

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ПОЛИИОННОГО РАСТВОРА ОСМОЛЯРНОСТЬЮ 450 МОСМ/Л ДЛЯ ЛАВАЖА ПРОСВЕТА ТОЛСТОЙ КИШКИ ПРИ ДЕКОМПЕНСИРОВАННОЙ ОБТУРАЦИОННОЙ ТОЛСТОКИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ

Арутюнян В.Р.¹, Али-Риза А.Э.¹, Сухоруков А.М.², Кочетова Л.В.¹,
Поздняков А.А.¹, Попов А.Е.¹, Пахомова Р.А.¹

¹ ГБОУ ВПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, e-mail: Vilyam-arutyunyan@mail.ru;

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», Красноярск

В условиях эксперимента на лабораторных животных моделью острой обтурационной толстокишечной непроходимости, проведено сравнительное исследование эффективности интероперационного лаважа просвета толстой кишки полиионными осмотически активными растворами разной осмолярности: от изоосмолярного (300 мосм/л) по отношению к осмолярности плазмы крови здорового животного до высоко гиперосмолярного, имеющего осмолярность 540 мосм/л. Эффективность оценивалась на основании регистрации изменений морфологической картины и микробного пейзажа в просвете толстой кишки. Забор материала для микробиологического исследования выполняли непосредственно при выполнении лаважа толстой кишки из первой и последней порций промывного раствора, материал для морфологического исследования забирался через 1 час после лаважа. При комплексной оценке полученных результатов, доказана эффективность раствора с осмолярностью 450 мосм/л, применение которого сопровождается положительной динамикой морфологической картины стенки толстой кишки и снижением массы условно патогенной микрофлоры в просвете толстой кишки.

Ключевые слова: экспериментальная острая декомпенсированная толстокишечная непроходимость, лаваж толстой кишки.

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF APPLICATION POLYION SOLUTION OSMOLARITY OF 450 MOSM / L LAVAGE LUMEN OF THE COLON IN ACUTE OBSTRUCTIVE BOWEL OBSTRUCTION

Arutyunyan V.R.¹, Ali-Riza A.E.¹, Sukhorukov A.M.², Kochetova L.V.¹,
Pozdnyakov A.A.¹, Popov A.E.¹, Pakhomova P.A.¹

¹Krasnoyarsk State Medical University professor V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, e-mail: Vilyam-arutyunyan@mail.ru;

²Federal State Budgetary Scientific Institution «Scientific Research Institute of medical problems of the North», Krasnoyarsk

Under the experimental conditions in the laboratory animal model of acute obstructive bowel obstruction, a comparative study of the effectiveness interoperational lavage of the colon lumen polyionic osmotically active solutions of varying osmolarity from iso-osmolar (300 mOsm/l) in relation to the healthy animal blood plasma osmolarity to highly hyperosmolar having osmolarity 540 mOsm/l. Efficacy was assessed on the basis of registration of changes and morphological picture of the microbial landscape in the lumen of the colon. Fence material for microbiological examination was performed directly in the implementation of lavage of the colon from the first and last portions of the wash solution, the material for morphological studies climb 1 hour after lavage. With a comprehensive assessment of the results proved the effectiveness of the solution with osmolarity of 450 mOsm/l, the use of which is accompanied by positive dynamics of morphological picture of the colon wall and a decrease in the mass of conditionally pathogenic microflora in the lumen of the colon.

Keywords: experimental acute decompensated bowel obstruction, lavage of the colon.

По данным Международного Агентства по Изучению Рака (IARC) и Всемирной Организации Здравоохранения (WHO) рак толстой кишки в общей структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями уступает лишь раку легкого у мужчин и раку молочной железы у женщин [3].

Декомпенсированная и субкомпенсированная обтурационная толстокишечная

кишечная непроходимость (ОТКН) является одной из наиболее актуальных проблем хирургии новообразований прямой и ободочной кишки, что связывают со скрытым течением рака данной локализации в 26–30 % случаев, при этом толстокишечная непроходимость становится первым клинически значимым проявлением заболевания [5; 7; 9]. Важно отметить, что если в плановой хирургии колоректального рака послеоперационная летальность колеблется на уровне 2,5–6 %, то при осложненных формах она достигает 20–60% [2; 4; 6].

Повышение внутрикишечного давления на фоне острой кишечной непроходимости последовательно ведет к нарушениям микроциркуляции в стенке кишки с ее ишемией и прогрессирование мэндотоксической реакции в результате абсорбции скапливающихся в просвете кишки продуктов распада и бактериальной транслокации. Вследствие этого, декомпрессия кишки с эвакуацией ее содержимого и лаваж просвета кишки являются одним из важнейших этапов лечения больных кишечной непроходимостью [1;8; 10].

Цель исследования: дать комплексную микробиологическую оценку промывных вод у экспериментальных животных с декомпенсированной обтурационной толстокишечной непроходимостью, сопоставить её с морфологической картиной стенки кишки при декомпенсированной ОТКН.

Материал и методы

Моделирование декомпенсированной ОТКН проводилось путем ушивания анального канала под местной анестезией у экспериментальных животных на период 48 часов. В исследование включены 50 беспородных кроликов. Подтверждением развития декомпенсированной непроходимости являлась типичная рентгенологическая картина толстокишечной непроходимости с присоединением тонкокишечной непроходимости и гастростаза. Все кролики с ОТКН были разделены на 5 серий – по 10 кроликов в каждой в соответствии с осмолярностью промывного раствора. Через 48 часов с момента создания модели лигатуры снимали, выполняли лапаротомию под общим наркозом, в просвет толстой кишки водили резиновый катетер и проводили отмывание содержимого. Использовали солевые растворы разной осмотической активности в количестве 250 мл на 1 кг массы животного: в первой серии – 10 кроликов без лаважа толстой кишки – контрольная группа; 4 серии – контрольные группы с лаважом растворами осмолярностью 300, 360, 450 и 540мосм/л. Заборы смывов на микрофлору проводили в стерильные пробирки из первых проб кишечного содержимого и из последней пробы промывного раствора.

Через 1 час после лаважа толстую кишку забирали для морфологического и морфометрического исследований.

Методика бактериологического исследования: после забора материал доставляли в лабораторию в течение двух часов в термобиксе и выполняли по стандартным методикам. С культур, выросших на средах, делали мазки со всех колоний и окрашивали по Грамму, затем подвергали микроскопии.

Материал для гистологического исследования готовился по стандартной методике изготовления парафиновых блоков. На роторном микротоме «Leica» из каждого фрагмента толстой кишки готовили ступенчатые срезы толщиной 5–6 мкм, 5–6 из которых окрашивали гематоксилином Маейера и эозином по методу Ван-Гизона пикрофуксином и по методу Крейберга на слизь. Светооптическое исследование и фотографирование микропрепаратов осуществляли на микроскопе «AxioStar» (Германия) при увеличении (x100 и x400). Для определения количественных показателей патологического процесса использовали морфометрию. Морфометрическое исследование микропрепаратов толстой кишки проводили при помощи программы «Image J 1.48 v».

Для количественной оценки патоморфологических изменений в толстой кишке определяли следующие параметры: – толщину стенки кишки (мм); – отношение толщины стенки кишки к толщине её слизистой оболочки (мм); – определение численной плотности клеток внеклеточного матрикса слизистой оболочки (689x516,2 мкм). Степень выраженности отека всей стенки кишки и её слизистой оболочки определяли полуколичественным методом по 3-м степеням.

Результаты и их обсуждение

При декомпенсированной (48 часов) ОТКН в слизистой оболочке отмечали выраженный отек внеклеточного матрикса наряду со значительной диффузной лейкоцитарной и лимфоплазмочитарной инфильтрацией. В поверхностных отделах слизистой оболочки в зонах некрозов наблюдали формирование единичных эрозий и крипт-абсцессов. При окраске на слизь отмечали неравномерное окрашивание эпителиоцитов крипт и малочисленное окрашивание эпителиоцитов поверхностного эпителия. Подслизистая оболочка значительно отечная, неравномерно инфильтрирована сегментоядерными лейкоцитами и плазматическими клетками. Гладкие миоциты в мышечной оболочке расположены компактно. Кровеносные сосуды всех оболочек умеренного кровенаполнения. Имеется выраженный отек серозной оболочки.

В группе животных с моделью 48-часовой ОТКН и лаважом толстой кишки раствором осмолярностью 300 мосм/л микроскопическое исследование показало, что в слизистой оболочке отмечается выраженный отек внеклеточного матрикса в сочетании с выраженной инфильтрацией сегментоядерными лейкоцитами и плазматическими клетками равномерного характера. Выявляли малочисленные лимфоидные фолликулы, представленные зрелыми

лимфоцитами. Структура эпителиоцитов слизистой оболочки была сохранена. Среди эпителиоцитов преобладали бокаловидные клетки. При окраске на слизь отмечали резко положительное окрашивание апикальных концов эпителиоцитов крипт, при этом со стороны поверхностного эпителия положительно окрашиваются единичные клетки. Подслизистая оболочка была с морфологическими признаками выраженного отека, диссоциацией волокон, плазмоцитарной инфильтрацией. Гладкомышечные клетки располагались компактно. Просветы сосудов слизистой, подслизистой и мышечной оболочек были, в большинстве своем, запустевшими. Серозная оболочка имела морфологические признаки слабо выраженного отека. Клеточный компонент был представлен вытянутыми клетками со скудной цитоплазмой.

В группе животных с моделью 48-часовой ОТКН и лаважом раствором 360 мосм/л при микроскопическом исследовании показало, что в слизистой оболочке толстой кишки отмечался слабо выраженный отек внеклеточного матрикса в сочетании со слабо выраженной инфильтрацией сегментоядерными лейкоцитами и макрофагами, особенно в её базальных отделах. Общая структура эпителиоцитов слизистой оболочки была сохранена. Подслизистая оболочка была слабо отечная, представлена компактно расположенными волокнами. Гладкие миоциты в мышечной оболочке были расположены тоже компактно, формируя два слоя. Сосуды слизистой, подслизистой и мышечной оболочек были малокровны, с запустевшими просветами. Серозная оболочка была слабо отечная, клеточный компонент был представлен вытянутыми клетками со скудной цитоплазмой. Брыжейка была с признаками слабо выраженного отека, соединительнотканый компонент был скуден, воспалительная клеточная инфильтрация не определялась

У кроликов после моделирования 48 часовой ОТКН и лаважом раствором 450 мосм/л при микроскопическом исследовании были выявлены следующие морфологические изменения: общая структура эпителиоцитов слизистой оболочки была сохранена, отмечали слабый отек внеклеточного матрикса в сочетании со слабо выраженной инфильтрацией сегментоядерными лейкоцитами и макрофагами.

При окраске на слизь отмечали положительное окрашивание апикальных концов эпителиоцитов крипт. Подслизистая оболочка была слабо отечной и представлена компактно расположенными волокнами. Гладкие миоциты в мышечной оболочке расположены компактно, формировали поперечный и продольный слои. Серозная оболочка выглядела слабо отечной, клеточный компонент был представлен вытянутыми клетками со скудной цитоплазмой. Прилегающая брыжейка была с морфологическими признаками умеренного отека.

В группе 5 животных после моделирования 48 часовой ОТКН лаваж толстой кишки

раствором 540 мосм/л микроскопическое исследование показало, что со стороны внеклеточного матрикса собственной пластинки слизистой отмечался выраженный отек, а также выраженная и равномерная инфильтрация сегментоядерными лейкоцитами и плазматическими клетками. При окраске на слизь отмечали резко положительное и неравномерное окрашивание апикальных концов эпителиоцитов крипт, при этом со стороны поверхностного эпителия положительно окрашивались единичные клетки. Подслизистая оболочка была резко отечная, с дисконплексацией волокнистых структур. Отмечалась выраженная воспалительная клеточная инфильтрация подслизистой оболочки сегментоядерными лейкоцитами, лимфоцитами и плазматическими клетками. Внеклеточный матрикс мышечной оболочки был отечен, неравномерно и умеренно инфильтрирован сегментоядерными лейкоцитами и плазматическими клетками. Гладкие миоциты мышечной оболочки были организованы соответствующим образом, формируя два слоя – поперечный и продольный. Отмечали слабо выраженную воспалительную инфильтрацию. Кровеносные сосуды слизистой оболочки были полнокровны, в остальных слоях стенки кишки отмечалось умеренное кровенаполнение сосудов.

При морфометрическом анализе параметров воспалительного процесса в толстой кишке на фоне лаважа растворами различной осмолярности, получены следующие значения (рис. 1 и 2).

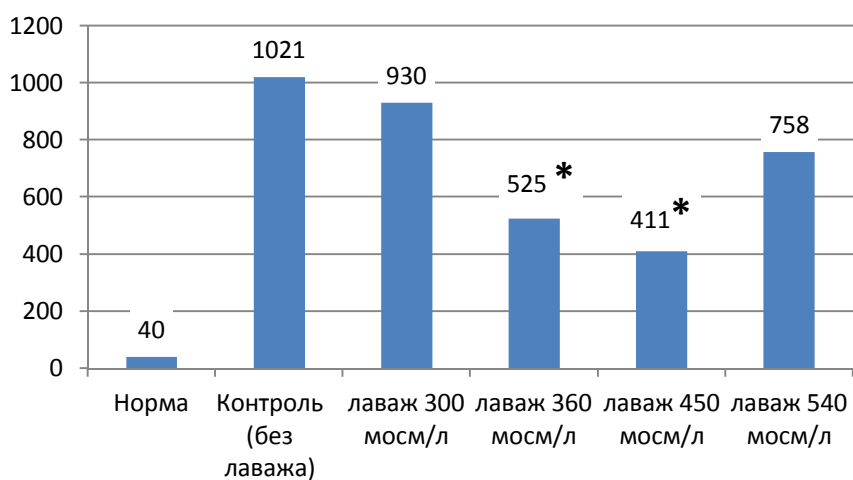


Рис. 1. Численная плотность инфильтрата (мм²) стенки толстой кишки спустя 48 часов после моделирования ОТКН, через 1 час после устранения непроходимости. (– $P < 0,05$ в сравнении с контрольным значением)*

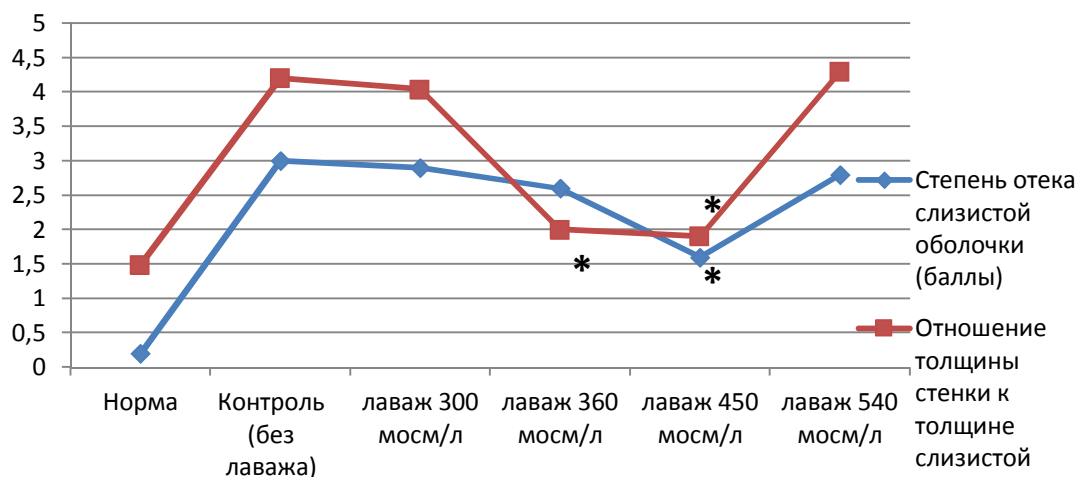


Рис. 2. Морфометрическая характеристика отека стенки толстой кишки спустя 48 часов после моделирования ОТКН, через 1 час после устранения непроходимости. (* – $P < 0,05$ в сравнении с контрольным значением)

Анализ динамики количественных морфометрических показателей толстой кишки у кроликов с ОТКН (через 1 час после лаважа) выявил, что развитие декомпенсированной непроходимости приводило к достоверному увеличению отека слизистой оболочки толстой кишки, увеличению численной плотности воспалительного клеточного инфильтрата и увеличению общей толщины стенки толстой кишки.

При лаваже раствором 300 мосм/л выявлена тенденция к уменьшению плотности клеточной инфильтрации слизистой оболочки (по сравнению с контролем на 8,9 %, $P > 0,05$), а при санации раствором 360 мосм/л – значения показателя сокращались (по сравнению с контролем) в 1,9 раза ($P < 0,01$). При осмолярности раствора 450 мосм/л плотность клеточной инфильтрации уменьшалась (по сравнению с контролем) в 2,48 раза ($P < 0,01$), а при осмолярности 540 мосм/л – уменьшалась только в 1,34 раза, $P > 0,05$ (рис. 1).

Оценивая степень отека слизистой оболочки толстой кишки (рис. 2), следует отметить, что максимальное значение – 3,0 балла зарегистрировано у животных без лаважа просвета толстой кишки; эвакуация кишечного содержимого с отмыванием просвета вело к уменьшению отека слизистой. В зависимости от осмотической активности, отек уменьшался в неодинаковой степени, при этом наилучший результат был зафиксирован на фоне применения раствора с осмолярностью 450 мосм/л, со снижением оценки отека слизистой оболочки кишки до $1,6 \pm 0,5$ балла ($P < 0,01$).

Количественное содержание показателей микрофлоры толстой кишки после лаважа её просвета прямо коррелировало с осмолярностью промывного раствора (рис. 3). Максимально высокие значения содержания представителей кишечной микрофлоры (до 10^{12}) были выявлены у животных контрольной группы. При такой концентрации микроорганизмов в просвете кишки, на фоне увеличивающейся зоны нарушений микроциркуляции в стенке,

значительно возрастает риск массивной бактериальной транслокации и развития воспалительной инфильтрации в стенке кишки.

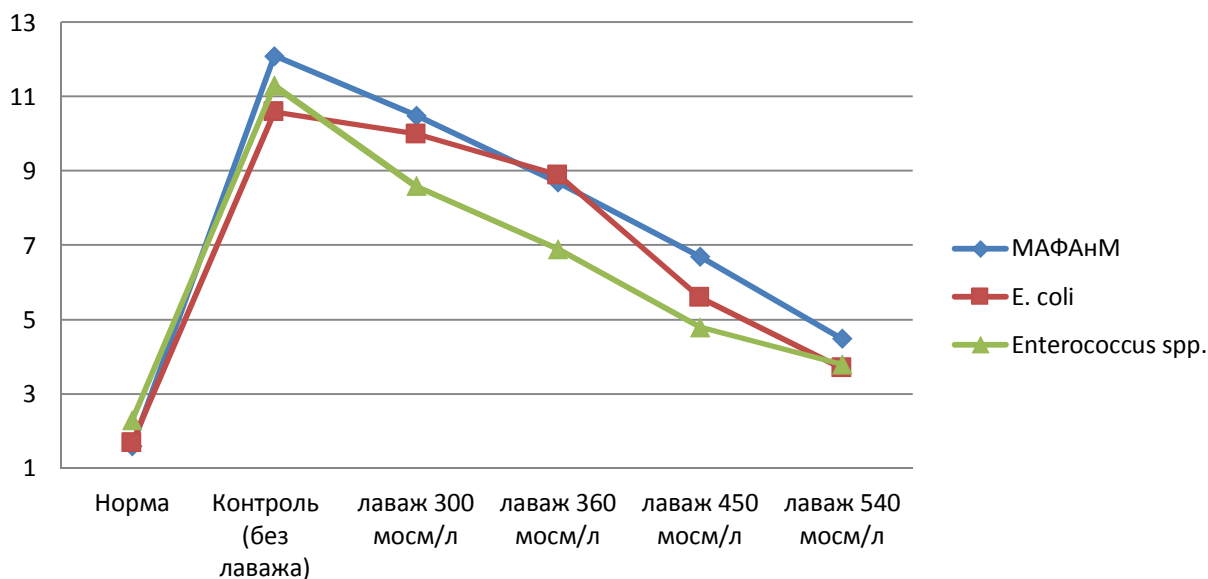


Рис. 3. Значения \log_{10} МЧ (микробного числа) в последней порции промывного раствора при лаваже толстой кишки (через 48 часов после моделирования ОТКН)

Следует отметить, что наиболее значительным было содержание микрофлоры в последних порциях растворов с осмолярностью 300 мосм/л (снижение только на 2–3 порядка), а самым низким – при лаваже 540 мосм/л (снижение на 6–8 порядков). Очевидно, что чем выше концентрация микрофлоры в кишечном содержимом (при продолжительной экспозиции ОТКН), тем выше должна быть осмолярность промывного раствора. Однако для подбора оптимального значения осмотической активности раствора, применяемого для лаважа кишки, необходимо учитывать степень его воздействия на кишечную стенку.

Таким образом, проведение интраоперационного лаважа толстой кишки при декомпенсированной ОТКН сопровождается значительным снижением внутрипросветного уровня микрофлоры и уменьшением отека слизистой и снижением воспалительной реакции в стенке толстой кишки.

Выводы:

1. Прогрессирование ОТКН сопровождается резким ростом массы микрофлоры в просвете толстой кишки, параллельно с развитием некробиотических и воспалительных процессов в стенке кишки.
2. Лаваж толстой кишки приводит к значительному снижению бактериальной массы в просвете кишки и уменьшению активности воспалительного процесса в её стенке.
3. Осмолярность промывного раствора является существенным фактором, влияющим

как на морфологическое состояние стенки толстой кишки, так и на количественный уровень микрофлоры в просвете толстой кишки. При оценке комплексного воздействия на эти факторы, наиболее оптимальной осмолярностью промывного раствора следует считать величину 450 мосм/л.

Список литературы

1. Алиев С.А. Хирургическая тактика при обтурационной опухолевой непроходимости ободочной кишки у больных с повышенным операционным риском / С.А. Алиев, А.А. Ашраф // Вестн. хирургии им. И. И. Грекова. – 1997. – № 1. – С. 46–49.
2. Александров Н.А. Неотложная хирургия при раке толстой кишки / Н.А. Александров, М. И. Лыткин, В. П. Петров. – Минск : Беларусь, 1980. – 170 с.
3. Актуальные проблемы хирургической реабилитации больных колоректальным раком / В.И. Есин, Д.Г. Мустафин, Р.Д. Мустафин [и др.] // Астраханский мед. журн. – 2009. – № 4. – С. 85–86.
4. Воробьев Г.И. Обтурационная непроходимость толстой кишки / Г.И. Воробьев // Врач. – 1997. – № 10. – С. 9–12.
5. Злокачественные новообразования в России в 1993–2002 гг. / В.В. Старинский, Г.В. Петрова, О.П. Грецова [и др.] // Материалы VIII онкологического конгресса. – М., 2004. – С. 105.
6. Подловченко Т.Г. Рак левой половины ободочной кишки, осложненный кишечной непроходимостью / Т.Г. Подловченко, Г.В. Пахомова // Проблемы колопроктологии: сб. статей. – М., 2002. – Вып. 18. – С. 392–394.
7. Современные подходы к лечению больных с острой опухолевой толстокишечной непроходимостью / А.С. Петров, Г.И. Синениченко, С.Ю. Дворецкий [и др.] // Ученые записки Санкт Петербургского гос. мед. ун-та им. акад. И.П. Павлова. – 2012. – № 1. – С. 118–120.
8. Штрапов А.А. Энтеральная дезинтоксикация у больных с перитонитом и кишечной непроходимостью / А.А. Штрапов, Н.В. Рухляда // Вестн. хирургии им. И. И. Грекова. – 1986. – № 5. – С. 32–34.
9. Яицкий Н.А. Опухоли толстой кишки / Н.А. Яицкий, В.М. Седов, С.В. Васильев. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 372 с.
10. Boyle N.H. Intraoperative assessment of colonic perfusion using scanning laser flowmetry during colonic resection / N.H. Boyle, D. Manifold, M.H. Jordan // J. Am. Coll. Surg. – 2000. – Vol. 191, № 5. – P. 504–510.