

БІОХІМІЧНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ТОВСТОКИШКОВИХ АНАСТОМОЗАХ ПРИ АНЕМІЇ

О.В.Ротар, Ф.Г.Кулачек, В.І.Ротар, В.М.Коновчук, Д.В.Горченко

Кафедра загальної та оперативної хірургії з топографічною анатомією (зав. – проф. Ф.Г.Кулачек) Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. В експерименті на моделі гострої нормоволемічної анемії початкові ознаки порушення загоєння товстокишкових анастомозів виявлено при рівні гемоглобіну (Гб) – 70-72 г/л. При рівні Гб 60 г/л і нижче зменшувався синтез колагену на 35 %, фізична міцність – на 42 %, у 30 % дослідних тварин виникала неспроможність швів анастомозів.

Ключові слова: анемія, товстокишкові анастомози.

Анемія до операції виявляється у 25-55% хворих на хірургічну патологію товстої кишки [1]. Частота її значно підвищується після операції і досягає 75-80% оперованих пацієнтів [2, 3]. Досі немає одностайної думки про вплив анемії на загоєння товстокишкових анастомозів (ТКА). Не вивчено прогностичне значення анемії при формуванні ТКА, не визначені критичні рівні гемоглобіну, при яких порушується їх загоєння.

Мета дослідження. Вивчити в експерименті біохімічні та метаболічні зміни в тканинах ТКА і визначити критичні рівні гемоглобіну (Гб) та гематокриту (Гк) при їх формуванні.

Матеріал і методи. Об'єктом експериментальних досліджень були 80 статевозрілих самців білих щурів масою 160-200 г. При цьому дотримувалися вимог Хельсінської декларації про гуманне ставлення до тварин. Анемію моделювали методом гострої нормоволемічної гемодилуції [4]. Під внутрішньоочеревним наркозом каліпсолом у дозі 50 мг/кг катетеризували стегнову і яремну вени та стегнову артерію. Досягали трьох рівнів анемії: 1) легкого ступеня: Гк – 0,30 л/л, Гб – 90 г/л (20 щурів); 2) середнього ступеня: Гк – 0,25 л/л, Гб – 75 г/л (20 щурів); 3) тяжкого ступеня: Гк – 0,20 л/л, Гб – 60 г/л (20 щурів). Після забору аналізів в асептичних умовах виконували лапаротомію і, відступивши на 3-4 см від сліпої кишки, поперечно пересікали ободову кишку.

Формували ТКА "кінець у кінець" однорядним безперервним швом поліамідом 6/0. Щурів виводили з експерименту через 7 діб передозуванням тіопенталу натрію. Контрольну групу становили 20 щурів, яким накладали типові ТКА.

До початку і на кожному етапі гемодилуції в експериментальних тварин брали проби артеріальної (a. femoralis) та центральної венозної (v. jugularis int.) крові для визначення парціального тиску газів та кислотно-лужного стану мікрометодом Аструп на апаратах Radiometr ABL-5, Гк та Гб. Перед виведенням тварин з експерименту їх зважували, вимірювали Гк та концентрацію Гб периферичної крові. Під наркозом виконували релапаротомію і проводили макроскопічний огляд черевної порожнини. Гістологічні препарати фарбували гематоксилін-еозином та за методом ван Гізон. Біохімічні показники стану сполучної тканини в ТКА визначали через 7 діб. Вимірювали концентрацію оксипроліну (мітка колагену) та гексозамінів (мітка загальних глікопротеїдів). Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою програми SPSS – 9.0 [5]. Для виявлення різниці між безперервними величинами використовували критерій Стюдента (t) та Фішера (F) методом ANOVA, за наявності більше двох груп порівняння – тест Шеффе.

Результати дослідження та їх обговорення. Вміст оксипроліну (ОП) у тканинах стінки

товстої кишки дослідних тварин контрольної групи становив $9,64 \pm 0,12$ мкг/мг. Через 7 днів після операції вміст ОП у тканинах ТКА на 45,2% перевищував його базальний рівень у стінці товстої кишки (таблиця).

У дослідних тварин із нормоволемічною анемією легкого ступеня синтез колагену (К) в ТКА не порушувався, вміст ОП практично не відрізнявся від показників контрольної групи. При анемії середнього ступеня вміст ОП у тканинах ТКА зменшився на 7,86%, а при анемії тяжкого ступеня – на 35%. Співвідношення вмісту гексозамінів до оксипроліну (ГА/ОП) у тварин з анемією тяжкого ступеня перевищувало в 1,5 раза, що вказує на значне переважання аморфного компоненту над фібрилярними структурами. Такий склад новоутвореної сполучної тканини ТКА відповідає її незрілій формі, що мало вирішальне значення в забезпеченні фізичної міцності (ФМ) міжкишкового з'єднання та повноцінної регенерації епітелію [6]. Толерантність ТКА до фізичного навантаження при анемії падає: при анемії середнього ступеня ФМ становила 89,5%, а в дослідних тварин із тяжким ступенем анемії – тільки 66,8%.

Таблиця

Вміст гексозамінів і оксипроліну в тканинах товстокишкових анастомозів, їх фізична міцність та артеріовенозна різниця за киснем дослідних тварин за різних ступенів нормоволемічної анемії ($M \pm m$)

Показник	Контрольна група (n-12)	Дослідні тварини з анемією		
		легкий ступінь, (n-12)	середній ступінь, (n-12)	тяжкий ступінь, (n-12)
Гб, г/л	$144,5 \pm 3,8$	$94 \pm 3,4$	$72,6 \pm 3,8$	$58,8 \pm 4,2$
Гк, л/л	$0,48 \pm 0,02$	$0,30 \pm 0,02$	$0,25 \pm 0,019$	$0,20 \pm 0,016$
Гексозаміни, мкг/мг	$12,8 \pm 0,28$	$11,9 \pm 0,35$	$12,96 \pm 0,44$	$13,4 \pm 0,42$
Оксипролін, мкг/мг	$14,0 \pm 0,46$	$13,9 \pm 0,31$	$12,9 \pm 0,43$	$9,1 \pm 0,38^*$
ГА/ОП, од	$0,92 \pm 0,029$	$0,86 \pm 0,012$	$1,01 \pm 0,01$	$1,5 \pm 0,073^*$
Фізична міцність, мм рт. ст. (кПа)	$220 \pm 9,7$ ($29,3 \pm 1,29$)	$222 \pm 8,2$ ($29,6 \pm 1,09$)	$197 \pm 7,7$ ($26,3 \pm 1,03$)	$147 \pm 11^*$ ($19,6 \pm 1,47$)
Ca – vO ₂ , мл	$36,2 \pm 3,4$	$32,7 \pm 2,2$	$24,3 \pm 2,1^*$	$22,1 \pm 2,7^{**}$

Примітка: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,02$ – у порівнянні з показником контрольної групи; Ca – vO₂ – артеріовенозна різниця за киснем.

Відомо [7], що в процесі синтезу К окиснення проліну в оксипролін відбувається тільки за достатньої кількості O_2 у присутності активаторів (аскорбінової кислоти, іонів заліза тощо) та значної кількості енергії у вигляді АТФ. У дослідних тварин із нормоволемічною анемією доставка кисню до тканин ТКА, яка визначалася за артеріовенозною різницею за O_2 , порушується, що веде до зменшення синтезу ОП і відповідно колагену в грануляційній тканині анастомозів. Спостерігалася пряма залежність між концентрацією ОП у тканинах ТКА та $Ca - vO_2$ ($r = +0,428$, $p < 0,05$). Наші результати збігаються з даними експериментальних досліджень [6, 8], в яких показано, що напруга O_2 у рані виступає фактором, який безпосередньо впливає на процеси загоєння ран.

Через 7 діб у контрольних тварин ТКА життєздатні, випоту та ознак запалення в черевній порожнині не виявлено. Гістологічно в більшості тварин у просвіт кишки виступала грануляційна тканина, поверхня якої вкрита тонким, вкрай помітним прошарком зруйнованих тканин. Прилеглі до них шари грануляційної тканини були менш зрілими, ніж субсерозні і містили більше клітинних елементів, серед яких переважали фібробласти та макрофаги. Вміст нейтрофільних лейкоцитів не перевищував 10-20%. При анемії легкого ступеня всі анастомози були спроможними, макроскопічні і гістологічні показники загоєння не відрізнялися від контрольних тварин.

У дослідних тварин з анемією середнього ступеня з боку просвіту спостерігався суцільний прошарок некротизованих тканин, незначної або помірної товщини. Розташована під ним грануляційна тканина з ознаками гнійного запалення: вміст клітинного компонента досягав 30-45%, а нейтрофільних лейкоцитів серед них – 35%. Однак такі зміни виявлялися лише в поверхне-

вих шарах ТКА, у глибших спостерігалася картина активного новоутворення грануляційної тканини: основними її компонентами були новоутворені судини та міжклітинний матрикс. Серед елементів сполучної тканини переважала аморфна речовина, колагенові волокна практично не визначалися. Серед клітин переважали фібробласти, вміст нейтрофільних лейкоцитів не перевищував 25%.

При анемії тяжкого ступеня прикриття неспроможність швів ТКА виявлено в 4 із 12 дослідних тварин. Гістологічно ділянка ТКА схожа на виразку: з боку просвіту спостерігалися масивні нашарування некротизованих тканин, під якими знаходилася грануляційна тканина, щільно насичена фібрином, детритом та залишками зруйнованих клітин. Серед останніх домінували нейтрофільні лейкоцити. У тварин із неспроможністю швів ТКА некротичні тканини повністю проникали крізь кишкову стінку. В інших тварин ззовні виявлявся тонкий прошарок зрілої грануляційної тканини, основним компонентом якої були клітини. Міжклітинний матрикс розвинутий слабо, низької густини. В оболонках прилеглих до ТКА стінках спостерігалися рясні крововиливи, масивний інтерстиційний набряк, ділянки міоцитолізу.

Висновок. Анемія негативно впливає на загоєння товстокишкових анастомозів. Початкові біохімічні порушення в їх тканинах виникають при рівні гемоглобіну – $72,6 \pm 3,8$ г/л, а при рівні 60 г/л і нижче синтез колагену зменшується на 35%, фізична міцність – на 33%, у 30% дослідних тварин виникає неспроможність швів товстокишкового анастомозу.

Перспективи наукового пошуку. Перспективним є використання препаратів із газотransпортними властивостями для покращання загоєння міжкишкових анастомозів в умовах анемії.

Література

1. Sadarino S., Suzuki T., Takunaga N. et al. Anemia in patients with colorectal cancer // *J. Gastroenterology*. – 1998. – V. 33. – P. 488-494.
2. Dunne J.R., Gannon T.M., Taylir M.D. et al. Perioperative anemia in colon cancer: assessment of risk factors // *Am. Surg.* – 2002. – V. 68. – P. 582-587.
3. Goldhill D., Boralessa H., Boralessa H. Anaemia and red cell transfusion in the critically ill // *Anaesthesia*. – 2002. – V. 57. – P. 527-529.
4. Goodnough L.T. Acute normovolemic hemodilution // *Transfus. Alternatives Transfus. Med.* – 1999. – V. 1. – P. 12-16.
5. Бююль А., Цефель П. SPSS: Искусство обработки информации: Пер. с нем. – СПб.: ДиаСофт ЮП, 2002. – 608 с.
6. Meyer G. Anastomosenheilung // *Visceralchirurgie*. – 2000. – V. 35. – P. 135-165.
7. Moran B.J., Heald R.J. Anastomotic Leakage After Colorectal Anastomosis // *Sem. Surg. Oncol.* – 2000. – V. 18. – P. 244-248.
8. Guler M., Kologlu M., Kama N.A. et al. Effect of topically applied charged particles on healing of colonic anastomoses // *Arch. Surg.* – 2002. – V. 137. – P. 813-817.

**БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
ИЗМЕНЕНИЯ В ТОЛСТОКИШЕЧНЫХ АНАС-
ТОМОЗАХ ПРИ АНЕМИИ**

*А.В.Ротарь, Ф.Г.Кулачек, В.И.Ротарь,
В.М.Коновчук, Д.В.Горченко*

Резюме. В эксперименте на модели острой нормоволемической анемии начальные признаки нарушений заживления толстокишечных анастомозов выявлены при уровне гемоглобина (Гб) 70-72 г/л. При уровне Гб 60 г/л и ниже уменьшался синтез коллагена на 35%, физическая прочность – на 42%, у 30% исследованных животных возникла несостоятельность швов анастомозов.

Ключевые слова: анемия, толстокишечные анастомозы.

BIOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL CHANGES IN LARGE INTESTINAL ANASTOMOSES IN ANEMIA

*O.V.Rotar, F.G.Kulachek, V.I.Rotar, V.M.Konovchuk,
D.V.Gorchenko*

Abstract. In an experiment on a model of acute normovolemic anemia the primary signs of healing abnormalities of large intestinal anastomoses were detected with the hemoglobin level (Hb) of 70-72 g/l. With the Hb level at 60 g/l and lower collagenic synthesis diminished by 35%, the rupture strength – by 42%, in 30% of the animals under study there appeared suture incompetence of anastomoses.

Key words: anemia, large intestinal anastomoses.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Надійшла в редакцію 27.03.2006 р.