УДК 616.34-005.4-036.1

©І.А. Даниленко[1], М.Г. Кононенко[1], О.П. Манжос[2], Р.А. Москаленко[1], Л.Г. Кащенко[1]

Медичний інститут Сумського державного університету[1]

Кафедра загально хімі Сумського державного університету[2]

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

ОПТИМІЗАЦІЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ КИШКОВО СТІНКИ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ГОСТРОГО ПОРУШЕННЯ МЕЗЕНТЕРІАЛЬНОГО КРОВООБІГУ – Значення редокс-потенціалу репрезентує перебіг окисно-відновних процесів у клітинах кишково стінки. В експерименті знайдено кореляцію некробіотичних змін у стінці кишки з різницею редокс-потенціалів слизового та серозного шарів. Рекомендовано використання редоксметрі в якості адекватного методу визначення життєздатності кишково 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 корелляции некробиотических изменений стенки кишки с разностью редокс-потенциалов её слизистого и серозного слоёв. 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 redoks-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 redoks-potentials of its mucous and serous layers are discovered in experiment. Use the redoksmetria 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, redoksmetria, acute disorder of mesenterical circulation.

ВСТУП Оцінка життєздатності стінки кишки є однією з невирішених проблем абдомінально хірургі [1]. Найчастіше використовують суб'єктивні методи клінічно оцінки стану кишково стінки за кольором, блиском очеревини, пульсацією судин брижі, перистальтикою. Об'єктивізація діагностики за допомогою допплерівсько флоуметрі , реовазографі , імпедансометрі , пульсоксиметрі , термометрі , введення в судинне русло досліджувально ділянки різних за механізмом ді вазоактивних та контрастуючих 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 тонко кишки з поширеним чи субтотальним ураженням. З метою зменшення проявів післярезекційно ентерально недостатності (синдром коротко кишки) важливо залишити якомога більшу площу функціонуючо слизово органа.

Методи, що базуються на вивченні стану мікроциркуляці , відмінно зарекомендували себе за наявності відносно чітко візуально межі між життєздатною та некротизованою ділянками. Але при ГПМК на стаді інфаркту ділянки сумнівно життєздатності охоплюють значну площу функціонально поверхні кишки і головним питанням, що турбує хірурга, є стан слизово оболонки. В деяких пацієнтів серозна оболонка кишки здається неушкодженою, але слизова оболонка та підслизова основа вже некротично змінені. Це потрібно враховувати при визначенні межі резекці [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 тонко кишки визнається найточнішим об'єктивним методам, бо репрезентує стан, перш за все, дихальних ферментних систем, що забезпечують клітини енергією. Аналіз сучасних публікацій показує невирішеність кількісно оцінки та інтерпретаці отриманих результатів, що зумовлює актуальність клініко-експериментального дослідження.

Метою роботи стало підвищення точності визначення меж некрозу кишково стінки при ГПМК за допомогою редоксметрі .

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Проведено експериментальне дослідження на 36 білих статевозрілих щурах ліні "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 І Національним конгресом з біоетики (Ки в, 2001). Експеримент проводили в весняно-літній період. Для дослідів відбирали мінімально припустиму для статистично 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 лапаротомі моделювали ГПМК перев'язкою артеріальних судин, що живлять тонку кишку. Серединну рану зашивали. Експозиці декомпенсованого ГПМК в різних групах складали відповідно 2, 3, 4, 5, та 6 год. У контрольній групі проводили лапаротомі 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 Укра ни на корисну модель U 2010 03515, МПК G 01 N33/84, публ. 26. 03. 2010). Згідно з способом використовують скляний редоксметричний та хлорсрібний порівняльний електроди та pH-метр з функцією потенціометрі . Також ми застосовували розроблений "Спосіб оцінки життєздатності кишки та оптимальних меж резекці при гострих порушеннях мезентеріального кровообігу" (Патент Укра ни на корисну модель U 2010 03566, МПК G 01 N33/48, публ. 29. 03. 2010).

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

Відбір ділянок тонко кишки для подальшого дослідження проводили за різниці редокс-потенціалів слизово та серозно 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 цифрово системи виводу зображення "SEO Scan ICX 285 AK-F IEE-1394". Аналіз даних проводили за допомогою морфометрично програми "SEO Image Lab 2.0".

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

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ Після повторного введення в наркоз вимірювали різницю редокс-потенціалів серозно оболонки здорово та некротизовано ділянок кишки, що складала Eh= 10-13 мВ і практично не залежали від тривалості ішемі . Подібні незначні коливання редокс-потенціалу серозно оболонки на значній по довжині ділянці кишки неприйнятні в якості критерія оцінки життєздатності кишки на моделі ГПМК.

Макроскопічно залежно від часу експозиці (2-6 год) виявляли набряк тонко 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 тонко кишки вважали життєздатною, коли різниця редокс-потенціалів слизово та серозно оболонок тонко кишки була 40 мВ. При цьому, що підтверджено гістологічно, морфологічні зміни лише мінімальні або відсутні.

Мікроскопічні зміни ділянок із різницею редокс-потенциалів 30 мВ. Спостерігався набряк в усіх шарах стінки кишки. За тривалості ішемі 2-3 год мікроворсинки змінювали конформацію – збільшувалися за рахунок набряку у висоту та ширину, виявлені х поодинокі розриви, десквамація епітелію, у інтерстиційному просторі кишкових ворсинок з'являлася незначна запальна нейтрофільна інфільтрація. За тривалості ішемі 4-6 год частина кишкових ворсинок знаходилась у стані тяжкого набряку і частково деструкці із втратою апікально частини, у більшості кишкових ворсинок виявлялися невеликі надриви, осередки злущення призматичного кишкового епітелію. Незалежно від терміну ішемі в усіх шарах стінки тонко кишки спостерігалися дисциркуляторні зміни у вигляді різкого розширення та повнокров'я гемокапілярів, артеріол та венул, периваскулярного набряку, утворення сладжів 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 десквамаці мезотелію.

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

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

зазнав 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 підслизово основи та м'язового шару різко розширені, з явищами десквамаці ендотелію, периваскулярний простір з активною ексудацією еритроцитів, нейтрофілів, лімфоцитів та інших форменних елементів. Численні крововиливи в усіх оболонках тонко кишки спричинили інфарцювання, імбібіцію кров'ю. Простори між м'язовим шаром і слизовою оболонкою значно розширені, великі ділянки некротизовано слизово 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 серозно оболонки не можуть бути адекватним критерієм визначення життєздатності кишки.

2. Знайдено кореляцію між морфологічними змінами тонко кишки на моделі ГПМК у щурів та різницею редокс-потенціалів слизово та серозно оболонок кишки.

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

4. Різниця редокс-потенціалів слизово та серозно оболонок тонко кишки щурів у 40 мВ свідчила про життєздатність, різниця у 30 мВ та менше – про незворотні некробіотичні зміни в стінці кишки.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ. Отримані результати дозволяють запропонувати редоксметричне визначення межі життєздатності кишки у людини.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алєксєєв О.В. Оцінка життєздатності кишечника при гострій кишковій непрохідності, защемленій грижі, травмі живота, мезентеріальному тромбозі та емболі / О.В. Алєксєєв // 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 U Украина, МПК(2006) А 61 В 17/00. Спосіб визначення межі життєздатності кишки / С.М. Антонюк, І.Б. Андрієнко, В.Б. Ахрамеєв 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 Украина, МПК[7] А 61 В 10/00. Спосіб виявлення нежиттєздатних ділянок органів черевно порожнини / В.В. Бойко, І.А. Криворучко, І.А. Тарабан, Т.Л. Гафт; заявник та власник патенту Інститут загально і невідкладно хірургії АМН України. - № 20030325550; заявл.25.05.2003; публ.15.12.2003, Бюл. № 12, 2003 р.

5. Пат. 21666 U Украина, МПК(2006) А 61 В 17/22, А 61 В 1/00. Спосіб визначення нежиттєздатності кишково стінки / В.М. Короткий, А.І. Мойсеєнко, С.О. Бутирін; заявник та власник патенту Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця. – № u200611901; заявл.13.11.2006; публ.15.03.2007, Бюл. № 3, 2007 р.

6. Пат. 3616 U Украина, МПК[7] А 61 В 17/00. Спосіб інтраопераційно 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