

*В. И. Никольский, А. В. Климашевич, М. Г. Федорова,
А. С. Купрюшин, Н. В. Купрюшина, А. В. Шабров*

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ СРОКОВ СТЕНТИРОВАНИЯ ПИЩЕВОДА НА МОДЕЛИ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА ПИЩЕВОДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Аннотация.

Актуальность и цели: определение сроков реканализации просвета при лечении послеожоговых стриктур пищевода.

Материалы и методы. 15 половозрелым кроликам породы шиншилла был смоделирован химический ожог пищевода. В динамике проводили оценку морфологических изменений стенки пищевода в зоне ожога.

Результаты. Установлено, что к 30-м суткам после нанесения ожога происходит стихание воспалительных процессов и активно идет развитие соединительной ткани и эпителия.

Выводы. Оптимальным временем стентирования пищевода по данным гистологического исследования являются сроки с 14-х по 21-е сутки.

Ключевые слова: ожог пищевода, стриктура, эксперимент

*V. I. Nikol'skiy, A. V. Klimashevich, M. G. Fedorova,
A. S. Kupryushin, N. V. Kupryushina, A. V. Shabrov*

OPTIMAL TIMING OF ESOPHAGEAL STENTING BY THE MODEL OF CHEMICAL BURNS OF ESOPHAGUS IN THE EXPERIMENT

Abstract.

Background. The article is aimed at determination of time period of recanalization of lumen in the treatment of post-burn strictures of esophagus.

Materials and methods. In 15 sexually mature rabbits of "Chinchilla" breed the authors modeled chemical burns of esophagus. The researchers evaluated morphological changes in the esophageal wall burn zone in dynamics.

Results. It is established that by the 30th day after the burn there occurs the relief of inflammatory processes and the connective tissues and epithelium are developing.

Conclusions. The optimal time of esophageal stenting according to histology is the terms from 14 to 21 days.

Key words: esophagus burn, stricture, experiment.

Введение

Летальность при отравлении прижигающими веществами в России составляет около 5 %. В большинстве случаев химическим агентом является уксусная кислота (70 %). Больничная летальность при отравлении данным химическим агентом достигает 13–17 % [1, 2].

Коррозионные яды, кроме общего резорбтивного действия, обладают местным воздействием на контактирующие с ними ткани. Прижигающее действие в наибольшей степени проявляется в области желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей. В последующем с частотой от 3 до 20 % разви-

ваются послеожоговые рубцовые стриктуры пищевода, что остается одной из наиболее распространенных причин дисфагии после опухолевых и пептических стенозов пищевода. Патофизиологической основой для стриктур пищевода являются процессы гиперпролиферации соединительной ткани [1, 3, 4].

Наиболее распространенными методами лечения послеожоговых рубцовых стриктур являются различные варианты бужирования и дилатация. С развитием научно-технического прогресса появляются новые, миниинвазивные методики расширения просвета пищевода. С целью профилактики неблагоприятного течения заболевания и раннего лечения целесообразно использование стентов [5]. Эффект каркасного действия протеза, более длительный период времени дилатации имеет преимущества в сравнении с традиционными способами. Однако при использовании метода стентирования пищевода приходится решать ряд проблем. Одной из них является, также как и в случае с «классическими» методами, необходимость определения сроков реканализации просвета пищевода. По данным литературы, среди специалистов, занимающихся проблемой послеожоговых стриктур, нет единого мнения по данному вопросу [6].

Для изучения регенерации пищевода в эксперименте необходим поиск моделей химического ожога пищевода с минимальной травматизацией подопытных животных с целью предотвращения их гибели. Основными проблемами формирования ожогов пищевода являются сложность дозировки химического агента и, как следствие, высокая летальность животных от шока на этапе травмы, а также необходимость создания локального рубца на стенке пищевода и предотвращение его циркулярного характера. Создание ограниченного по площади ожога позволяет снизить гибель животных от истощения на поздних этапах эксперимента.

Цель работы – создать модель химического ожога пищевода в эксперименте для определения оптимальных сроков стентирования пищевода.

Материал и методы исследования

Исследования на животных проводили в соответствии с приказом Минздрава СССР от 12.08.1977 № 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных» и требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.).

Экспериментальное исследование выполняли на базе Государственного бюджетного учреждения Пензенской области «Лунинская районная станция по борьбе с болезнями животных». На проведение эксперимента было получено разрешение локального этического комитета Пензенского государственного университета (протокол №1 от 28.09.2012).

В качестве экспериментального животного были выбраны 15 половозрелых кроликов-самцов породы шиншилла массой не менее 3,5 кг и не более 5 кг.

Создавали ожог пищевода в средней трети путем экспозиции уксусной кислоты по зонду. Зонд представлял собой полиэтиленовую трубку с капилляром в просвете и одним боковым отверстием; в слепо заканчивающимся конце зонда находился марлевый тампон (патент РФ на полезную модель

№ 134422 «Устройство для моделирования локального ожога пищевода у экспериментальных животных» 24.05.2013, опубликован 20.11.2013) [7].

Ход эксперимента. Под общей анестезией расширяли ротовую полость кролика, вводили зонд. Длина зонда, введенного в пищевод, составляла 12–15 см, что соответствовало уровню средней трети пищевода кролика. По капилляру первоначально вводили 0,5 мл 46 % уксусной кислоты для того, чтобы жидкость дошла до дистального отверстия капилляра, затем подавали 1 мл 46 % уксусной кислоты. Время экспозиции составляло 1 мин. В последующем быстро удаляли зонд. Для нивелирования побочных эффектов наркоза и пробуждения кролика вводили внутримышечно 1 мл 10 % раствора кофеина-бензоата натрия. В течение 30 мин контролировали состояние животных до выхода из наркоза.

Животных выводили из эксперимента на 5-е, 14-е, 21-е, 30-е, 45-е и 60-е сутки, в соответствии с Конвенцией по защите животных, используемых в эксперименте и других научных целях, принятой Советом Европы в 1986 г., путем передозировки эфира. Проводили аутопсию животных. Пищевод помещали в 10 % раствор нейтрального забуференного формалина.

Пищевод после обработки буферным раствором обезживали растворами спиртов восходящей концентрации и заливали в парафиновые блоки. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 7–8 мкм. Окраску производили гематоксилином-эозином.

Светооптическое исследование окрашенных срезов проводили с помощью микроскопа фирмы «Carl Zeiss» под увеличением от 40 до 400 раз. Морфометрическое исследование выполняли с использованием фотографической насадки к микроскопу «Axioskop».

Посредством программ «Axiovision» и «ImageTool v.3.0» на микрофотографиях проводили подсчет следующих элементов:

- количества нейтрофильных лейкоцитов;
- количества лимфоцитов;
- толщины эпителия пищевода;
- площади новообразованных сосудов микроциркуляторного русла.

Результаты подсчетов заносили в специально разработанный протокол исследования, обрабатывали вариационно-статистическими методами.

Результаты исследования

По серии микропрепаратов была оценена динамика процессов репарации стенки пищевода после повреждения коррозивным агентом. С 5-х по 21-е сутки наблюдали выраженные воспалительные изменения. На 5-е сутки выявлен некроз слизистой, собственной пластинки слизистой, подслизистой основы и фокально мышечного слоя, десквамация эпителия, отек, лейкоцитарная инфильтрация всех слоев стенки. Здесь же наблюдали максимальное число нейтрофильных лейкоцитов, в среднем $95,1 \pm 7,1$ клеток в поле зрения (табл. 1, рис. 1).

К 14-м суткам отмечали отграничение зоны повреждения, выраженную лейкоцитарную инфильтрацию на границе с зоной некроза, обширную зону изъязвления. Дном язвы являлся мышечный слой с массивными гнойно-некротическими массами (лейкоциты, эритроциты, фибрин).

Динамика основных показателей регенерации пищевода

Показатель	Сутки					
	5 суток	14 суток	21 сутки	30 суток	45 суток	60 суток
Нейтрофильные лейкоциты (в поле зрения)	95,1 ± ± 7,1	39,9 ± ± 5,3	20,8 ± ± 1,84	19,6 ± ± 1,68	–	–
Лимфоциты (в поле зрения)	18,5 ± ± 1,2	33,02 ± ± 4,7	48,17 ± ± 3,2	20,3 ± ± 2,9	2	2
Площадь новообразованных сосудов (мкм ² /мм ²)	–	528,53 ± ± 83,5	707,78 ± ± 71,87	2466,99 ± ± 126,94	–	–
Толщина эпителия (мкм)	–	–	–	92,95 ± ± 7,1	185,47 ± ± 15,96	202,06 ± ± 10,14

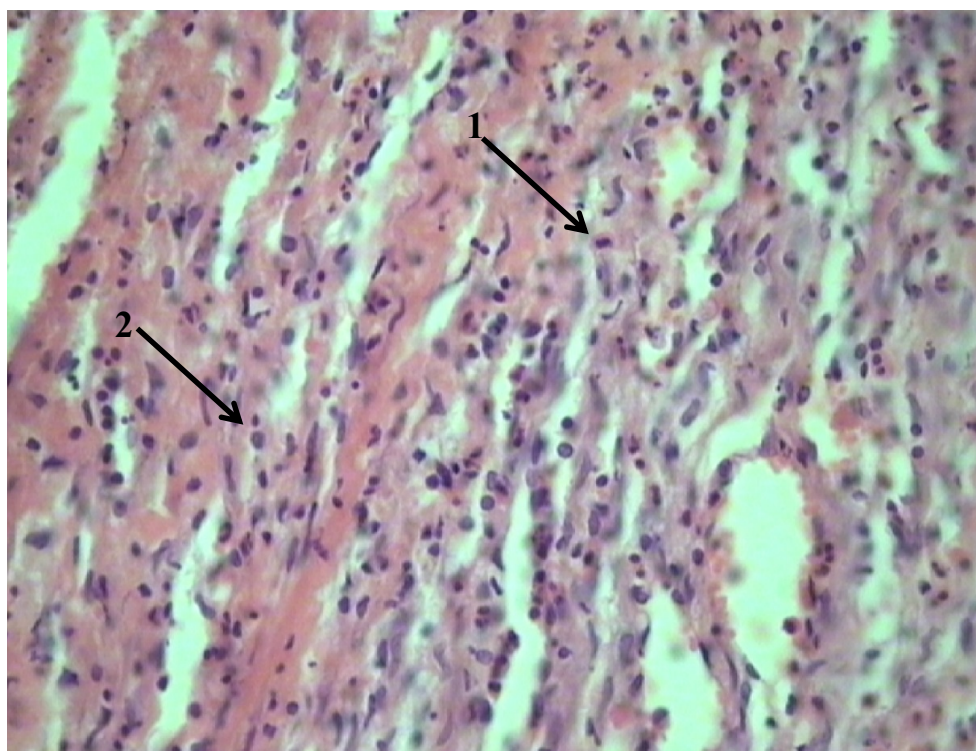


Рис. 1. Нейтрофильные лейкоциты (1) и лимфоциты (2) в зоне ожога пищевода (10 суток). Окраска гематоксилином-эозином (×400)

Число лимфоцитов, основных клеток пролиферативной фазы воспаления, в динамике увеличилось к 21-м суткам, максимальное количество составило $48,17 \pm 3,2$. В это же время наблюдали начало процесса рубцевания стенки пищевода. В зоне некроза отмечали фибропластическую реакцию, появление нежной фиброзной ткани.

Площадь новообразованных сосудов как показателя процесса регенерации и пролиферации соединительной ткани была максимальна к 30-м суткам и составила $2466,99 \pm 126,94$ мкм²/мм² (рис. 2). В эти сроки наблюдали обширную зону грануляционной ткани, полиморфно-клеточный инфильтрат,

состоящий из гистиоцитов, плазмоцитов, лимфоцитов, макрофагов, лейкоцитов, отмечали фокусы плоского эпителия.

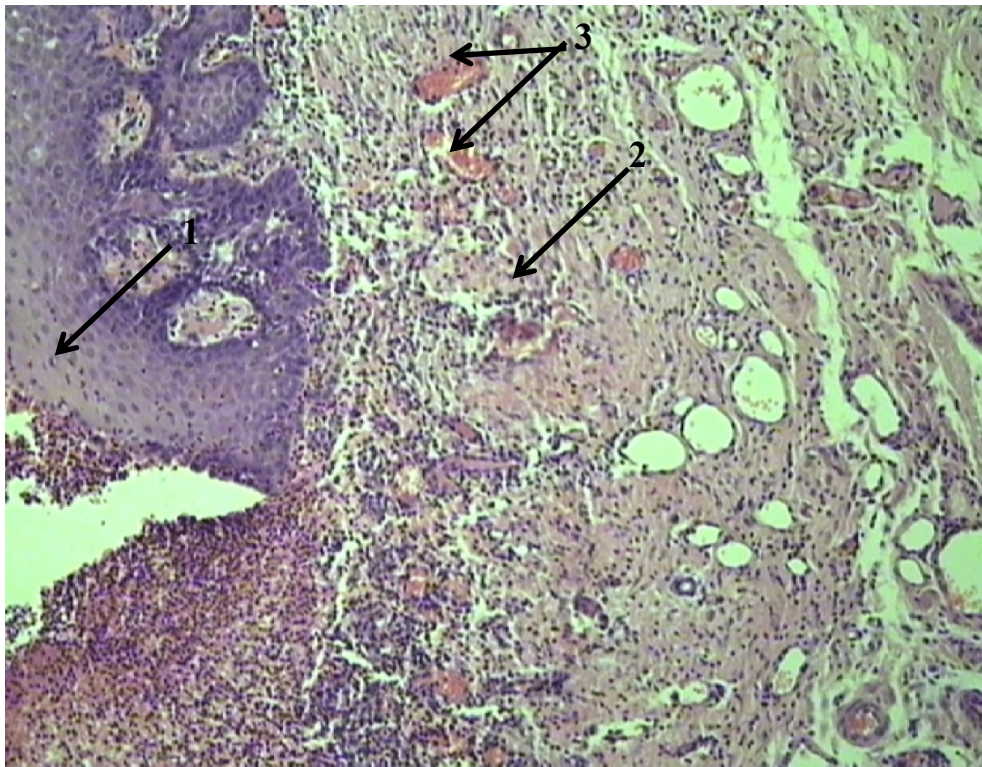


Рис. 2. Восстановленный эпителий (1) и грануляционная ткань (2) с новообразованными сосудами (3) в зоне ожога пищевода (30 суток).
Окраска гематоксилином-эозином ($\times 100$)

На 45-е сутки отмечали на многослойном плоском эпителии участки гиперкератоза, минимальное утолщение мышечного слоя. К этим срокам воспаление купировалось, нейтрофильные лейкоциты и лимфоциты в сроки 45 и 60 суток не определялись.

На 60-е сутки наблюдали выраженный гиперкератоз, акантоз многослойного плоского эпителия пищевода. Определялись очаги резкого утолщения (рис. 3).

Обсуждение

Максимальное количество нейтрофильных лейкоцитов в динамике приходилось на 5-е сутки ($95,1 \pm 7,1$ в полях зрения), что отражало интенсивность процесса воспаления в это время. Максимальное количество лимфоцитов отмечалось на 21-е сутки, что, в свою очередь, отражало начало процесса образования соединительнотканного рубца в стенке органа.

Молодые новообразованные сосуды появлялись на 10-е сутки, достигая максимума на 30-е сутки ($2466,99 \pm 126,94 \text{ мкм}^2/\text{мм}^2$).

Опираясь на этот показатель, можно судить об интенсивности рубцевания пищевода: в сроки 45 и 60 суток формируется зрелая соединительная

ткань. Начиная с 30-х суток образуется новый эпителий. Толщина эпителия достигает своего максимума к 60-м суткам ($202,06 \pm 10,14$ мкм), в структуре стенки пищевода уже имеется зрелая соединительная ткань.

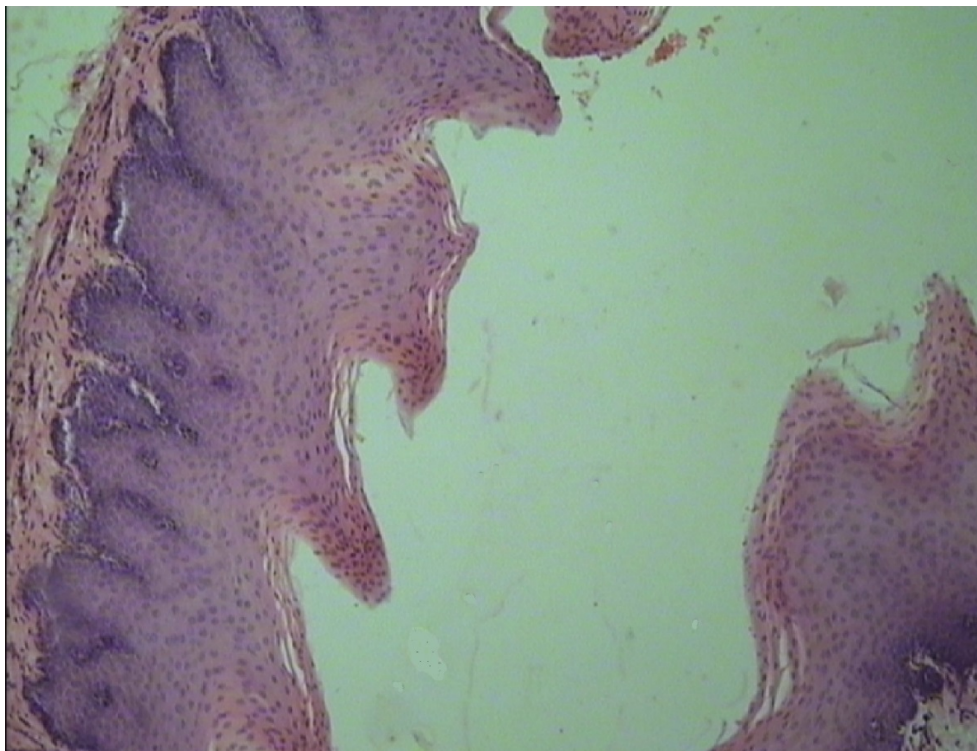


Рис. 3. Многослойный плоский эпителий с умеренными признаками гиперкератоза в зоне ожога пищевода (60 суток). Окраска гематоксилином-эозином ($\times 100$)

Вывод

Оптимальным временем стентирования пищевода по данным гистологического исследования являются сроки с 30-х суток. В этот период времени воспалительные явления стихают и в то же время рубец в стенке пищевода представлен незрелой соединительной тканью.

Список литературы

1. **Доржиев, Б. Д.** Экспериментальная модель химического ожога пищевода и желудка современными агрессивными химическими агентами / Б. Д. Доржиев, М. Л. Тыхенова, К. Д. Пунсуков // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Рос. Академии мед. наук. – 2012. – № 4 (86), ч. 2. – С. 193–197.
2. **Лужников Е. Л.** Клиническая токсикология / Е. Л. Лужников. – М. : Медицина, 2008. – С. 189–213.
3. **Белькова, Т. Ю.** Патогенетические аспекты острой химической травмы веществами прижигающего действия / Т. Ю. Белькова // Сибирский медицинский журнал. – 2001. – № 4. – С. 13–17.
4. **Лужников, Е. А.** Острые отравления у взрослых и детей / Е. А. Лужников, Г. Н. Суходолова. – М. : Эксмо, 2009. – 560 с.

5. **Климашевич, А. В.** Постожоговые рубцовые стриктуры пищевода: профилактика их формирования, тактика лечения / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, О. В. Богонина // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2012. – № 1 (21). – С. 52–61.
6. Стентирование пищевода при послеожоговых рубцовых стриктурах / А. В. Климашевич, В. И. Никольский, О. В. Богонина, А. В. Шабров // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 2, ч. 1. – С. 83–87.
7. Пат. 134422 Российская Федерация, А61В18/14. Устройство для моделирования локального ожога пищевода у экспериментальных животных / В. И. Никольский, А. В. Климашевич, А. В. Шабров ; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пензенский государственный университет». – № 2013123887/14, 24.05.2013 ; опубл. 20.11.2013.

References

1. Dorzhiev B. D., Tykhenova M. L., Punsukov K. D. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Ros. Akademii med. nauk* [Bulletin of West-Siberian center of the Siberian branch of the Russian Academy of Medical Sciences]. 2012, no. 4 (86), part 2, pp. 193–197.
2. Luzhnikov E. L. *Klinicheskaya toksikologiya* [Clinical Toxicology]. Moscow: Meditsina, 2008, pp. 189–213.
3. Bel'kova T. Yu. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal* [Siberian medical journal]. 2001, no. 4, pp. 13–17.
4. Luzhnikov E. A., Sukhodolova G. N. *Ostrye otravleniya u vzroslykh i detey* [Acute poisoning of adults and children]. Moscow: Eksmo, 2009, 560 p.
5. Klimashevich A. V., Nikol'skiy V. I., Bogonina O. V. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy Povolzhskiy region. Meditsinskie nauki* [University proceedings. Volga region. Medical sciences]. 2012, no. 1 (21), pp. 52–61.
6. Klimashevich A. V., Nikol'skiy V. I., Bogonina O. V., Shabrov A. V. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental research]. 2013, no. 2, part 1, pp. 83–87.
7. Pat. 134422 Russian Federation, A61B18/14. *Ustroystvo dlya modelirovaniya lokal'nogo ozhoga pishchevoda u eksperimental'nykh zhivotnykh* [Device for simulation of esophagus local burns in experimental animals]. V. I. Nikol'skiy, A. V. Klimashevich, A. V. Shabrov; Federal State Educational Institution of Higher Professional Education "Penza State University". № 2013123887/14, 24 march 2013.

Никольский Валерий Исаакович

доктор медицинских наук, профессор,
кафедра хирургии, Медицинский
институт, Пензенский государственный
университет (Россия, г. Пенза,
ул. Красная, 40)

E-mail: pmisurg@gmail.com

Nicol'skiy Valeriy Isaakovich

Doctor of medical sciences, professor,
sub-department of surgery, Medical
Institute, Penza State University
(40 Krasnaya street, Penza, Russia)

Климашевич Александр Владимирович

кандидат медицинских наук, доцент,
кафедра хирургии, Медицинский
институт, Пензенский государственный
университет (Россия, г. Пенза,
ул. Красная, 40)

E-mail: klimashevich78@gmail.com

Klimashevich Aleksandr Vladimirovich

Candidate of medical sciences, associate
professor, sub-department of surgery,
Medical Institute, Penza State University
(40 Krasnaya street, Penza, Russia)

Федорова Мария Геннадьевна

кандидат медицинских наук, доцент,
кафедра клинической морфологии
и судебной медицины с курсом
онкологии, Медицинский институт,
Пензенский государственный
университет (Россия, г. Пенза,
ул. Красная, 40)

E-mail: fedorovamerry@gmail.com

Fedorova Mariya Gennad'evna

Candidate of medical sciences, associate
professor, sub-department of clinical
morphology and forensic medicine with
a course of oncology, Medical Institute,
Penza State University (40 Krasnaya
street, Penza, Russia)

Купрюшин Алексей Степанович

кандидат медицинских наук, доцент,
заведующий кафедрой клинической
морфологии и судебной медицины
с курсом онкологии, Медицинский
институт, Пензенский государственный
университет (Россия, г. Пенза,
ул. Красная, 40)

E-mail: kmismsko@mail.ru

Kupryushin Aleksey Stepanovich

Candidate of medical sciences, associate
professor, head of sub-department
of clinical morphology and forensic
medicine with a course of oncology,
Medical Institute, Penza State University
(40 Krasnaya street, Penza, Russia)

Купрюшина Наталья Викторовна

кандидат медицинских наук, заведующая
патологоанатомическим отделением,
Пензенская областная клиническая
больница им. Н. Н. Бурденко (Россия,
г. Пенза, ул. Лермонтова, 28)

E-mail: kmismsko@mail.ru

Kupryushina Natal'ya Viktorovna

Candidate of medical sciences, head
of morbid anatomy unit, Penza
regional clinical hospital named
after N. N. Burdenko (28 Lermontova
street, Penza, Russia)

Шабров Александр Валерьевич

ординатор, кафедра хирургии,
Медицинский институт, Пензенский
государственный университет (Россия,
г. Пенза, ул. Красная, 40)

E-mail: alexundead12@yandex.ru

Shabrov Aleksandr Valer'evich

Resident, sub-department of surgery,
Medical Institute, Penza State University
(40 Krasnaya street, Penza, Russia)

УДК 617-89.844

Никольский, В. И.

Определение оптимальных сроков стентирования пищевода на модели химического ожога пищевода в эксперименте / В. И. Никольский, А. В. Климашевич, М. Г. Федорова, А. С. Купрюшин, Н. В. Купрюшина, А. В. Шабров // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2014. – № 2 (30). – С. 15–22.