозної оболонок цього сегмента кишки.

Відбір ділянок тонкої кишки для подальшого дослідження проводили за різниці редокс-потенціалів слизової та серозної оболонок в 20, 25, 30 та 40 мВ. Тварин виводили з експерименту передозуванням ефірного наркозу. Препарати фарбували гематоксилін-еозином і вивчали орган на світлооптичному рівні. Цифрові знімки гістологічних мікропрепаратів отримували за допомогою цифрової системи виводу зображення "SEO Scan ICX 285 AK-FIEE-1394". Аналіз даних проводили за допомогою морфометричної програми "SEO Image Lab 2.0".

Кількісні результати морфометричного дослідження кишки обробляли методами варіаційної статистики за допомогою пакета статистичного аналізу Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Після повторного введення в наркоз вимірювали різницю редокс-потенціалів серозної оболонки здорової та некротизованої ділянок кишки, що складала $E_h = 10-13$ мВ і практично не залежали від тривалості ішемії. Подібні незначні коливання редокс-потенціалу серозної оболонки на значній по довжині ділянці кишки неприйнятні в якості критерія оцінки життєздатності кишки на моделі ГПМК.

Макроскопічно залежно від часу експозиції (2-6 год) виявляли набряк тонкої кишки різного ступеня вираження - від дрібних крововиливів на серозній оболонці в перші години до ділянок багряного кольору зі стоншенням стінки кишки за типом "папіросного паперу" в кінці спостереження.

Ділянку тонкої кишки вважали життєздатною, коли різниця редокс-потенціалів слизової та серозної оболонок тонкої кишки була 40 мВ. При цьому, що підтверджено гістологічно, морфологічні зміни лише мінімальні або відсутні.

Мікроскопічні зміни ділянок із різницею редокс-потенціалів 30 мВ. Спостерігався набряк в усіх шарах стінки кишки. За тривалості ішемії 2-3 год мікроросинки змінювали конформацію - збільшувалися за рахунок набряку у висоту та ширину, виявлені їх поодинокі розриви, десквамація епітелію, у інтерстиційному просторі кишкових ворсинок з'являлася незначна запальна нейтрофільна інфільтрація. За тривалості ішемії 4-6 год частина кишкових ворсинок знаходилась у стані важкого набряку і часткової деструкції із втратою апікальної частини, у більшості кишкових ворсинок виявлялися невеликі надриви, осередки злуцнення призматичного кишкового епітелію. Незалежно від терміну ішемії в усіх шарах стінки тонкої кишки спостерігалися дисциркуляторні зміни у вигляді різкого розширення та повнокров'я гемокапілярів, артеріол та венул, периваскулярного набряку, утворення складів у просвіті судин, помірна кількість крововиливів. Між підслизовим та м'язовим шарами були поодинокі розриви у вигляді оптичних пустот. Товщина м'язового шару зменшилася, спостерігали деяке його розволокнення із незначною запальною інфільтрацією нейтрофілами та лімфоцитами. У серозній оболонці виявляли повнокровні судини, крововиливи, явища десквамації мезотелію.

Мікроскопічні зміни ділянок із різницею редокс-потенціалів 25 мВ. Гістологічне дослідження тонкої кишки показало посилення дистрофічних змін епітелію слизової оболонки та підслизової основи. Різкий набряк інтерстицію кишкових ворсинок призвів до утворення їх "балонного" розширення з утворенням внутрішніх пустот. Збільшилася кількість фрагментованих та повністю зруйнованих кишкових ворсинок, у збережених - спостерігалось повнокров'я гемокапілярів, крововиливи, різкий лімфостаз. Епітеліоцити кишкових крипт з дистрофічними змінами, набряком, стінки кишкових крипт з розривами, незначною запальною інфільтрацією. Судини мікроциркуляторного русла слизової оболонки, підслизової основи та м'язового шару залишалися різко повнокровними. Ендотеліоцити гемокапілярів з дистрофічними змінами, їх ядра виступали у просвіт у вигляді часток, цілісність судин мікроциркуляторного русла була порушена, збільшилася площа крововиливів. Вогнищево спостерігали утворення просторів між м'язовим шаром і підслизовою основою з відторгненням нежиттєздатних фрагментів останньої. Посилилася нейтро-лімфоцитарна інфільтрація, знайдено вогнища некрозу з повною дисконтактацією шарів кишки. Серозна оболонка містила більше крововиливів та десквамованих мезотеліоцитів. При ішемії 5-6 год ступінь некротичних змін більша.

Мікроскопічні зміни ділянок із різницею редокс-потенціалів 20 мВ. При гістологічному дослідженні тонкої кишки відмічали прогресування дистрофічних змін усіх компонентів органа з виникненням некрозу та некробіозу. Більшість кишкових ворсинок зруйновані, інші з ознаками важкого набряку, фрагментовані, з ділянками злуцнення призматичного кишкового епітелію, виразна запальна лейко-лімфоцитарна інфільтрація з переважанням нейтрофілів. У інтерстиції кишкових ворсинок, які збереглися, явища набряку набули значно виражені - утворилися "балонні" ворсинки, які складаються з самої оболонки стовпчастих кишкових епітеліоцитів. Епітелій кишкових крипт

заснав десквамативних змін, став ще більш сприйнятливим до гематоксиліну; кишкові крипти заповнилися клітинним детритом, геморагічним ексудатом. Слизова оболонка деяких ділянок некротизована та відділилася у просвіт кишки. Судини підслизової основи та м'язового шару різко розширені, з явищами десквамації ендотелію, периваскулярний простір з активною ексудацією еритроцитів, нейтрофілів, лімфоцитів та інших формених елементів. Численні крововиливи в усіх оболонках тонкої кишки спричинили її інфарцювання, імбібіцію кров'ю. Простори між м'язовим шаром і слизовою оболонкою значно розширені, великі ділянки некротизованої слизової оболонки відшаровані. У м'язовому шарі виявили запальну змішаноклітинну інфільтрацію, явища розволокнення, оптичні пустоти між циркулярним та поздовжнім шарами, дисциркуляторні зміни. У серозній оболонці спостерігали значні десквамативні зміни мезотелію.

ВИСНОВКИ 1. Зміни редокс-потенціалу серозної оболонки не можуть бути адекватним критерієм визначення життєздатності кишки.

2. Знайдено кореляцію між морфологічними змінами тонкої кишки на моделі ГПМК у щурів та різницею редокс-потенціалів слизової та серозної оболонок кишки.

3. Морфологічні зміни в ділянках кишки з різницею редокс-потенціалів слизової та серозної оболонок в 40, 30, 25 та 20 мВ подібні в різних групах і не залежали від терміну ішемії.

4. Різниця редокс-потенціалів слизової та серозної оболонок тонкої кишки щурів у 40 мВ свідчила про її життєздатність, різниця у 30 мВ та менше - про незворотні некробіотичні зміни в стінці кишки.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ. Отримані результати дозволяють запропонувати редокс-метричне визначення межі життєздатності кишки у людини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеев О.В. Оцінка життєздатності кишечника при гострій кишковій непрохідності, защемленій грижі, травмї живота, мезентеріальному тромбозі та емболії / О.В. Алексеев // Шпитальна хірургія. - 1999. - № 1. - С. 127-130.
2. Давыдов Ю.А. Инфаркт кишечника и хроническая мезентериальная ишемия / Ю.А. Давыдов. - М.: Медицина, 1997. - 205 с.
3. Пат. 11881 У Україна, МПК(2006) А 61 В 17/00. Спосіб визначення межі життєздатності кишки / С.М. Антонюк, І.Б. Андрієнко, В.Б. Ахрамеев та ін.; заявник та власник патенту Донецький державний медичний університет ім. М. Горького. - № U200506524; заявл. 04.07.2005; публ. 16.01.2006, Бюл. № 1, 2006 р.
4. Пат. 624378 А Україна, МПК⁷ А 61 В 10/00. Спосіб виявлення нежиттєздатних ділянок органів черевної порожнини / В.В. Бойко, І.А. Криворучко, І.А. Тарабан, Т.Л. Гафт; заявник та власник патенту Інститут загальної і невідкладної хірургії АМН України. - № 20030325550; заявл. 25.05.2003; публ. 15.12.2003, Бюл. № 12, 2003 р.
5. Пат. 21666 У Україна, МПК(2006) А 61 В 17/22, А 61 В 1/00. Спосіб визначення нежиттєздатності кишкової стінки / В.М. Короткий, А.І. Мойсеєнко, С.О. Бугирін; заявник та власник патенту Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця. - № и200611901; заявл. 13.11.2006; публ. 15.03.2007, Бюл. № 3, 2007 р.
6. Пат. 3616 У Україна, МПК⁷ А 61 В 17/00. Спосіб інтраопераційної діагностики межі життєздатності кишки при кишковій непрохідності / О.В. Лігоненко, Р.П. Іванов, О.О. Лігоненко; заявник та власник патенту О.В. Лігоненко - № 2004010004; заявл. 08.01.2004; публ. 15.12.2004, Бюл. № 12, 2004 р.

Отримано 25.06.10