

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ



УДК 616.341–007.272–092.4–036.8

ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КИШКИ НА МОДЕЛИ СТРАНГУЛЯЦИОННОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА НА ОСНОВАНИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ

Ю. В. Иванова, В. В. Бойко, И. А. Криворучко, Е. В. Мушенко, В. К. Иванов, А. М. Стадник, С. А. Андреещев

Институт общей и неотложной хирургии имени В. Т. Зайцева НАМН Украины, г. Харьков, Харьковский национальный медицинский университет, Институт радиофизики и электроники НАН Украины, г. Харьков, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика МЗ Украины, г. Киев

ESTIMATION OF INTESTINAL VIABILITY ON A SIMULATION MODEL OF A SMALL INTESTINAL STRANGULATION ILEUS, BASING ON DETERMINATION OF DIELECTRIC PARAMETERS

Yu. V. Ivanova, V. V. Boyko, I. A. Krivoruchko, E. V. Mushenko, V. K. Ivanov, A. M. Stadnyk, S. A. Andreyeshchev

Одной из основных проблем в хирургическом лечении СНК является оценка жизнеспособности кишечника — один из важных факторов при принятии решения о необходимости резекции органа.

Интраоперационно жизнеспособность ущемленной кишки оценивают на основании анализа макроскопических параметров: окраски стенки кишки, пульсации периферических сосудов, возникновения кровотока из резецированного края кишки. Однако эти критерии не объективны и ненадежны [1].

Для оценки жизнеспособности ишемизированной кишки после реперфузии применяют различные методы: определяют клиренс газобразного водорода [2], парциальное давление кислорода в тканях [3], рН тканей и pCO_2 тканей [4], проводят тест с флуоресцеином [5], ультразвуковую доплерографию [6], лазерную доплерографию [7]. Однако ни один из этих методов не используют в повседневной клинической практике, поскольку они являются инвазивными, либо не обеспечивают точную оценку состояния тканей, либо недостаточно объек-

Реферат

Взаимосвязь между диэлектрическими параметрами и уровнем АТФ до и во время ишемии, а также показателями выживаемости после устранения странгуляции оценена на модели странгуляционной непроходимости кишечника (СНК) у крыс. Полученные данные позволяют предположить, что параметр $\text{tg } \delta m$ можно использовать в качестве эффективного неинвазивного критерия диагностики в реальном времени для оценки состояния стенки кишечника при странгуляции. Резекция ущемленной кишки без устранения странгуляции необходима при $\text{tg } \delta m$ менее 2,20, при $\text{tg } \delta m$ более 2,36 показано устранение ущемления, поскольку есть возможность восстановления функции кишки после ишемически—реперфузионного повреждения. Тактика лечения при промежуточных значениях $\text{tg } \delta m$ не определена, однако его измерение до реперфузии может помочь в оценке жизнеспособности тонкой кишки и выборе хирургической тактики при ее ишемии.

Ключевые слова: странгуляционная непроходимость кишечника; жизнеспособность кишки; ишемия/реперфузия; диэлектрические характеристики; эксперимент.

Abstract

Interrelationship between dielectric parameters and level of ATPH before and during ischemia, as well as with indices of survival after elimination of strangulation, was estimated on a simulation model of strangulation ileus in rats. The data obtained permit to suppose, that parameter $\text{tg } \delta m$ may be used as effective noninvasive criterion of diagnosis in real time for estimation of the intestinal wall state in strangulation. Resection of the infringed intestine without elimination of strangulation is necessary in $\text{tg } \delta m$ less than 2.20, in $\text{tg } \delta m$ more than 2.36 the elimination of infringement is indicated, because there exist possibility to restore intestinal function after ischemic—reperfusion injury. Tactics of treatment in intermediate meanings of $\text{tg } \delta m$ is not determined, but its measurement before reperfusion may help in estimation of a small intestine viability and choice of surgical tactics in its ischemia.

Key words: strangulation ileus; intestinal viability; ischemia/reperfusion; dielectric characteristics; experiment.

тивны. Повреждение стенки кишки — 10]. Это свидетельствует о том, что оценка состояния стенки кишки происходит не только во время ишемии, но и после реперфузии [8 после реперфузии более точная и

надежная, чем во время ишемии. Тем не менее, дисфункция органа после ишемии/реперфузии, возникающая после устранения непроходимости, неизбежна [11, 12]. Если адекватно оценить состояние кишечника во время ишемии, дисфункции органа, причиной которой является реперфузия, можно избежать путем резекции ишемизированного сегмента кишки. В экспериментальных исследованиях на модели мезентериальной ишемии путем перевязки верхней брыжеечной артерии установлено, что результаты гистологических исследований препаратов не позволяют количественно и объективно оценить тяжесть повреждения и жизнеспособность кишки до реперфузии [13]. Кроме того, гистологические и цитологические методы непригодны из-за их инвазивности, а также затраты времени, необходимого для исследования [10]. Таким образом, в клинической практике при лечении СНК целесообразно оценивать жизнеспособность кишки до реперфузии.

Энергетический метаболизм аденозинтрифосфата (АТФ) является одним из надежных параметров, подтверждающих жизнеспособность органов при ишемии/реперфузии, в частности, почки [14], сердца [15], печени [16]. Уровень АТФ в ткани может быть использован в качестве параметра оценки жизнеспособности тонкокишечного трансплантата [17]. Кроме того, при моделировании мезентериальной ишемии путем окклюзии верхней брыжеечной артерии кишка была нежизнеспособной, при этом уровень АТФ снижался менее 20% от контрольного [13]. Таким образом, уровень АТФ стенки кишки может быть использован для оценки ее жизнеспособности. Вместе с тем, оценка уровня АТФ является инвазивной процедурой и требует затрат времени, поэтому метод не использовали в этом исследовании.

Многочисленные исследования посвящены изучению изменений электрических свойств тканей при отеке легких [18], в диагностике опухолей [19], для измерения сердечного выброса [20]. Электрические

свойства тканей используют для оценки жизнеспособности органов, подвергшихся ишемии [21 — 26]. При воздействии электрического поля переменного тока биологические ткани генерируют диэлектрические колебания. При этом β -колебания связаны с эффектом изменения мембран, в том числе клеточных, ядерных и митохондриальных, это эффект Максвелла—Вагнера, специфичный для каждой ткани [27, 28]. Степень β -колебаний количественно выражают с помощью параметра $\text{tg } \delta$ [29]. Пиковое значение β -колебаний в пределах 1 — 10 МГц используют для оценки жизнеспособности органа до реперфузии [22, 23]. В проведенном эксперименте пиковое значение β -колебаний тонкого кишечника крыс наблюдали в диапазоне 10 МГц.

Изменения диэлектрических параметров тканей коррелируют с прогрессированием ишемического повреждения [21 — 26], поэтому их используют для оценки жизнеспособности органов. Полученные данные соотносили с выраженностью гистологических [22 — 24] и физиологических [21, 25, 26] изменений. Исследование проведено в целях оценки жизнеспособности стенки кишки до реперфузии.

С другой стороны, электрические свойства биологических веществ, измеренные в реальном времени, отражают различия и изменения структуры тканей, их химический состав [21 — 28]. Если при измерении электрических свойств тканей можно оценить состояние кишечника при ишемии, следовательно, его можно использовать в качестве эффективного метода диагностики при ущемлении кишечника.

Целью исследования была оценка соотношения между диэлектрическими параметрами и уровнем АТФ до и во время ишемии, а также показателями выживаемости экспериментальных животных после устранения СНК.

Исследование выполнено на 73 белых крысах—самцах линии Wistar массой тела 200 — 350 г. Эксперименты на крысах проведены с соблюдением международных прин-

ципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которых используют для опытов и других научных целей (Страсбург, 1985), "Общеэтических принципов экспериментов на животных", одобренных Первым национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001) и закона Украины "О защите животных от жестокого обращения" от 21.02.06 № 3477. Крыс оперировали в асептических условиях под наркозом тиопентал—натрием (15 мг/100 г массы тела внутримышечно).

Синдром ишемии/реперфузии моделировали путем наложения катетера Фогарти на брыжейку тонкой кишки с дозированным пережатием сосудов: дистальные 5 см подвздошной кишки вместе с брыжейкой и, соответственно, ее сосудами ущемляли с помощью лигатуры и катетера Фогарти; кровоток в ущемленном сегменте прекращали путем раздувания баллона в течение 30, 45, 60 и 120 мин, реперфузия достигалась путем сдувания баллона. Реперфузия подтверждена изменением окраски стенки кишки и появлением видимой пульсации сосудов брыжейки. Внутривенную температуру поддерживали на уровне $(36,5 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, температуру поверхности тонкой кишки — $(35,5 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

Уровень АТФ в стенке тонкой кишки определяли хроматографическим методом [30].

Диэлектрические свойства тонкой кишки изучали методом двух электродов с помощью коаксиального зонда, который вводили так, чтобы исключить попадание воздуха между кишкой и поверхностью зонда и из просвета кишки, в последующем сохраняли достигнутый контакт между зондом и кишкой. Брюшную полость временно закрывали. Осуществляли компьютерное автоматическое сканирование, данные записывали с помощью анализатора импеданса. Проводимость (G) и емкость (C) измеряли в диапазоне частот от 10 кГц до 100 МГц (42 баллов). Путем измерения G и C рассчитывали тангенс угла потерь ($\text{tg } \delta$) [29], а также его пиковое значение в

диапазоне частот 10 — 100 МГц, который выражался как $tg \delta m$.

Блок 1. Изменения $tg \delta m$. Для оценки фактора теплового ишемического повреждения на основании $tg \delta m$ животные распределены на две группы: у 7 (основная группа) моделировали ишемию, у 6 — нет (контроль).

Блок 2. Определение взаимосвязи между $tg \delta m$ и уровнем АТФ в тонкой кишке. Животные распределены на 5 подгрупп: подгруппа 1 — без ишемии; подгруппа 2 — ишемия в течение 30 мин; подгруппа 3 — ишемия в течение 45 мин; подгруппа 4 — ишемия в течение 60 мин; подгруппа 5 — ишемия в течение 120 мин. В каждой подгруппе было по 6 крыс. В конце каждого периода ишемии измеряли диэлектрические параметры, а также забирали ткани для определения уровня АТФ.

Блок 3. Определение взаимосвязи между $tg \delta m$ и показателями выживаемости крыс после устранения ущемления. Длительность ущемления от 30 до 120 мин. У 29 животных после измерения диэлектрических параметров осуществляли дестрангуляцию, затем удаляли коаксиальный зонд и ущемляющую лигатуру, брюшную полость зашивали наглухо. Крыс кормили и поили без ограничения в последующие 7 сут. Животные распределены на две подгруппы: подгруппа А — животные, выжившие в течение 7 сут, которых затем выводили из эксперимента; подгруппа В — животные, которые умерли в течение 7 сут. Умерших животных сразу же вскрывали, забирали участки ущемленной тонкой кишки, подвергнутой фиксации, фиксировали их в 10% растворе нейтрального формалина, после соответствующей обработки и окраски гематоксилином и эозином проводили микроскопию образцов. Тяжесть повреждения тонкой кишки оценивали по шкале Парки и соавторов [31].

Измеренные и рассчитанные значения выражали как среднее стандартное отклонение ($\bar{x} \pm m$). Результаты регрессионного анализа для эксперимента 2 и тест Манна — Уитни для эксперимента 3 использованы для сравнения между груп-

пами. Значения $p < 0,005$ считали достоверными.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Блок 1. В эксперименте установлено, что $tg \delta m$ до ущемления составлял $3,00 \pm 0,13$. После ущемления в течение 45 мин он уменьшился до $2,61 \pm 0,14$ — через 30 мин и до $2,31 \pm 0,15$ — через 45 мин после странгуляции. В последующем отмечено незначительное уменьшение параметра до $2,17 \pm 0,11$ — через 60 мин и до $2,15 \pm 0,10$ — через 120 мин после ущемления. Изменения $tg \delta m$ в контрольной группе незначительны: до ущемления — $3,02 \pm 0,16$, через 30 мин — $3,02 \pm 0,16$, через 45 мин — $3,02 \pm 0,19$, через 90 мин — $3,03 \pm 0,18$, через 120 мин $3,03 \pm 0,17$.

Блок 2. В таблице приведены данные об уровне АТФ в стенке тонкой кишки и значение $tg \delta m$ в подгруппах.

При анализе уровня АТФ в стенке кишки отмечено его резкое снижение после возникновения ишемии, затем медленное снижение после 30 мин ишемии.

Между изученными параметрами установлена положительная корреляция ($p < 0,01$, $R = 0,82$).

В этом блоке экспериментальных исследований отмечена положительная корреляция между $tg \delta m$ и уровнем АТФ, что свидетельствует о целесообразности использования $tg \delta m$ в качестве надежного параметра оценки жизнеспособности тонкой кишки. Определение $tg \delta m$ является менее инвазивным методом оценки ишемического повреждения в реальном времени, поэтому его можно применять для определения жизнеспособности кишки в клинической практике.

Блок 3. Изучали корреляцию между $tg \delta m$ непосредственно перед реперфузией и показателями выживаемости крыс для оценки возможности и целесообразности определения диэлектрических параметров в реальном времени.

Данные литературы свидетельствуют, что период обновления эпителиальных клеток кишки у крыс составляет 2 — 3 сут [32, 33], поэтому срок 7 сут достаточен для восстановления кишечника после ишемически-реперфузионного повреждения.

Во всех образцах кишки выживших крыс группы А обнаружен некроз стенки класса 0, что свидетельствовало о ее восстановлении после ишемически-реперфузионного повреждения.

В группе В 3 крысы умерли в 1-е сутки, 8 — на 2-е сутки, 1 — на 3-и сутки, 2 — на 4-е сутки (в среднем 2,1 сут) после операции. По данным гистологического исследования, после вскрытия отмечен некроз ущемленной кишки уровня 7 или 8 у всех крыс группы В, в то время как у животных группы А, выживших в течение 7 сут и выведенных из эксперимента, ишемические повреждения отсутствовали. При этом перед реперфузией $tg \delta m$ в группе А был значительно выше, чем в группе В ($p < 0,01$).

В сроки до 7 сут показатели выживаемости крыс составили 82,4%, $tg \delta m$ непосредственно перед реперфузией был выше 2,20, при $tg \delta m$ более 2,36 выжили все животные; при $tg \delta m$ менее 2,20 — показатели выживаемости составили 8,3%.

Таким образом, у выживших животных $tg \delta m$ в конце периода ущемления составлял 2,36 или более, у умерших — менее 2,20. Все крысы, у

Содержание АТФ в стенке тонкой кишки и $tg \delta m$ в подгруппах животных

Подгруппы	Величина показателя ($\bar{x} \pm m$)	
	$tg \delta m$	АТФ, ммоль/г
1-я	$3,00 \pm 0,13$	$10,49 \pm 1,28$
2-я	$2,61 \pm 0,14$	$4,11 \pm 0,26$
3-я	$2,31 \pm 0,15$	$3,43 \pm 0,52$
4-я	$2,17 \pm 0,11$	$3,14 \pm 0,36$
5-я	$2,15 \pm 0,1$	$3,57 \pm 0,50$

которых продолжительность ущемления превышала 60 мин, умерли в течение 4 сут.

Полученные данные позволяют предположить, что tg δm можно использовать в качестве эффективно-

го неинвазивного критерия диагностики в режиме реального времени для оценки жизнеспособности кишки при СНК. Метод может быть также полезным при резекции ущемленной кишки без устранения

странгуляции при значении tg δm ниже порогового для предупреждения синдрома реперфузии. Исследования у больных при СНК позволят оценить значение tg δm для выбора тактики лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Thomas F. G. The recovery of intestine after ischaemic injury / F. G. Thomas // *Br. J. Surg.* — 1980. — Vol. 67. — P. 699 — 702.
2. Mackie D. B. The effect of vagotomy on jejunal and ileal blood flow / D. B. Mackie, M. Chir, M. D. Turner // *J. Surg. Res.* — 1971. — Vol. 11. — P. 356 — 363.
3. DeNobile J. Pulse oximetry as a means of assessing bowel viability / J. DeNobile, P. Guzzetta, K. Patterson // *J. Surg. Res.* — 1990. — Vol. 48. — P. 21 — 23.
4. Myers M. B. Relationship between surface pH and pCO₂ and the vascularity and viability of intestine / M. B. Myers, G. Cherry, J. Gesser // *Surg. Gynec. Obstet.* — 1972. — Vol. 134. — P. 787 — 789.
5. Quantification of fluorescein distribution to strangulated rat ileum / D. G. Silverman, W. E. Hurford, H. S. Cooper [et al.] // *J. Surg. Res.* — 1983. — Vol. 34. — P. 179—186.
6. Determination of viability of ischemic intestine by Doppler ultrasound / M. Cooperman, W. G. Pace, E. W. Martin [et al.] // *Surgery.* — 1978. — Vol. 83. — P. 705 — 710.
7. Shepherd A. P. Continuous measurement of intestinal mucosal blood flow by laser—Doppler velocimetry / A. P. Shepherd, G. L. Riedel // *Am. J. Physiol.* — 1982. — Vol. 242. — P. 668 — 672.
8. Yamada T. Energy metabolism and tissue blood flow as parameters for the assessment of graft viability in rat small bowel transplantation / T. Yamada, T. Taguchi, S. Suita // *J. Ped. Surg.* — 1996. — Vol. 31. — P. 1475 — 1481.
9. Boros M. Ischemic time—dependent microvascular changes and reperfusion injury in the rat small intestine / M. Boros, S. Takaichi, K. Hatanaka // *J. Surg. Res.* — 1995. — Vol. 59. — P. 311 — 320.
10. The significance of cytological examination on reperfusion in rat small intestinal transplantation / T. Taguchi, T. Yamada, S. Suita, M. Ohta // *Virch. Arch.* — 1995. — Vol. 427. — P. 71 — 76.
11. Liver injury is a reversible neutrophil—mediated event following gut ischemia / R. S. Poggetti, F. A. Moore, E. E. Moore [et al.] // *Arch. Surg.* — 1992. — Vol. 127. — P. 175 — 179.
12. Evidence for tumor necrosis factor—induced pulmonary microvascular injury after intestinal ischemia—reperfusion injury / M. G. Caty, K. S. Guice, K. T. Oldham [et al.] // *Ann. Surg.* — 1990. — Vol. 212. — P. 694 — 700.
13. Intestinal energy metabolism during ischemia and reperfusion / A. Sato, Y. Kuwabara, M. Sugiura [et al.] // *J. Surg. Res.* — 1999. — Vol. 82. — P. 261 — 267.
14. Bore P. J. Adenosine triphosphate regeneration and function in the rat kidney following warm ischaemia / P. J. Bore, I. Papatheofanis, R. A. Sells // *Transplantation.* — 1979. — Vol. 27. — P. 235 — 237.
15. Nishioka K. Effect of ischemia on mechanical function and high—energy phosphates in rabbit myocardium / K. Nishioka, J. A. Jarmakani // *Am. J. Physiol.* — 1982. — Vol. 242. — P. 1077 — 1083.
16. Adenine nucleotide metabolism during hepatic ischemia and subsequent blood reflow periods and its relation to organ viability / S. Marubayasi, K. Takenaka, K. Dohi [et al.] // *Transplantation.* — 1980. — Vol. 30. — P. 294 — 296.
17. Adenine nucleotide metabolism in relation to graft viability in rat small—bowel transplantation / Y. Hirata, T. Taguchi, S. Suita, K. Takeshige // *Eur. Surg. Res.* — 1994. — Vol. 26. — P. 309 — 317.
18. Diagnosis of pulmonary edema with thoracic electrical resistivity / N. Okuda, K. Ieda, K. Horie [et al.] // *Jap. J. Med. Electrobiol. Eng.* — 1991. — Vol. 29. — P. 105 — 108.
19. In vivo measurement and evaluation of bioimpedance of breast tumors / N. Mitsuyama, T. Morimoto, Y. Kinouchi [et al.] // *J. Jap. Surg. Soc.* — 1988. — Vol. 89. — P. 251 — 255.
20. Development and evaluation of an impedance cardiac output system / W. G. Kubicek, J. N. Karnegis, R. P. Patterson [et al.] // *Aerospace Med.* — 1966. — Vol. 37. — P. 1208 — 1212.
21. Evaluation of ischemic damage in the skeletal muscle with the use of electrical properties / M. Hayashi, H. Hirose, E. Sasaki [et al.] // *J. Surg. Res.* — 1998. — Vol. 80. — P. 266 — 271.
22. Predictability of dielectric properties for ischemic injury of the skeletal muscle before reperfusion / T. Miyauchi, H. Hirose, E. Sasaki [et al.] // *J. Surg. Res.* — 1999. — Vol. 86. — P. 79 — 88.
23. An experimental estimation of the maximum period of liver preservation using dielectric parameters / T. Yamada, H. Hirose, Y. Mori [et al.] // *Transplant. Proc.* — 2002. — Vol. 34. — P. 1098 — 1104.
24. Detection of myocardial ischemic injury during simple cold storage by measurement of myocardial electrical impedance / M. Ishikawa, H. Hirose, E. Sasaki [et al.] // *J. Cardiovasc. Surg.* — 1996. — Vol. 37. — P. 261 — 267.
25. Evaluation of myocardial viability during cold storage with the use of electrical properties in broad frequencies / M. Ishikawa, H. Hirose, E. Sasaki [et al.] // *J. Heart Lung Transplant.* — 1996. — Vol. 15. — P. 1005 — 1011.
26. Dielectric spectrogram for instantaneous evaluation of ischemic injury of the liver / E. Sasaki, H. Hirose, H. Ito [et al.] // *ASAIO J.* — 1995. — Vol. 41. — P. 356 — 359.
27. Foster K. R. Dielectric properties of tissues and biological materials / K. R. Foster, H. P. Schwan // *Crit. Rev. Biomed. Eng.* — 1989. — Vol. 17. — P. 25 — 104.
28. Foster K. R. Dielectric properties of tissues / K. R. Foster, H. P. Schwan // *Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields*; eds. C. Polk, E. Postow. — Boca Raton, FL: CRC Press, 1996. — 2nd ed. — P. 25 — 102.
29. Surowiec A. Use of the loss—tangent function in dielectric spectroscopy / A. Surowiec, S. S. Stuchiy // *Bioelectromagnetics.* — 1986. — Vol. 7. — P. 259 — 269.
30. Change in cellular levels of ATP and its catabolites in ischemic rat liver / W. Kamiike, F. Watanabe, T. Hashimoto [et al.] // *J. Biochem.* — 1982. — Vol. 91. — P. 1349 — 1356.
31. The sequence of development of intestinal tissue injury after strangulation ischemia and reperfusion / P. O. Park, U. Haglund, G. B. Bulley, K. Falt // *Surgery.* — 1990. — Vol. 107. — P. 574 — 580.
32. Leblond C. P. The time dimension in histology / C. P. Leblond // *Am. J. Anat.* — 1963. — Vol. 116. — P. 1 — 27.
33. Adaptation of the gastrointestinal tract to extrauterine life / P. Sunshine, J. J. Herbst, O. Koldovsky, N. Kretchmer // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* — 1971. — Vol. 76. — P. 16 — 29.

