

СВЕЧЕНИЕ БИОПАТОВ УЧАСТКОВ ТОНКОЙ КИШКИ В ВЫСОКОЧАСТОТНОМ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОМ ПОЛЕ НА МОДЕЛИ НЕКРОТИЧЕСКОГО ЭНТЕРОКОЛИТА

Колесников Е.Г.¹, Тараканов В.А.¹, Абушкевич В.Г.¹, Шамик В.Б.², Стрюковский А.Е.¹,
Старченко В.М.¹

¹ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Краснодар, e-mail: hirurgia@inbox.ru;

²ФГБОУ ВО Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: prof.shamik@gmail.com

Цель: анализ визуализации биоптатов здорового, паранекротического и некротического участков тонкой кишки кошки в высокочастотном электромагнитном поле (ВЭМП). Эксперимент выполнен на 30 беспородных кошках. Под наркозом вскрывали брюшную полость, определяли локализацию и протяженность сегмента кишки, участвующего в эксперименте. Осуществляли забор материала для контрольной группы (n=30), кишку герметизировали швами. Перевязывали сосуды терминального отдела подвздошной кишки. У первой группы кошек (n=16) через 6 часов макроскопические изменения кишки идентифицировали как паранекроз. Резецировали участки здоровой и паранекротической кишки. Биоптаты помещали на газоразрядную камеру КЭЛСИ, создающую ВЭМП (1024 Гц), и снимали ави фильм, определяя яркость свечения, спектр длины волн и площадь свечения. Проводили гистологическое исследование препаратов кишки. У второй группы кошек (n=14) через 12 часов макроскопические изменения кишки соответствовали некрозу. Алгоритм исследования был таким же. Полученные сведения обрабатывали программой «STATISTIKA 6,0». Биоптат здорового участка тонкой кишки в ВЭМП имел только краевое свечение. Биоптат паранекротического участка в ВЭМП имел также и внутреннее свечение. Общая яркость свечения была выше на 7,1%. Гистограмма длины волн свечения имела максимум в диапазоне длинных волн. Там же находилась медиана длины волн свечения, которая была на 19,1% выше, чем в контрольной группе. Некротический участок в ВЭМП светился и по краям, и в толще кишки. Гистограмма яркости свечения имела двугорбый характер. Общая яркость свечения была на 40,7% выше, чем в первой группе. При моделировании паранекроза и некроза возникает краевое и внутреннее свечение в толщине патологического участка кишки. При переходе паранекроза в некроз зона внутреннего свечения увеличивается. Повышается яркость свечения биоптата, отмечается смещение диапазона свечения в сторону большей длины волны.

Ключевые слова: модель, некротический энтероколит, свечение кишки, высокочастотное электрическое поле

GLOWING OF BIOPSTATS OF GUT PLOTS IN HIGH-FREQUENCY ELECTROMAGNETIC FIELD ON A MODEL OF NECROTIC ENTEROCOLITIS

Kolesnikov E.G.¹, Tarakanov V.A.¹, Abushkevich V.G.¹, Shamik V.B.², Stryukovskiyy A.E.¹,
Starchenko V.M.¹

¹Kuban State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Krasnodar, e-mail: hirurgia@inbox.ru;

²Rostov State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, e-mail: prof.shamik@gmail.com

Aim: analysis of visualization of biopsy specimens of healthy, paranecrotic and necrotic sections of a cat's intestine in a high-frequency electromagnetic field (HFEMF). The experiment was performed on 30 mongrel cats. Under general anesthesia, the abdominal cavity was opened, the localization and extent of the segment of the intestine participating in the experiment were determined. Material was sampled for the control group (N = 30), the gut was sealed with sutures. Tied up the vessels of the terminal ileum. In the first group of cats (n = 16) after 6 hours, macroscopic changes in the intestine were identified as paranecrosis. Areas of healthy and paranecrotic intestine were resected. The biopsy specimens were placed on a KELSI gas discharge chamber, creating a HFEMF (1024 Hz), and an avi film was shot, determining the brightness of the glow, the spectrum of wavelengths and the area of the glow. Conducted histological examination of drugs of the intestine. In the second group of cats (n = 14), after 12 hours, the macroscopic changes in the intestine corresponded to necrosis. The research algorithm was the same. The obtained information was processed by the program STATISTIKA 6.0. The biopsy specimen of a healthy part of the intestine in HFEMF had only a marginal glow. The biopsy of the paranecrotic site in the HFEMF also had an internal luminescence. The overall brightness of the glow was 7.1% higher. The histogram of the wavelength of the glow had a maximum in the range of long waves. There was also a median luminescence wavelength, which was 19.1% higher than in the control group. The necrotic site in

HFEMF shone both along the edges and in the depth of the intestine. The histogram of the brightness of the glow had a double-humped character. The overall brightness of the glow was 40.7% higher than in the first group. When modeling paranecrosis and necrosis, edge and internal luminescence occurs in the thickness of the pathological section of the intestine. When paranecrosis goes into necrosis, the zone of internal luminescence increases. The luminance of the biopsy and the luminescence range shift towards a longer wavelength increase.

Keywords: model, necrotizing enterocolitis, glow of the intestine, high-frequency electric field

Некротический энтероколит – тяжелое заболевание новорожденных [1]. Прижизненная оценка границ некроза кишки имеет большую актуальность, поскольку определяет объем резекции кишки. Субъективные сомнения в жизнеспособности участка кишки решаются в пользу резекции [2]. Неудаление некротического участка кишки в последующем приведет к развитию перитонита. В то же время необоснованная резекция жизнеспособной кишки приводит к энтеральной недостаточности [3].

Методы оценки жизнеспособности кишки, основанные на визуальной диагностике (некротический участок имеет темную окраску, тусклость серозной оболочки, дряблую и истонченную стенку, отсутствуют перистальтика кишки и пульсация сосудов брыжейки) являются субъективными, и ориентация только на них может привести к неправильной оценке витальных свойств органа [4].

Существуют инструментальные способы определения жизнеспособности кишки, такие как пигментная и трансиллюминационная вазоскопия, измерение амплитуды пульсовых осцилляций, определение тканевой оксигенации участка кишки, изменения pH серозного и слизистого слоев кишки, исследование энзиматических маркеров некроза кишечной стенки, локальная термометрия, лапароскопия, флюоресцентный метод, лазерная доплеровская флоуметрия, компьютерная томография. Наряду с преимуществами эти методы имеют недостатки: для одних требуется большая продолжительность определения, другие недостаточно информативны, неспецифичны, третьи высокочувствительны или технически сложны и требуют наличия высокоточного медицинского оборудования и высококвалифицированного медицинского персонала [4].

Биофизические способы определения жизнеспособности кишки, основанные на регистрации биоэлектрической активности участков кишки (биоимпедансометрия), не обладают достаточной информативностью [5]. Поэтому актуальной является разработка метода оценки жизнеспособности участков кишки, который был бы объективным, простым, информативным, общедоступным и недорогим. Таким способом может явиться визуализация свечения патологически измененного (некротического, паранекротического) участка кишки в высокочастотном электромагнитном поле (ВЭМП).

Для апробации предлагаемого метода нами была использована модель некроза участка кишки, нарушение кровоснабжения в которой достигается путем перевязки нескольких

сосудов брыжейки. В результате развиваются паранекротические изменения в стенке кишки с последующим переходом в некроз вовлеченного в патологический процесс участка, перфорацией и развитием перитонита [6]. Эта модель полностью соответствует современным представлениям о патогенезе развития некротического энтероколита по гемодинамическому варианту, когда при прогрессирующем течении заболевания возникают ишемические некрозы слизистой оболочки кишечника [7].

Целью исследования явился анализ визуализации биоптатов здорового, паранекротического и некротического участков кишки экспериментальных животных в высокочастотном электромагнитном поле.

Материал и методы исследования. Наблюдения были выполнены на 30 экспериментальных животных (беспородных кошках) весом $3,0 \pm 0,5$ кг, которые были разделены на три группы: контрольная и две основные. Все исследования проведены в соответствии с Приказом № 755 от 12.08.1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» и «Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с использованием животных», разработанными и принятыми Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS), и одобрены локальным независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Накануне оперативного вмешательства проводилась подготовка животного: дегельминтизация, отмена кормления и премедикация. Оперативное вмешательство выполнялось на следующий день под наркозом (тиопентал натрия 60 мг/кг) с проведением сопутствующей инфузионной терапии. Срединным разрезом послойно вскрывали брюшную полость, определяли локализацию (терминальный отдел подвздошной кишки) и протяженность сегмента кишки, участвующего в эксперименте. Осуществляли забор материала (участок подвздошной кишки длиной 1 см) для контрольной группы (n=30), после чего кишку герметизировали швами. Выполняли визуализацию биоптатов участков здоровой кишки в газоразрядной камере КЭЛСИ, создающей высокочастотное электромагнитное поле (1024 Гц). Результаты записывали в виде avi фильма с определением яркости свечения, спектра длины волн, площади свечения и сохраняли их на электронном носителе. Полученный материал отправляли на гистологическое исследование.

Далее перевязывали аркадные и краевые сосуды брыжейки выбранного участка шелковыми лигатурами. По изменению цвета кишечной стенки судили об изменении в ней кровотока, после чего кишку погружали в брюшную полость, а операционную рану послойно ушивали.

У первой группы кошек (n=16) через 6 часов осуществляли релапаротомию и визуально оценивали макроскопические изменения участка кишки, лишенного кровоснабжения. Во всех случаях наблюдаемые нами изменения идентифицировали как паранекроз. Далее осуществляли резекцию участка здоровой и участка измененной кишки. Целостность кишки восстанавливали путем наложения прямого анастомоза, послойно ушивали операционную рану. Полученные биоптаты тонкой кишки тотчас помещали на газоразрядную камеру КЭЛСИ и снимали avi фильм, определяя яркость свечения, спектр длин волн и площадь свечения. Проводили гистологическое исследование биоптатов кишки. Изготавливали и окрашивали гистологические препараты тонкой кишки с последующим их исследованием по следующей методике: фиксировали морфологический препарат в забуференном 10%-ном растворе формалина в течение суток. Затем в гистопроцессоре замкнутого типа Tissue-Tek, Sakura (Япония) проводили обезвоживание и заливали материал в парафин с последующим изготовлением срезов толщиной 3–4 мкм. В автоматическом мультитейнере Tissue-TekPrism (Япония) срезы окрашивали гематоксилин-эозином и проводили их морфологическую оценку с использованием светового микроскопа «МББ 1А» при увеличении 400х.

У второй группы кошек (n=14) через 12 часов макроскопические изменения кишки соответствовали некрозу. Алгоритм исследования был таким же.

При помощи компьютерной программы «STATISTIKA 6,0» определяли нормальность распределения и использовали параметрические методы. Определяли М – среднюю арифметическую и SD – среднее квадратичное отклонение. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Биоптат здорового участка тонкой кишки кошки (рисунок, фрагмент 2) в высокочастотном электромагнитном поле имел только краевое свечение (эффект Кирлиана) (рисунок, фрагмент 1, таблица). Гистологический анализ биоптата (рис. 1, фрагмент 3) показал, что все слои стенки кишки сохранены и четко видны: слизистая тонкой кишки представлена эпителием (синяя стрелка) и собственной пластинкой слизистой (красная стрелка). Серозная оболочка не изменена, без наложений.

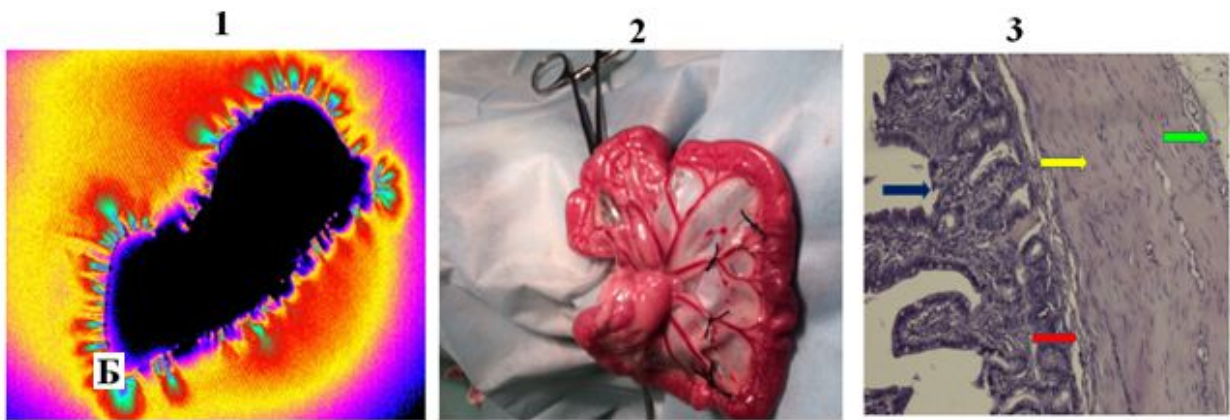
Через 6 часов после перевязки сосудов брыжейки (рисунок, фрагмент 5) развивались паранекротические изменения кровоснабжаемого этими сосудами участка тонкой кишки. Гистологическая картина соответствовала макроскопическим изменениям: эпителий тонкой кишки с лейкоцитарной инфильтрацией (синяя стрелка), отек собственной пластинки слизистой (красная стрелка); полнокровие сосудов серозного слоя со слабо выраженной лейкоцитарной инфильтрацией (зеленая стрелка) и единичными пристеночными лейкоцитами в просвете сосудов (желтая стрелка). Дифференцировка слоев стенки кишки не

нарушена (рисунок, фрагмент 6). Биоптат паранекротического участка тонкой кишки кошки в ВЭМП наряду с краевым имел и внутреннее свечение в толще кишки (рисунок, фрагмент 4). Общая яркость свечения превышала таковую при биоптате здорового участка кишки на 7,1%. Гистограмма длины волн свечения биоптата паранекротического участка тонкой кишки кошки имела максимум в диапазоне более длинных волн. Там же находилась медиана длины волн свечения, которая на 19,1% превышала таковую свечения биоптата здорового участка тонкой кишки кошки (таблица).

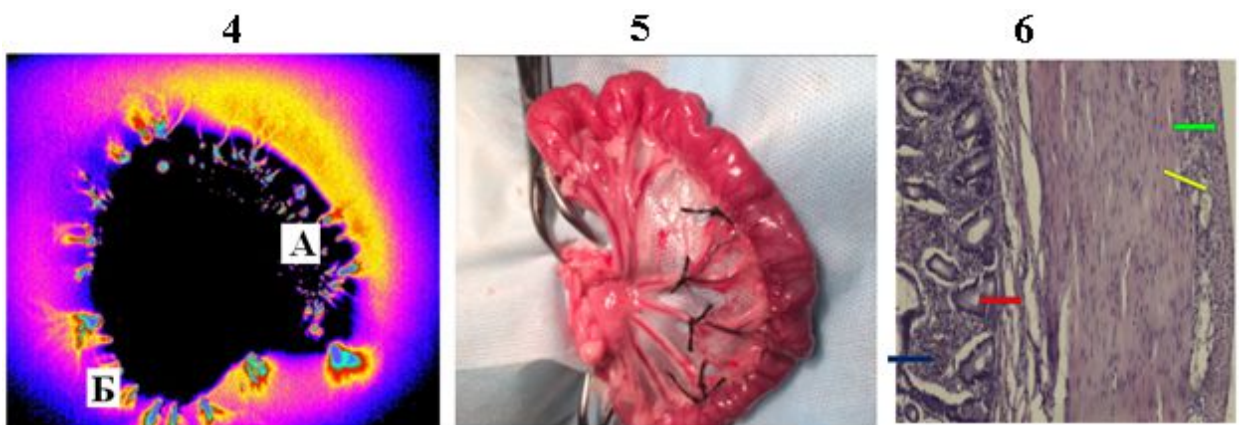
Параметры свечения биоптатов кишки кошки (M±SD)

Параметры	Здоровый участок n=30	Паранекроз n=16	Некроз n=14
	1	2	3
Длина биоптата (мм)	3,2±1,1	3,0±1,2 P ₁ >0,05	3,1±0,7 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05
Наружный диаметр биоптата (мм)	0,6±0,6	0,7±0,4 P ₁ >0,05	0,6±0,4 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05
Внутренний диаметр биоптата (мм)	0,3±0,6	0,3±0,4 P ₁ >0,05	0,3±0,4 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05
Площадь очага свечения (мм ²)	-	102,0±21,6	134,3±14,8 P ₂ <0,001
Общая яркость свечения (бит)	126,0±16,5	135,0±10,4 P ₁ <0,05	190,0±17,4 P ₂ <0,001 P ₃ <0,001
Наибольшая яркость свечения (бит)	-	79,0±4,0	81,7±3,3 P ₂ >0,05
Нижняя граница диапазон длины волн (нм)	404,2±1,1	404,4±0,8 P ₁ >0,05	411,6±5,2 P ₂ <0,001 P ₃ <0,001
Верхняя граница Диапазон длины волн (нм)	646,2±1,7	645,8±1,2 P ₁ >0,05	642,3±3,3 P ₂ >0,05 P ₃ >0,05
Диапазон длины волн (нм)	242,0±3,3	241,4±1,6 P ₁ >0,05	230,7±7,8 P ₂ <0,001 P ₃ <0,001
Медиана (нм)	470,0±48,9	560,0±18,4 P ₁ <0,001	585,7±13,0 P ₂ <0,001 P ₃ <0,001

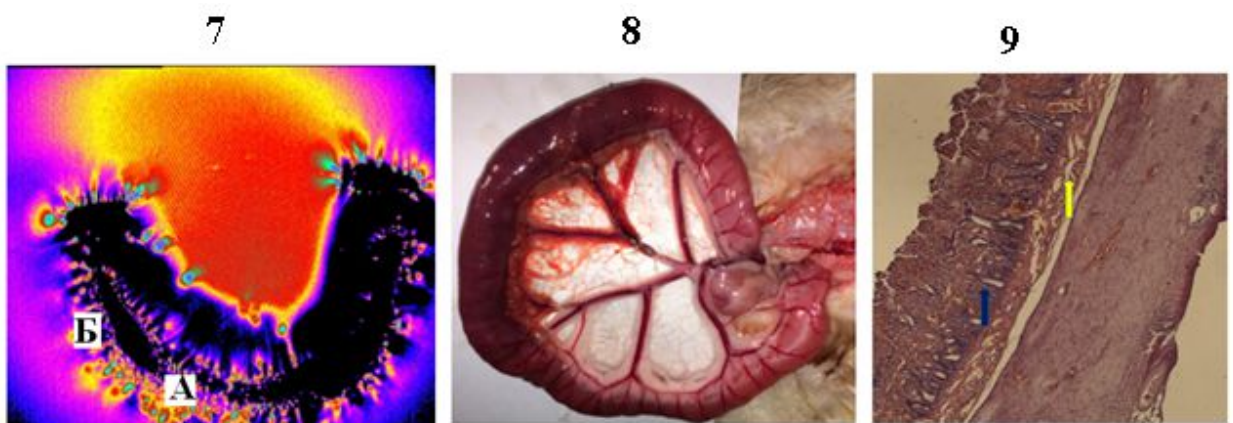
Примечание. P₁ – показатель достоверности между данными столбцов 1 и 2; P₂ – между 2 и 3; P₃ – между 1 и 3.



Здоровый участок тонкой кишки



Участок кишки через 6 часов после перевязки артерий (паранекроз)



Участок кишки через 12 часов после перевязки артерий (некроз)

*Внутреннее (А) и краевое (Б) свечение биоптатов тонкой кишки кошки в исходном состоянии (фрагмент 1), на модели паранекроза (фрагмент 4) и некроза (фрагмент 7).
 Фрагмент 2 – биоптат здорового участка кишки; фрагмент 3 – микропрепарат здорового участка кишки; фрагмент 5 – биоптат кишки при паранекрозе; фрагмент 6 – микропрепарат кишки при паранекрозе; фрагмент 8 – биоптат кишки при некрозе; фрагмент 9 – микропрепарат кишки при некрозе*

Через 12 часов после перевязки сосудов брыжейки развивался некроз участка тонкой кишки (рисунок, фрагмент 7). Гистологический анализ биоптата (рисунок, фрагмент 9) показал наличие некроза: десквамация эпителия и изъязвления слизистой тонкой кишки (синяя стрелка), полнокровие сосудов и кровоизлияния в собственной пластинке слизистой (желтая стрелка), деструктурирование оболочек кишечной стенки. Биоптат некротического участка тонкой кишки экспериментального животного в ВЭМП светился по краям (краевое свечение) и в толще кишки (внутреннее свечение) (рисунок, фрагмент 8, таблица). Гистограмма яркости свечения имела двугорбый характер: один горб отражал краевое, а другой – внутреннее свечение. Общая яркость свечения превышала таковую участка с паранекрозом на 40,7%. Гистограмма длины волн свечения биоптата некротического участка тонкой кишки кошки также имела максимум в диапазоне более длинных волн. Там же находилась медиана длины волн свечения.

Заключение. При помещении биоптатов здоровой кишечной стенки экспериментального животного в ВЭМП выявлено только краевое свечение (эффект Кирлиана). При исследовании биоптатов кишки с паранекрозом в высокочастотном электромагнитном поле через 6 часов после перевязки мезентериальных сосудов, помимо краевого, зафиксировано появление еще и внутреннего свечения. Мезентериальная ишемия в течение 12 часов привела к некрозу кишки, при этом отмечены увеличение зоны внутреннего свечения в ВЭМП, повышение яркости свечения биоптатов и смещение диапазона свечения в сторону большей длины волны. При паранекрозе и некробиозе наблюдаются дистрофические изменения, характеризующиеся преобладанием катаболических реакций над анаболическими, которые протекают с высвобождением энергии. Это высвобождение энергии усиливается высокочастотным электромагнитным полем, что и проявляется очагами свечения в этих участках. При некрозе энергии выделяется больше, и внутреннее свечение, как следствие, будет сильнее.

Таким образом, факт выявляемой разницы свечения в ВЭМП участков паранекроза и некробиоза является диагностически значимым в определении границ резекции нежизнеспособной кишки.

Список литературы

1. Нестеров М.И., Рамазанов М.Р., Рамазанов М.М., Алиев Э.А. Интраоперационная оценка жизнеспособности кишки при острой кишечной непроходимости // Казанский медицинский журнал. 2015. Т. 96. № 2. С. 161-165.
2. Карпова И.Ю. Некротический энтероколит у новорожденных: клиника, диагностика и

лечение // Современные технологии в медицине. 2012. № 2. С. 138-143.

3. Siddiqua T., Easley D., Thomas S. et al. Visual diagnosis: a small bowel obstruction. *Pediatrics in review*. 2009. vol. 30. no. 12. P. 486-490.

4. Родин А.В., Плешков В.Г. Интраоперационная оценка жизнеспособности кишки при острой кишечной непроходимости // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2016. Т. 15. № 1. С. 75-82.

5. Родин А.В., Плешков В.Г., Леонов С.Д., Баженов С.М. Диагностические возможности биоимпедансометрии при острой кишечной непроходимости в эксперименте // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013. Т. 155. № 6. С. 776-779.

6. Тихонова Н.Б., Серебряков С.Н., Матевосян К.Ш., Алексанкин А.П., Кадыкова Н.А., Алексанкина В.В., Козловский Ю.Е., Макарова О.В. Экспериментальные модели некротизирующего энтероколита новорожденных // Клиническая и экспериментальная морфология. 2014. Т. 4. № 12. С. 58-62.

7. Разин М.П., Галкин В.Н., Сухих Н.К., Батуров М.А., Лизин К.А. Новые возможности оптимизации диагностических и лечебных мероприятий у новорожденных с некротическим энтероколитом на современном этапе // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. Т. 5. № 11. С. 840-842.