УДК 612.017.1: 616.3-005.6

Намоконов Е.В., Артамонова З.А., Терешков П.П., Обыденко В.И.

К ВОПРОСУ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТРОЙ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОЙ ИШЕМИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита

Резюме. *Выполнено исследование на 24 самцах белых беспородных крыс массой 0,2-0,22 кг с целью изучения лимфограммы крови на различных стадиях острой артериальной мезентериальной ишемии в эксперименте. Ишемия достигалась путем перевязки краниальной брыжеечной артерии у основания корня брыжейки. Все животные разделены на 3 группы, кровь на иммунограмму у животных забирали до перевязки, и затем через 2, 6, и 8 часов в каждой группе соответственно. Установлено, что с первых часов окклюзии краниальной брыжеечной артерии в общем кровотоке прогрессивно снижается общее число лимфоцитов, в основном за счет снижения B- cells и NK- cells. При этом наибольшее снижение числа лимфоцитов наблюдалось в некротическую стадию заболевания (p<0,05). Результаты исследования свидетельствуют о том, что прогрессивное снижение количества лимфоцитов центральной венозной крови у животных подтверждает течение острой артериальной мезентериальной ишемии и может являться фактором неблагоприятного исхода заболевания.*

Ключевые слова: *острая артериальная мезентериальная ишемия, лимфограмма, диагностика.*

Namokonov E.V., Artamonova Z.A., Tereshkov P.P., Obydenko V.I.

ON THE ISSUE OF EARLY DIAGNOSIS OF ACUTE ACUTE MESENTERIC ISCHEMIA IN EXPERIMENT

Summary. *The investigation of 24 male albino rats weighing 0,2-0,22 kg. limfogrammy to examine correlation with the blood in the gut morphological changes in different stages of acute arterial ischemia, mesenteric experiment. Ischemia was achieved by ligation of the cranial mesenteric artery at the base of the root of the mesentery. All animals were divided into 3 groups immunogram blood were taken from the animals before ligation, and then after 2, 6, and 8 hours in each group, respectively. It was established that the first hours of the cranial mesenteric artery occlusion in the general circulation is progressively reduced the total number of lymphocytes, mainly due to the decrease in B cells and NK- cells. The largest decrease in the number of lymphocytes was observed in necrotic stage of the disease (p <0.05). Results of the study indicate that the progressive reduction in the number of lymphocytes central venous blood in animals confirmed for acute arterial mesenteric ischemia and may be a factor in the adverse outcome.*

Key words: *acute arterial mesenteric ischemia, limfogramma, diagnosis.*

Введение. Острое нарушение мезентериального кровообращения (острая мезентериальная ишемия, ОМИ) – одна из наиболее сложных проблем в хирургии, так как одной из причин высокой летальности является трудность ранней диагностики на госпитальном этапе. [1, 3, 4, 6, 7, 8].

Известно, что лимфоидная ткань, связанная со слизистыми желудочно-кишечного тракта – самый большой по объему отдел единой иммунной системы организма [2]. Именно поэтому острое нарушение брыжеечного кровообращения уже в ранние сроки может приводить к изменению в лимфоидной системе организма, что отразится на показателях иммунной системы. Изучение патофизиологических реакций, развивающихся при ОМИ, с последующим созданием новых способов диагностики и методов лечения данной патологии является актуальной проблемой хирургии [3, 5, 7, 8] .

Целью нашего исследования являлось изучение лимфограммы крови и морфологической структурой стенки кишки при различных стадиях острой артериальной мезентериальной ишемии в эксперименте.

Материалы и методы. В соответствии с поставленной целью нами был проведен эксперимент на 24 самцах белых беспородных крыс массой 0,2-0,22 кг, которым под общим обезболиванием выполнялась лапаротомия, забор крови и перевязка краниальной брыжеечной артерии, у основания корня брыжейки. С целью выявления динамики изменения имму-

нологических показателей все животные, в зависимости от времени пережатия общего кровотока, были разделены на 3 группы. У всех животных забиралась кровь до перевязки артерии, затем через 2, 6 и 8 часов, соответственно, в первой, второй и третьей группе выполнялась релапаротомия, проводилась клиническая оценка жизнеспособности кишечника с последующим забором сыворотки крови и биопсии стенки кишки. Для иммунофенотипирования кровь у животного забирали в пробирку, содержащую динатриевую соль ЭДТА. Оценку субпопуляционной структуры лимфоцитов осуществляли стандартным методом прямого иммунофлюоресцентного окрашивания цельной крови с использованием лизирующего/фиксирующего раствора VersaLyse/IOTest 3 Fixative solution (Beckman Coulter) и панели моноклональных антител IOTest Anti-Rat (Beckman Coulter). Контрольные пробы инкубировали с иммуноглобулинами мечеными флуорохромами (FITC, PC7, APC) соответствующего изотипа – мышиные IgG1, IOTest (Beckman Coulter). Цитофлюорометрию осуществляли на проточном цитофлюориметре "Cytomics FC-500" (Beckman Coulter, USA), регистрировали суммарно не менее 10.000 событий. Данные анализировали с помощью программы CXP Cytometer (Beckman Coulter).

Эксперименты на животных были проведены в асептических условиях операционного блока, кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Читинской государственной медицинской академии. Операции, и все манипуляции с животными проводились с использованием общего обезболивания, а эвтаназия – путем передозировки средств для наркоза с учетом положений, регламентируемых этическими стандартами Комитета по экспериментам. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы «Statistica-6 for Windows», использовали критерии Крускала-Уоллиса Манна-Уитни и с определением статистической значимости различий при уровне $p \leq 0,05$. Морфологический материал подвергался стандартной проводке и заливке в парафин, полученные препараты окрашивали по методу Ван-Гизона, гематоксилин-эозином, ШИК. Фотофиксацию и морфометрию проводили на микроскопе OLYMPUS CX 31, с применением программного обеспечения МЕКОС.

Результаты исследований и обсуждение. Расчет изучаемых показателей с проведением одновременного морфологического исследования стенки тонкой кишки показал, что через два часа после прекращения артериального притока у всех животных в общем кровотоке отмечалось снижение общего числа лимфоцитов на 46,9 % по отношению к исходным показателям (с 15915 до 7468 в 1 мкл, $p_1<0,005$), через шесть часов – на 67,2% (с 15915 до 5231; $p_2<0,005$), в основном за счет снижения B-cells и NK-cells (таб. 1). В этот временной промежуток времени участок кишки выглядел следующим образом: серозная оболочка блестящая, перистальтика отсутствует, кишка бледно-серого оттенка, отсутствует пульсация краевых сосудов. Гистологически отмечалось сохранение рельефа слизистой оболочки тонкого кишечника, ворсинки пальцевидной формы (длина 345,28±56,63 мкм, ширина 54,38±6,55 мкм), крипты узкие (таб. 2). Собственная пластинка слизистой оболочки и подслизистая основа утолщены и разрыхлены, за счет отека. Кровенаполнение сосудов неравномерное: артерии находятся в спавшемся состоянии, вены и капилляры слабого и умеренного наполнения, имеются локальные диапедезные кровоизлияния. На апикальной поверхности энтероцитов определяется хорошо выраженная щеточная каемка, гликокаликс сохранен, что свидетельствует о ишемической стадии заболевания. Через 6 часов после прекращения кровотока на микропрепаратах обращает на себя внимание резкое расстройство кровообращения в виде отека, венозного полнокровия, распространенных диапедезных кровоизлияний, стазов и тромбов в венах. Особенно отек, и полнокровие выражены в подслизистой оболочке и в собственной пластинке слизистой оболочки. Длина ворсинок составляет 333,27±46,45 мкм, ширина 71,78±13,88 мкм. В эпителии, выстилающем ворсинки, встречаются единичные дистрофически-измененные клетки, имеющие вид крупных вакуолей, контуры ядер в таких клетках не определяются. Щеточная каемка на апикальной поверхности энтероцитов частично сохранена, в большей части энтероцитов не определяется. В единичных полях зрения на верхушке ворсинок отмечается слущивание энтероцитов в просвет кишки, с обнажением соединительнотканной основы ворсинок.

Наибольшее снижение количества абсолютного числа лимфоцитов отмечалось через 8 часов после пережатия краниальной брыжеечной артерии и составляло 90,4 % от исходных

показателей (с 15915 до 1535 в 1 мкл. p_3<0,005). В эти же сроки макроскопически регистрировалась картина инфаркта кишечника. Гистологически отмечалось укорочение и утолщение кишечных ворсинок за счет выраженного отека. Длина ворсинок составила 159,32±43,68 мкм, ширина ворсинок - 72,30±15,87 мкм. Очаги кровоизлияний увеличиваются, отек распространяется на мышечную оболочку. Встречаются очаговые кровоизлияния в брыжейку кишечника. Практически все энтероциты были изменены по типу баллонной дистрофии, что можно расценивать как фокальную форму колликвационного некроза. Наблюдается десквамация целых пластов эпителиальных клеток в области верхушек и на боковых поверхностях кишечных ворсин, что указывает на развитие некротической стадии заболевания.

Таблица 1

Динамика изменения лимфограммы в зависимости от времени пережатия брыжеечной артерии (M+SD).

Показатели	**До перевязки n= 6**	**После перевязки (часы)**		
		Группа 1 n= 6 (2 часа)	Группа 2 n=6 (6 часов)	Группа 3 n= 6 (8 часов)
Лимфоциты (в 1 мкл)	15915±4599	7468±4331 p <0,005	5231±1112 p <0,005 p_1<0,005	1535±812 p <0,005 p_2<0,005 p_3<0,003
Т-клетки CD3+ -клетки (в 1 мкл)	8133±3526	3150±1170 p <0,005	2477±505 p <0,005 p_1<0,005	1133±280 p <0,005 p_2<0,005 p_3<0,003
В-клетки (в 1 мкл)	8133±3526	3150±1170 p <0,005	2477±505 p <0,005 p_1<0,005	1133±280 p <0,005 p_2<0,005 p_3<0,003
NK-клетки (в 1 мкл)	1114,333±31	348±202 p <0,005	465±113 p <0,005 p_1<0,005	101±67 p <0,005 p_3<0,005 p_4<0,003

Примечание: p – статистическая значимость различий показателей между исходными значениями и группами животных; p_1 – статистическая значимость различий показателей относительно предыдущего временного периода между группой 1 и группой 2; p_2 – статистическая значимость различий показателей относительно предыдущего временного периода между группой 1 и группой 3; p_3 – статистическая значимость различий показателей относительно предыдущего временного периода между группой 2 и группой 3.

Таблица 2

Некоторые морфометрические показатели слизистой оболочки кишки у различных групп животных в зависимости от времени пережатия брыжеечной артерии (M+SD).

Показатели	**Группа 1 n= 6 (2 часа)**	**Группа 2 n=6 (6 часов)**	**Группа 3 n= 6 (8 часов)**
Длина ворсин кишки (мкм)	345,28±56,63,	333,27±46,45 p ≥0,01	159,32±43,68 p_1≥0,01; p_2≥0,01
Ширина ворсин кишки (мкм)	54,38±6,55	71,78±13,88 p ≥0,01	72,30±15,87 p_1≥0,0; p_2≥0,01

Примечание: p – статистическая значимость различий показателей относительно предыдущего временного периода между группой 1 и группой 2; p_1 – статистическая значимость различий показателей относительно предыдущего временного периода между группой 2 и группой 3; p_2 – статистическая значимость различий показателей относительно предыдущего временного периода между группой 1 и группой 3.

Таким образом, прогрессивное снижение количества лимфоцитов центральной венозной крови у животных свидетельствует о течении острой артериальной мезентериальной ишемии и может являться фактором неблагоприятного исхода заболевания. При снижении количества лимфоцитов центральной венозной крови более чем на 90% от исходного следует диагностировать некротическую стадию острой мезентериальной ишемии.

Литература:

1. Алексеев Т. В. Пути оптимизации больных с мезентериальным тромбозом в муниципальных учреждениях здравоохранения малых городов и сельской местности / Т.В. Алексеев, К.Н. Мовчан, А.И. Безносов // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2010. – Т. 169, № 2. – С. 92–95.
2. Основы клинической иммунологии: перевод с английского / Э. Чепель и др. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 416 с.
3. Хрипун А. И. Микроциркуляция кишечника в норме и при остром нарушении мезентериального кровообращения / А.И. Хрипун, С.Н. Шурыгин, А.Д. Прямиков // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2010. – Т. 16, № 3. – С. 34–36.
4. Хрипун А. И. Лечение острой окклюзии верхней брыжеечной артерии - современный взгляд на проблему /А.И. Хрипун, С.Н. Шурыгин, А.Д. Прямиков // Анналы хирургии. –2009. – №5. – С. 9-13.
5. Akpinar E. Spontaneous recanalizashion of superior mesenteric artery occlusion following angioplasty and stenting of inferior mesenteric artery/ E. Akpinar et al. // Cardiovasc. Intervent. Radiol. –2006. –Vol.29, №1. – P. 137-139.
6. Anadol A.Z. Laparoscopic «second–look» in the management of mesenteric ischemia/ A.Z. Anadol, E.Ersoy, F. Taneri // Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech. – 2004. – Vol.14, №4. – P. 191-193.
7. Mesenteric ischemia: still a deadly puzzle for the medical community. / M Stamatacos et al. // Tohoku J. Exp. Med. – 2008. – 216. – № 3. – P. 197-204.
8. Zuccon W. Early diagnosis in acute mesenteric ischemia. Case series and clinical review. / W. Zuccon, G. Creperio, R Paternollo // Ann Ital Chir 2010. – V. 81, №3. – P. 83-192.