

УДК 616.34-005.4-036.1

©І. А. Даниленко<sup>1</sup>, М. Г. Кононенко<sup>1</sup>, В. В. Леонов<sup>1</sup>, О. П. Манжос<sup>2</sup>, Л. Г. Кашченко<sup>1</sup>, О. М. Антоненко<sup>1</sup>  
 Медичний інститут Сумського державного університету<sup>1</sup>  
 Сумський державний університет<sup>2</sup>

## ПОРІВНЯННЯ РІЗНИХ МЕТОДІВ ОЦІНКИ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ КИШКОВОЇ СТІНКИ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ГОСТРОГО ПОРУШЕННЯ МЕЗЕНТЕРІАЛЬНОГО КРОВООБІГУ

ПОРІВНЯННЯ РІЗНИХ МЕТОДІВ ОЦІНКИ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ КИШКОВОЇ СТІНКИ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ГОСТРОГО ПОРУШЕННЯ МЕЗЕНТЕРІАЛЬНОГО КРОВООБІГУ – Значення редокс-потенціалу репрезентує перебіг окисно-відновних процесів у клітинах кишкової стінки. Чутливість та специфічність візуального визначення життєздатної кишки, підтверджені даними RGB-інтенсивності червоного кольору, склали 72 та 92 %, а редоксметрії, відповідно, 92,8 та 93,3 %. Рекомендовано використання редоксметрії в якості адекватного методу визначення життєздатності кишкової стінки.

СРАВНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ СТЕНКИ КИШКИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ – Величина редокс-потенциала характеризует состояние окислительно-восстановительных процессов в клетках кишечной стенки. Чувствительность и специфичность визуального определения жизнеспособной кишки, подтвержденные результатами RGB-интенсивности красного цвета, составили 72 и 92 %, а редоксметрии, соответственно, 92,8 и 93,3 %. Рекомендовано использование редоксметрии в качестве адекватного метода определения жизнеспособности кишечной стенки.

COMPARISON OF DIFFERENT METHODS OF DETECTION 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. Sensitivity and specificity of visual investigation intestinal viability, confirmed by RGB-intensity of red color, is made 72 % and 92 %, redoxmetry – 92,8 % and 93,3 % respectively. Using of redoxmetria as an adequate method of definition of viability of an intestinal wall is recommended.

**Ключові слова:** життєздатність кишки, візуальне визначення, RGB-інтенсивність червоного кольору, редоксметрія.

**Ключевые слова:** жизнеспособность кишки, визуальное определение, RGB-интенсивность красного цвета, редоксметрия.

**Key words:** viability of intestine, visual investigation, RGB-intensity of red color, redoxmetry.

**ВСТУП** Оцінка життєздатності стінки кишки є однією з невирішених проблем абдомінальної хірургії [1]. У хірургічній практиці оцінюють візуальні критерії: колір, артеріальну пульсацію, перистальтику, набряк стінки тощо [2]. Але візуальна оцінка суб'єктивна, тому адекватні результати отримати важко [3]. Головним стає лише точка зору хірурга, що базується на досвіді, а інколи – інтуїції.

Зовнішні ознаки кишки свідчать лише про стан серозної та м'язової оболонки. Але надто важливо з'ясувати стан слизової, некроз якої не можна виявити, спираючись на класичні ознаки, що і призводить до помилок [4].

У літературі мало досліджень щодо порівняння різних методів визначення життєздатності кишки. На експериментальній моделі кишкової ішемії порівнювали [5] результати гістологічного дослідження з да-

ними, відповідно, безконтактної флоуметрії, пульсоксиметрії та введення флюоресцину, які проведено через 60 хв після реперфузії ділянки кишки. Отримані дані чутливості (відповідно 88; 23 та 4 %) та специфічності (відповідно 63; 96 та 100 %) зумовили точність методик – відповідно 76; 58 та 48 %. Таким чином, методом вибору при підозрі на інфаркт кишки, що тільки розпочався і не поширився на всі шари кишки, рекомендують [5] саме флоуметрію.

Одним із методів оцінки стану біологічних процесів на молекулярному рівні, за допомогою якого можна швидко отримати об'єктивну інформацію про зміни окисно-відновних процесів у клітинах, є редоксметрія. Вимірювання змін редокс-потенціалу свідчить про стан дихальних ферментних систем, які забезпечують клітини енергією.

Аналіз публікацій доводить доцільність порівняння різних методів визначення життєздатності кишки, що зумовлює актуальність експериментального дослідження.

Метою роботи стало порівняти чутливість та специфічність візуального та редоксметричного методів визначення життєздатності кишки.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** 36 лабораторних білих ставозрілих (7–8 місячних) щурів-самок лінії "Вістар" масою 200–230 г поділили на контрольну та 5 дослідних груп по 6 тварин у кожній групі. Для знеболювання використовували діетиловий ефір інгаляційно та кетамін 50 мг/кг внутрішньом'язово (за методикою Y. Gunerhan, 2008). Моделювання декомпенсованого ГПМК проводили перев'язкою гілок краніальної брижової артерії (за методикою O. Malafaia, 2008), що кровопостачала сегмент тонкої кишки на 10 см дистальніше зв'язки Трейца довжиною 20 см. Експозиції декомпенсованого гострого порушення мезентеріального кровообігу (ГПМК) в дослідних групах складали відповідно 2; 3; 4; 5 та 6 год. У контрольній групі судини не перев'язували. Надалі під наркозом проводили релaparотомію та досліджували зміни в обраному сегменті тонкої кишки у 4 точках: першій – проксимальніше обраного сегмента на 1,5 см, інших – в межах цього сегмента в напрямку збільшення візуальних ішемічних змін.

В обраних точках візуально (суб'єктивно) оцінювали життєздатність кишки за кольором стінки, пульсацією судин, перистальтикою.

Для об'єктивізації такого суб'єктивного критерію визначення життєздатності, як колір кишки, фотографували дослідний сегмент фотокамерою Fuji Finerix F30 в режимі макрозйомки з відключеним спалахом, чутливістю 400 одиниць та розподільною здатністю 3000x2000 пікселів. Перед кожним знімком визначали баланс білого на білому папері. Надалі на персональному комп'ютері програмою ACDSsee Pro 3 проаналізовано гістограми отриманих фотографій кишки за моделлю RGB (R – red, G – green, B – blue). Модель

RGB призначала кожному елементу зображення значення інтенсивності від 0 (чорний) до 255 (білий) одиниць для кожного з RGB-компонентів світла. Спектр поглинання оксигенованого гемоглобіну знаходиться в червоній частині спектра. Тому для об'єктивізації візуальної оцінки життєздатності кишки вважали доцільним вивчення змін саме червоної складової моделі RGB в 4 обраних точках.

Для реєстрації редокс-потенціалів (rH) застосовували рН-метр з функцією редоксметрії рН-150МИ. Як вимірювальний електрод використовували промисловий скляний редоксметричний електрод ЭО-01 (діаметр робочої частини 6 мм). Електродом порівнювали слугував хлорсрібний промисловий електрод ЭВЛ-1М3.1. Визначали редокс-потенціал серозної оболонки (електрод на 20 с прикладали до протибрижового краю кишки) в 4 обраних точках. У цих місцях виконували ентеротомію і реєстрували редокс-потенціал слизової оболонки. Після редоксметрії тварин виводили з експерименту передозуванням ефірного наркозу.

Для гістологічного дослідження ділянки тонкої кишки з тих самих 4 точок фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну впродовж 24 год. Проводку і виготовлення парафінових блоків здійснювали за загальноприйнятою методикою. На санному мікромомі МС-2 виконували парафінові серійні зрізи товщиною 7–9 мкм, забарвлювали гематоксиліном і еозином. Цифрові знімки гістологічних мікропрепаратів отримували за допомогою цифрової системи виводу зображення "SEO Scan ICX 285 AK-F IEE-1394".

Оцінювали середнє арифметичне (M) та середню помилку середньої величини (m). Достовірність змін середніх показників оцінювали за критерієм Стьюдента (t). Довірчі межі сили впливу чинників при вивченні генеральної сукупності визначали на рівні значення  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Чітку залежність довжини кишки між морфологічно визначеними життєздатною та нежиттєздатною ділянками відносно терміну ішемії ми не виявили. Інтервал менший за 2,5 см між життєздатною та нежиттєздатною ділянками в дослідній групі спостерігали у

50 % щурів при ішемії 2 та 4 год, у 33 % – при 6-годинній ішемії, у 17 % – при 5-годинній. Ми вважаємо головною причиною цього індивідуальні компенсаторні мікроциркуляторні особливості, зумовлені колатеральним кровообігом крайовими артеріями. У жодного щура на кишці не спостерігали чіткої лінії демаркації життєздатної ділянки від нежиттєздатної.

Для об'єктивізації візуального методу визначення життєздатності ділянок кишки вивчали RGB-інтенсивність червоного кольору обраних точок, визначених візуально життєздатними. Отримані результати свідчать про збільшення на 38 % ( $p < 0,01$ ) середніх величин цього показника в термін від 2 до 6 год ішемії, відповідно від  $115 \pm 11,2$  ( $p > 0,05$ ) до  $159,6 \pm 6,4$  ( $p < 0,01$ ) (табл. 1). Окремий підрахунок середніх величин RGB-інтенсивності червоного кольору за результатами гістологічного дослідження підтверджують тенденцію зростання показника – з  $103 \pm 14,13$  ( $p > 0,05$ ) в 2-годинний термін ішемії до  $145,16 \pm 13,2$  ( $p > 0,05$ ) – в 6-годинний, тобто на 40 % ( $p < 0,05$ ). Причиною низьких значень середнього показника RGB-інтенсивності червоного кольору (на 10 % нижче, ніж в контрольній групі) при візуальному визначенні життєздатності кишки після 2-годинної ішемії є задовільна перистальтика початково ішемізованої і дещо ціанотичної ділянки кишки, яку досліджують. Саме за умов задовільної перистальтики ставлення до суб'єктивної оцінки кольору менш критичне.

Після більш тривалої ішемії середні показники RGB-інтенсивності червоного кольору переважали контрольні: на 34 % ( $p < 0,05$ ) після 5-годинної та на 24 % ( $p < 0,01$ ) після 6-годинної ішемії відповідно. Причиною отриманих результатів є ідентифікація регулярних перистальтичних хвиль кишки лише в ділянках з більш яскраво-червоним, без ціанозу, забарвленням, ніж в контрольній групі.

Абсолютні величини редокс-потенціалів слизової та серозної оболонок життєздатної кишки змінювалися внаслідок впливу хірургічного втручання. Як видно із дослідження, середні показники rH слизової та серозної оболонок змінюються як в дослідній, так і в контрольній групах (табл. 2).

Таблиця 1. RGB-інтенсивність червоного кольору життєздатної кишки, (M±m, од)

| Дослід   | візуально    | 2 год           | 3 год             | 4 год            | 5 год            | 6 год             |
|----------|--------------|-----------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|
|          |              | гістологічно    | $103 \pm 14,13^*$ | $131,8 \pm 7,1$  | $120,3 \pm 10,1$ | $125,8 \pm 15,08$ |
| Контроль | гістологічно | $133,3 \pm 4,1$ | $132,6 \pm 3,74$  | $128,1 \pm 4,04$ | $116,8 \pm 4,83$ | $128,6 \pm 3,72$  |

Примітка. Достовірно порівняно з контролем: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .

Таблиця 2. Результати потенціометрії (rH) залежно від терміну ішемії (M±m, мВ)

| Життєздатна   | Шар кишки, що досліджується | Термін дослідження    |                         |                        |                        |                         |
|---------------|-----------------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
|               |                             | 2 год                 | 3 год                   | 4 год                  | 5 год                  | 6 год                   |
| Серозна       | дослід                      | $-108 \pm 3,14$       | $-121,6 \pm 2,65^{**}$  | $-125 \pm 7,9$         | $-121,16 \pm 6,1$      | $-127,5 \pm 3,11^*$     |
|               |                             | контроль              | $-104,3 \pm 2,4$        | $-107,5 \pm 2,56$      | $-111,2 \pm 2,9$       | $-113,4 \pm 2,1$        |
|               | слизова                     |                       | $-67,4 \pm 2,54^*$      | $-74,6 \pm 2,24^{**}$  | $-78,5 \pm 7,94$       | $-74,66 \pm 6,72$       |
|               |                             | контроль              | $-57,6 \pm 2,8$         | $-60,2 \pm 2,36$       | $-62,2 \pm 3,17$       | $-63,5 \pm 3,65$        |
| Нежиттєздатна | серозна                     | $-112 \pm 3,9$        | $-128,5 \pm 1,85^{***}$ | $-131,66 \pm 8,2^*$    | $-127,7 \pm 6,43^*$    | $-133,8 \pm 4,99^*$     |
|               | слизова                     | $-94,8 \pm 5,1^{***}$ | $-113,7 \pm 1,85^{***}$ | $-114,8 \pm 8,2^{***}$ | $-114,7 \pm 0,1^{***}$ | $-118,16 \pm 5,6^{***}$ |

Примітки: 1. Достовірно порівняно з контролем: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ ; 2. Порівняння rH серозної та слизової оболонок нежиттєздатної кишки проводили з rH відповідних шарів контрольної групи.

У дослідних групах чинниками впливу на rH є моделювання ГПМК та проміжок часу між першим (перев'язка судин) та другим (реєстрація змін) втручаннями. В контрольній групі на зміну rH слизової та серозної оболонки впливає лише проміжок часу між першим (лапаротомія без моделювання ГПМК) та другим (реєстрація змін) втручаннями.

Проведений аналіз не виявив статистично достовірної різниці в середніх показниках редокс-потенціалів серозної (зменшення середньої rH на 10,2 % ( $p > 0,05$ ) в термін з 2 до 6 год) та слизової (зменшення середньої rH на 14 % ( $p > 0,05$ ) у той самий термін) оболонки кишки тварин контрольної групи. Ці зміни rH викликані саме впливом проведеної лапаротомії та маніпуляціями на кишці.

Після повторного введення в наркоз вимірювали rH серозної оболонки здорової та некротизованої ділянок кишки, різниця їх абсолютних величин не перевищувала 10–13 мВ і практично не залежала від тривалості ішемії. Подібні незначні коливання редокс-

потенціалу серозної оболонки на значній по довжині ділянці кишки неприйнятні в якості критерію оцінки життєздатності кишки на моделі ГПМК.

За даними досліджень, різниця редокс-потенціалів слизової та серозної оболонки є відносно сталою. Вона залежить лише від стану енергетичних процесів у клітинах оболонки кишки, які набувають змін при моделюванні ішемії. Саме різницю редокс-потенціалів слизової та серозної оболонки, а не окремі їх абсолютні значення, ми вважали доцільним обрати за критерій життєздатності кишкової стінки.

Результати визначення життєздатності кишки за суб'єктивними ознаками, критеріями RGB-інтенсивності червоного кольору та даними редоксметрії порівнювали з гістологічним заключенням, що дозволило визначити чутливість та специфічність кожного методу.

Чутливість та специфічність візуального визначення життєздатної кишки, підтверджені даними RGB-інтенсивності червоного кольору, склали відповідно 72 та 92 % (табл. 3).

**Таблиця 3. Порівняння відповідності результатів визначення життєздатної ділянки, отриманих візуальним та редоксметричним методом, відповідно до гістологічної верифікації**

| Метод            |  | “Золотий стандарт” – гістологічне дослідження |  |
|------------------|--|---|--|
|                  |  | життєздатність *                              | сумнівна життєздатн. або нежиттєздатн. |
| Візуальний       | Життєздатність                               | 20<br>Істиннопозитивний                       | 2<br>Хибнопозитивний                   |
|                  | Сумнівна життєздатність або нежиттєздатність | 8<br>Істиннонегативний                        | 28<br>Хибнонегативний                  |
| Редокс-метричний | Життєздатність                               | 26<br>Істиннопозитивний                       | 2<br>Хибнопозитивний                   |
|                  | Сумнівна життєздатність або нежиттєздатність | 2<br>Істиннонегативний                        | 28<br>Хибнонегативний                  |

Примітка. \* – у 2 щурів дослідних груп гістологічно не визначили життєздатними жодної з досліджуваних ділянок, тому їх було виключено.

Спираючись на результати гістологічного дослідження, встановлено, що значення різниці редокс-потенціалів слизової та серозної оболонки кишки щура  $rH \leq 22$  мВ ( $p < 0,05$ ) свідчить про нежиттєздатність кишки,  $rH$  в інтервалі 23–39 мВ ( $p < 0,05$ ) – про сумнівну життєздатність,  $rH \geq 40$  мВ ( $p < 0,05$ ) – про життєздатність. Чутливість редоксметрії у визначенні ділянки життєздатності склали 92,8 %, специфічність – 93,3 %.

**ВИСНОВКИ** 1. Чутливість та специфічність візуального визначення життєздатної кишки, підтверджені даними RGB-інтенсивності червоного кольору, склали, відповідно, 72 % та 92 %.

2. Різниця редокс-потенціалів слизової та серозної оболонки, а не окремі абсолютні значення редокс-потенціалів слизової та серозної оболонки, є критерієм життєздатності кишкової стінки.

3. Отримані попередні результати редоксметрії як методу визначення життєздатності кишки на моделі кишкової стінки щура є об'єктивним інструментальним дослідженням з високими чутливістю (92,8 %) та специфічністю (93,3 %) і може бути запропонований

для оптимізації інтраопераційної діагностики життєздатності кишки у людини.

**Перспективи подальших досліджень** отримані результати дозволяють запропонувати редоксметричне визначення межі життєздатності кишки у людини.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеев О. В. Оцінка життєздатності кишечника при гострій кишковій непрохідності, защемленій грижі, травмі живота, мезентеріальному тромбозі та емболії / О. В. Алексеев // Шпитальна хірургія. – 1999. – № 1. – С. 127–130.
2. Surgical therapy for acute superior mesenteric artery embolism / H. Bingol, N. Zeybek, F. Cingoz [et al.] // Am. J. Surg. – 2004. – Vol. 188, N.1. – P. 68–70.
3. Open abdomen management after massive bowel resection for superior mesenteric arterial occlusion / K. Mimatsu, T. Oida, H. Kanou [et al.] // Surg. Today. – 2006. – Vol. 36, № 3. – P. 241–244.
4. Kolkman J. J. Diagnosis and management of splanchnic ischemia / J. J. Kolkman, M. Bargeman, A. B. Huisman, R. H. Geelkerken // World. J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 14, №.48. – P. 7309–7320.
5. Ando M. Assessment of intestinal viability using a non-contact laser tissue blood flowmeter / M. Ando, M. Ido, Z. Nihei, K. Sugihara // Am. J. Surg. – 2000. – Vol. 180, №.9. – P. 176–180.

Отримано 19.12.11