

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2011

МОДЕЛИРОВАНИЕ ОБТУРАЦИОННОЙ ТОЛСТОКИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

ДЕНИСЕНКО В.Л.* , ГАИН Ю.М.** , ШАХРАЙ С.В.** , ВЕРЕМЕЙ Э.И.*** ,
ЖУРБА В.А.*** , РУКАЛЬ В.М.*** , ГАИН М.Ю.**

УЗ «Вторая Витебская областная клиническая больница»*;

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»**;

УО «Витебская ордена Знак Почёта государственная академия ветеринарной медицины»***

Резюме. В последнее время в мире отмечается рост заболеваемости колоректальным раком, приносящий значимые материальные потери странам с развитой экономикой. Так, в США стоимость комплексного лечения больных с этой локализацией рака занимает второе место, составляя 6,5 миллиардов долларов в год (после рака молочной железы, на лечение которого ежегодно затрачивается 6,6 миллиарда долларов). Неуклонно растёт число больных, оперирующихся в экстренном порядке по поводу разнообразных осложнений рака толстой кишки, наиболее частым из которых остаётся обтурационная толстокишечная непроходимость. Для отработки эффективных способов лечения осложнений общепризнанным подходом является экспериментальная оценка эффективности тех или иных лечебных технологий на конкретной модели патологического состояния. К настоящему времени предложено большое количество способов моделирования патологических состояний. В экспериментальной хирургии известны способы моделирования обтурационной толстокишечной непроходимости путём лапаротомии и сужения просвета толстой кишки в её дистальных отделах (нисходящая ободочная или сигмовидная кишка, ректосигмоидный отдел толстой кишки) с использованием специальных колец, полосок материи, лигатур. Недостатками этих способов являются: сложность выполнения; длительность общей анестезии (наркоза); необходимость выполнения для создания модели травматичной операции – лапаротомии, существенно утяжеляющей состояние животного, с дальнейшей манипуляцией на толстой кишке; невозможность формирования препятствия на уровне прямой кишки (у человека опухолевая обтурация прямой кишки – один из вероятных и частых источников низкой обтурационной непроходимости кишечника); невозможность без релапаротомии и манипуляции на толстой кишке оборвать патологический каскад развития болезни. В настоящее время отсутствует способ, лишённый всех перечисленных недостатков.

Ключевые слова: моделирование, обтурационная толстокишечная непроходимость, перитонит, абдоминальный сепсис.

Abstract. Recently in the world the rise in colorectal cancer incidence has been observed, that causes significant financial losses in the countries with advanced economy. In the USA the cost of complex treatment of patients with this localization of cancer ranks second, making up 6,5 milliards of dollars per year (after breast cancer, for the treatment of which 6,6 milliards of dollars are spent annually). The number of patients being urgently operated on for different complications of large bowel cancer is growing steadily, among these complications occlusive large-bowel obstruction occurring most frequently. To work out effective methods of treatment for complications generally recognized approach is experimental efficacy assessment of these or those therapy techniques on concrete model of pathological condition. In experimental surgery the following methods of occlusive large-bowel obstruction modeling are known: laparotomy and narrowing of large bowel lumen in its distal parts (descending colon or sigmoid colon, rectosigmoid part of large bowel) with the use of special rings, material strips, ligatures. Disadvantages of these methods are execution difficulties; general anesthesia duration; the necessity to perform with the purpose of modeling traumatic operation – laparotomy, significantly worsening the condition of an animal, with further manipulation on large bowel; the impossibility to form an obstruction at the level of rectum (in human beings tumoral obturation of rectum is one of the most probable and frequent causes of low occlusive ileus); the impossibility without relaparotomy and manipulation on large bowel to stop pathological cascade of the disease development. At present there is no method devoid of all specified above shortcomings.

Актуальность проблемы. По данным различных авторов, за последние десятилетия отмечается увеличение числа пациентов с раком ободочной и прямой кишки. В соответствии с этими данными и оценкой ВОЗ рак толстой кишки занимает 3-4 место в структуре онкологической заболеваемости, а количество больных с запущенными формами достигает 70% [1, 3, 9]. В мире ежегодно регистрируется 600 тысяч новых случаев колоректального рака, половина из которых умирает [12]. Эта локализация рака составляет 15% от всех первично диагностированных опухолей всех локализаций (30% из их числа представлено раком прямой кишки). От колоректального рака ежегодно умирает около 100 000 человек [13, 16]. Развитые страны мира несут огромные экономические потери в связи с заболеваемостью колоректальным раком и его осложнениями [4].

Весьма тревожным является тот факт, что на 100 вновь выявленных больных раком ободочной и прямой кишки приходится более 70 умерших, из которых на 1-м году с момента установления диагноза умирает около 40% больных. Эта закономерность обусловлена тем, что при первичном обращении пациентов к врачу запущенные формы рака (III-IV стадия) диагностируются у 71,4% больных раком ободочной кишки и у 62,4% в случаях заболевания раком прямой кишки [10].

Для изучения патологических механизмов наиболее частого осложнения колоректального рака - острой толстокишечной непроходимости – и для отработки эффективных способов лечения осложнений общепризнанным подходом являются исследование изменений в организме лабораторных животных и экспериментальная оценка эффективности тех или иных лечебных технологий на конкретной модели патологического состояния. К настоящему времени предложено большое количество способов моделирования указанных патологических состояний. В экспериментальной хирургии известны способы моделирова-

ния obturационной толстокишечной непроходимости путём лапаротомии и сужения просвета толстой кишки в её дистальных отделах (на уровне нисходящей ободочной или сигмовидной кишки, ректосигмоидного отдела толстой кишки) с использованием специальных колец, полосок материи, лигатур. Недостатками этих способов являются: сложность выполнения; длительность общей анестезии (наркоза); необходимость выполнения травматичной операции для создания модели – лапаротомии, существенно утяжеляющей состояние животного, с дальнейшей манипуляцией на толстой кишке; невозможность формирования препятствия на уровне прямой кишки (у человека опухолевая obturация прямой кишки – один из вероятных и частых источников низкой obturационной непроходимости кишечника); невозможность без релапаротомии и манипуляции на толстой кишке оборвать патологический каскад развития болезни. В настоящее время отсутствует способ, лишённый всех перечисленных недостатков [5, 6, 7, 11].

До настоящего времени хирургическая тактика при возникновении осложнений со стороны опухолей толстой кишки продолжает оставаться предметом дискуссий. Одним из наиболее частых осложнений колоректального рака является острая толстокишечная непроходимость [11, 14, 15]. Отсутствует единый подход хирургов и онкологов на вопросы хирургической тактики при различных формах осложнений колоректального рака, нет общепринятой тактики к выбору методов хирургического лечения и завершения операции, что требует дальнейшего научного поиска. Создание модели острой толстокишечной непроходимости, максимально приближенной к реальным клиническим условиям, будет способствовать созданию технологий, повышающих эффективность комплексного лечения осложнений колоректального рака.

Цель данной работы – моделирование obturационной толстокишечной непроходимости у лабораторных животных.

Методы

Экспериментальные исследования проведены с использованием 40 белых рандомизированных крыс (20 самцов и 20 самок) в возрасте от 1 до 2 лет, с массой от 300 до 320 г (в среднем $309,3 \pm 12,1$ г).

В первой группе крыс (первая опытная серия, 10 животных – 5 самцов и 5 самок) под ингаляционными изофлюрановым наркозом при помощи аппарата Vet Quip накладывали кисетный шов на сфинктер прямой кишки и фиксировали через пуговицу (путём завязывания) для предупреждения самостоятельного удаления лигатуры и облегчения устранения обтурации в определённые сроки (рис. 1).

В послеоперационном периоде за животными осуществляли динамическое наблюдение с фиксацией изменений двигательной активности, пищевого режима, других внешних проявлений патологического процесса. На 4-е сутки животных выводили из эксперимента под наркозом путём эвтаназии, проводили морфологическое исследование внутренних органов и забор материала для гистологического и микробиологического исследова-

ния (всего взято 150 проб для исследования микрофлоры и оценки её чувствительности к антибиотикам из различных отделов брюшной полости, просвета тонкой и толстой кишки, а также из воротной вены).

Во второй группе крыс (вторая опытная серия, 10 животных – 5 самцов и 5 самок) под ингаляционным изофлюрановым наркозом при помощи аппарата Vet Quip накладывали компрессирующее устройство на дистальный отдел прямой кишки аналогично животным первой группы. Животным этой группы устраняли явления обтурации прямой кишки на 4-е сутки послеоперационного периода путём снятия кисетного шва и лёгкой дивульсии ануса. Срок выведения из эксперимента в первой и второй группах (4-е сутки) был определён на основании данных, полученных в третьей экспериментальной группе. При этом было установлено, что на 4-е сутки после моделирования илеуса выживает абсолютное большинство животных. К указанному сроку у всех животных имеют место клиничко-морфологические и лабораторные признаки обтурационной толстокишечной непроходимости, перитонита и абдоминального сепсиса.

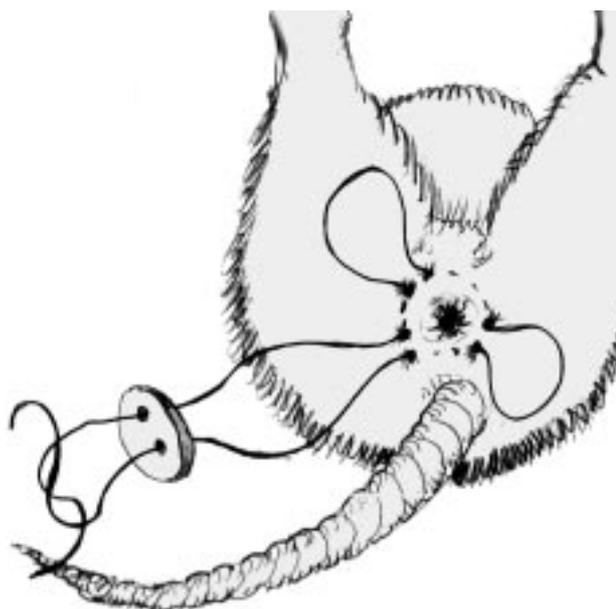


Рис. 1. Схема наложения компрессирующего устройства на конечный отдел прямой кишки крысы.

Устранение обтурации в этом сроке приводит к постепенному выздоровлению большинства животных данной группы с разрешением явлений кишечной непроходимости.

В третьей группе крыс (контрольная серия, 10 животных – 5 самцов и 5 самок) под ингаляционными изофлюрановым наркозом при помощи аппарата Vet Quip накладывали компрессирующее устройство на дистальный отдел прямой кишки аналогично животным первой и второй группы. В послеоперационном периоде за животными осуществляли динамическое наблюдение с фиксацией изменений двигательной активности, пищевого режима, других внешних проявлений патологического процесса, отмечали сроки гибели с изучением во время аутопсии морфологических изменений со стороны внутренних органов (при этом проведена множительная оценка функции выживания по Каплан-Мейеру) [8].

Крысы четвёртой группы (фоновая серия, 10 животных – 5 самцов и 5 самок) никакому вмешательству не подвергались, содержались в обычных условиях вивария (гематологические показатели и их поведенческая реакция служили контролем для сравнительной оценки с лабораторными данными животных других групп).

До операции из хвостовой вены всех животных брали кровь на гемограмму, а при снятии животных кровь на исследование брали из венозных сосудов шеи.

При проведении экспериментов всех животных содержали на стандартном рационе вивария. Все исследования проводили в полном соответствии с современными принципами биоэтики, в том числе «Европейской конвенцией по защите прав позвоночных животных» (принятой в г. Страсбурге 18 марта 1986 г.) и «Всемирной декларацией прав животных» («Universal Declaration of Animal Rights», принятой Международной Лигой Прав Животных в 23 сентября 1977 года в Лондоне и объявленной 15 октября 1978 года в штабе ЮНЕСКО в г. Париже).

Статистическую обработку полученных результатов исследований проводили с применением пакета прикладных программ «Statistica» (Version 6-Index, StatSoft Inc., США). Для выяв-

ления достоверных различий использовали непараметрический U критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney U-test). Для сравнения достоверности изменения частот бинарного признака в двух независимых группах использовали χ^2 с поправкой Йетса на непрерывность [8].

Результаты и обсуждение

Начиная с первых суток наблюдения за животными, поведенческая реакция их прогрессивно изменялась. В первые двое суток в основных и контрольной группах крысы выпивали $98,6 \pm 9,16$ мл воды в сутки с нарастанием объёма выпиваемой жидкости на 3-е сутки до $152,3 \pm 13,4$ мл (к этому сроку они съедали только $15,3 \pm 3,22$ г зерна). В первые трое суток постепенно отмечалось снижение их физической активности. В группе фоновых животных крысы выпивали $82,3 \pm 6,13$ мл воды ежедневно. На третьи сутки в первых трёх группах крысы стали менее активными, шерсть приобрела взъерошенный характер, употребление воды увеличилось. На четвёртые сутки в первых трёх группах животы крыс заметно увеличились в размерах, животные стали малоподвижные, агрессивные, употребление воды уменьшилось до $30,0 \pm 5,47$ мл ($p < 0,05$). До этого срока (через 74 часа после моделирования патологического процесса) пала одна крыса (из II группы). На аутопсии у неё выявлен распространённый фибринозный перитонит, признаки сепсиса и полиорганной недостаточности.

Все животные третьей группы погибли на 5-6-е сутки послеоперационного периода от тяжёлого распространённого перитонита на фоне выраженной обтурационной толстокишечной непроходимости с явлениями сепсиса и полиорганной недостаточности. У 5 животных (50%) при этом отмечались множественные перфорации тонкой и толстой кишки с поступлением содержимого в свободную брюшную полость (рис. 2). Микроскопически во внутренних органах отмечались выраженные дистрофические, некротические и воспалительные изменения, а также изменения со стороны сосудов, характерные для септического шока.



Рис. 2. Изменения со стороны тонкой и толстой кишки, а также брюшной полости крысы, павшей на 5-е сутки после моделирования низкой обтурационной толстокишечной непроходимости. Отмечаются резкая дилатация тонкой и толстой кишки, признаки распространённого фибринозного перитонита, множественные перфорации толстой кишки с наличием её содержимого в брюшной полости.

У животных третьей группы после устранения у них явлений обтурации путём снятия кисетного шва отмечено постепенное восстановление общего состояния: через 1-1,5 сут. отмечено уменьшение живота в размерах, животные имели обильный стул, зарегистрировано восстановление физической и пищевой активности. В этой группе зарегистрирована гибель одной крысы (на 5-е сутки), при вскрытии которой отмечены явления неразрешившегося распространённого перитонита.

Таким образом, наиболее оптимальным сроком принятия решения при разработанном варианте моделирования непроходимости толстой кишки (в том числе и для выполнения планируемых лечебных мероприятий) являются 4-е сутки после наложения обтурирующего устройства на прямую кишку. Именно в этом сроке у животных отмечаются все клинично-морфологические признаки тяжёлой непроходимости кишечника с признаками развивающегося (развившегося) абдоминального сепсиса. Данное

положение подтвердили морфологические исследования внутренних органов животных I группы, выведенных из эксперимента через 4 суток после моделирования патологического процесса.

При этом печень всех животных была резко увеличена в размерах (мускатной окраски), а в брюшной полости содержался серозный, серозно-геморрагический или серозно-фибринозный экссудат. По результатам патогистологического исследования органов во внутренних органах крыс выявлены следующие изменения. В кишечнике определялась выраженная воспалительная инфильтрация в собственном слое слизистой, представленная преимущественно мононуклеарными (с примесью сегментоядерных нейтрофилов) лейкоцитами (рис. 3).

В печени при гистологическом исследовании отмечены выраженные дистрофические изменения со стороны гепатоцитов, с десквамацией, некробиотическими изменениями слизистой протоковой системы и воспалительной инфильтрацией паренхимы, что соответствует острому гепатиту (рис. 4).

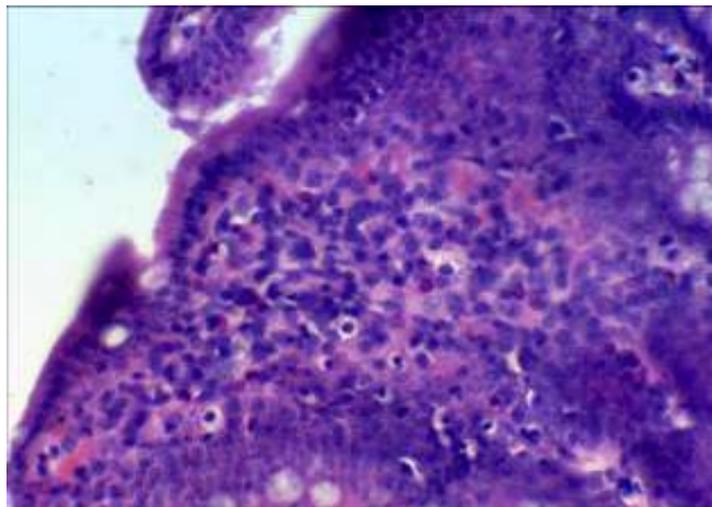


Рис. 3. Полиморфноядерноклеточная инфильтрация собственного слоя слизистой толстой кишки лабораторного животного на 4-е сутки после моделирования толстокишечной непроходимости. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.× 200.

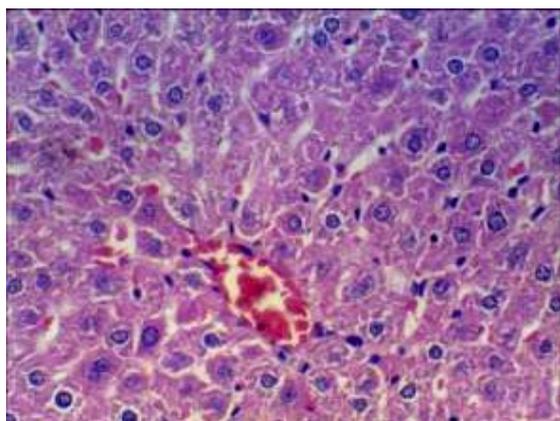


Рис. 4. Дистрофические изменения и некроз гепатоцитов лабораторного животного на 4-е сутки после моделирования толстокишечной непроходимости. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.× 400.

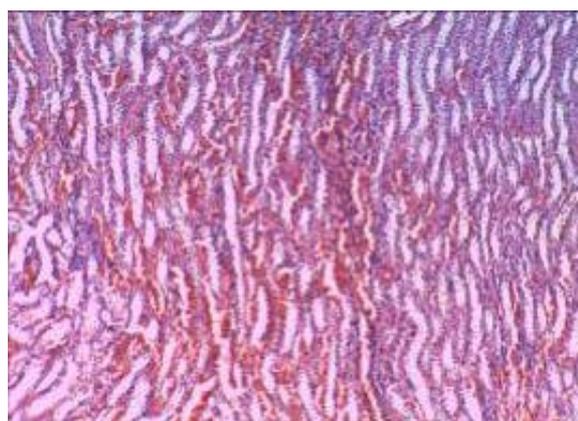


Рис. 5. Полнокровие мозгового вещества лабораторного животного на 4-е сутки после моделирования толстокишечной непроходимости. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.× 400.

В почках определили выраженное полнокровие мозгового вещества, дистрофию, некроз эпителия канальцев (рис. 5).

Животным второй группы на 4-е сутки снимали кيسетные швы. Из второй группы одна крыса погибла на 5-е сутки и одна крыса погибла на 7-е сутки от острой толстокишечной непроходимости, являющейся причиной развития сепсиса и перитонита.

За время эксперимента было исследова-

но 150 биопроб из брюшной полости, тонкой, толстой кишки и воротной вены крыс, у 90% которых визуально зарегистрированы признаки распространённого перитонита. Определение видового состава микрофлоры проводили по общепринятым бактериологическим методикам.

При микроскопии в посевах из брюшной полости обнаружены грамположительные кокки (диаметр 0,5-1,5 мкм), располагающиеся

небольшими гроздьевидными скоплениями. Некоторые располагались в цитоплазме лейкоцитов. Часть микроорганизмов имела капсулу (*S. aureus*), а часть - нет (*S. epidermidis*). При микроскопии экссудата брюшной полости идентифицированы грамположительные стрептококки, которые в мазках из гноя располагались в форме длинных или коротких цепочек (*S. pyogenes*). Также обнаружены полиморфные грамтрицательные палочки с закругленными концами (длиной 1-3, шириной 0,3-0,6 мкм), располагающиеся одиночно и реже попарно, спор не образующие, подвижных и неподвижных сероваров (некоторые выделенные микроорганизмы образовывали капсулу). Мазки из экссудата и полых органов также содержали мелкие грамтрицательные палочки длиной 1,0-3,0 мкм, шириной 0,4-0,6 мкм, не образующие капсул и спор (*Proteus spp.*). При микроскопии мазков из исходного патологического материала, окрашенных по Граму и метиленовой синью по Лёффлеру, обнаруживали короткие с закругленными концами овоидные палочки-биполяры (отмечалось преимущественное окрашивание бактерий по полюсам) и мелкие грамтрицательные коккобактерии размером от 0,3 до 5,0 мкм, шириной от 0,15 до 1,2 мкм. Идентичные микроорганизмы (в значительно большей концентрации) выявлены в просвете кишечника и получены при посевах из воротной вены, подтверждая феномен бактериальной транслокации при развитии абдоминального сепсиса. Из всех указанных зон выделены патогенные микроорганизмы из рода *Staphylococcus* - золотистый (*S. aureus*) и эпидермальный (*S. epidermidis*), *S. pyogenes*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.* Последние были чувствительны к амикацину, зивоксу, левофлоксацину, ванкомицину, гентамицину, тивомеру, цефотаксиму и цефтриаксону. *E. coli* была чувствительна к амикацину, зивоксу и левофлоксацину. Выделенная во всех посевах из воротной вены *E. coli* была чувствительна к амикацину, зивоксу и левофлоксацину.

На четвертые сутки у подопытных крыс на фоне острой толстокишечной непроходимости выявлены следующие достоверные изменения со стороны «белой крови»: отмечено

увеличение числа лейкоцитов периферической крови с $4,52 \times 10^9/\text{л} \pm 1,01 \times 10^9/\text{л}$ до $17,9 \times 10^9/\text{л} \pm 0,926 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$), со сдвигом «влево» со стороны палочкоядерных лейкоцитов - с $0,32 \times 10^9/\text{л} \pm 0,07 \times 10^9/\text{л}$ до $2,2 \times 10^9/\text{л} \pm 1,28 \times 10^9/\text{л}$ ($p < 0,05$).

Заключение

1. Для экспериментальной и клинической хирургии предлагается простая модель низкой обтурационной толстокишечной непроходимости, создаваемая без вскрытия брюшной полости с высокой степенью воспроизводимости патологического процесса.

2. Созданная модель максимально приближена к реальным условиям, с которыми сталкиваются клиницисты, оказывающие помощь больным с низкой обтурационной толстокишечной непроходимостью раковой этиологии. Она позволяет максимально воспроизвести не только непроходимость кишечника, но и моделировать тяжёлый абдоминальный сепсис с признаками бактериальной кишечной транслокации, перитонита и bacteriemia.

3. Способ относительно прост для выполнения, гуманен, исключает подготовительные манипуляции и предварительные хирургические вмешательства, достоверно воспроизводим на мелких лабораторных животных.

4. Малоинвазивные манипуляции по снятию компрессирующего устройства и восстановлению проходимости прямой кишки позволяют моделировать используемые в клинических условиях эндоскопические способы реканализации опухолевого сужения с малоинвазивными внутрикишечными манипуляциями и применением лазерных, ультразвуковых, плазменных систем и электрорезекционной техники.

Литература

1. Аксель, Е.М. Колоректальный рак (заболеваемость, смертность, социально-экономический ущерб) / Е.М. Аксель, Н.М. Барулина // Рос. онкологический журнал. - 1999. - № 6. - С.40-46.
2. Бетшарт-Вольфенсбергер, Р. Ветеринарная анестезиология: учебное пособие / Р. Бетшарт-Вольфенсбергер, А.А. Стекольников, А.Ю. Нечаев. - Спб.:

- СпецЛит, 2010. – 270 с.
3. Колоректальный рак. Выбор хирургического лечения при толстокишечной непроходимости / М.Д. Ханевич [и др.]. – СПб.: Аграф+, 2008. – 136 с.
 4. Кохнюк, В.Т. Колоректальный рак / В.Т. Кохнюк. – Минск: Харвест, 2005. – 384 с.
 5. Мустафина, А.Р. Морфофункциональное состояние ободочной кишки и толстокишечных анастомозов при обтурационной кишечной непроходимости и её коррекции (анатомо-экспериментальное исследование) / А.Р. Мустафина: 14.00.02; дис. ... д-ра мед. наук. – Алматы: Казахск. нац. мед. ун-т им. С.Д. Асфендиярова, 2010. – 289 с.
 6. Сурлевич, И.Е. Выбор метода хирургического лечения при острой толстокишечной непроходимости / И.Е. Сурлевич: 14.00.27; дис. ... канд. мед. наук. – Бишкек: Рос. Слав. ун-т им. Б.Н. Ельцина на базе науч. Центра реконструкт.-восстан. хирургии МЗ КР, 2008. – 160 с.;
 7. Уголев, А.М. Энтерининовая (кишечная гормональная) система / А.М. Уголев. –Л.: Наука, 1978. – С.315.
 8. Боровиков, В.П. STATISTICA – Статистический анализ и обработка данных в среде WINDOWS / В.П.Боровиков, И.П. Боровиков. – М., 1998. – 592 с.
 9. Adenocarcinoma of the colon and rectum / B.T. Motwani [et al.] // In «Cancer Medicine»; Eds. Holland J.F. et al. – 1997. – P.2029-2072.
 10. AJCC (American Joint Committee on Cancer) Cancer Staging Manual, 7th ed. / S.B. Edge [et al.]. (Eds). – New York: Springer, 2010. – 143 p.
 11. Cancer of the rectum – palliative endoscopic treatment / K.D. Rupp [et al.] // Eur. J. Surg. Oncol. – 1995. – Vol. 21. – P.644-647.
 12. Dunlop, M. Colorectal cancer / M. Dunlop // Br. Med. J. – 1997. – Vol. 314. – P.1882-1885.
 13. Follow-up in colorectal cancer patients: a cost-benefit analysis / R.A. Audisio [et al.] // Ann. Surg. Oncol. – 1996. – № 3. – P.349.
 14. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: clinical features and survival / T. Myrhyo [et al.] // Progr. Colorect. Cane. – 1998. – Vol. 2. – P.1-12.
 15. Related Prospective evaluation of laparoscopic surgery for rectosigmoidal and rectal carcinoma / S. Yamamoto [et al.] // Dis. - Colon Rectum. – 2002. – Vol. 45< № 12. – P.1648-1654.
 16. Risk factors for morbidity and mortality after colectomy for colon cancer / W.E. Longo [et al.] // Dis. Colon. Rectum. – 2000. – Vol.43. – P.83-91.

*Поступила 14.02.2011 г.
Принята в печать 18.02.2011 г.*
