Модель ожиріння та безпосередні метаболічні розлади після шунтування шлунка з одним анастомозом у дрібних лабораторних тварин

Р. І. Виноградов, О. С. Тивончук, К. О. Надєїн, В. В. Москаленко

Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова НАМН України, м. Київ

Simulated model of obesity and immediate metabolic disorders after gastric shunting with anastomosis in small laboratory animals

R. I. Vynogradov, O. S. Tyvonchuk, K. O. Nadiein, V. V. Moskalenko

Shalimov National Institute of Surgery and Transplantology, Kyiv

Реферат

Мета. Дослідити метаболічні зміни та особливості мінерального обміну в залежності від довжини загальної петлі при моделюванні шунтування шлунка з одним анастомозом у термін 60 діб.

Матеріали і методи. Проведено моделювання мінішунтування шлунка з одним анастомозом з різною довжиною біліопанкреатичної петлі на щурах. У 10 щурів анастомоз накладено на рівні половини загальної довжини тонкої кишки (1-ша група), ще у 10 – третини загальної довжини тонкої кишки (2-га група). Контрольною групою були 5 щурів. Порівняно показники втрати зайвої маси тіла та метаболічних змін.

Результати. У щурів 1-ї групи показник втрати маси тіла становив 16,6% (41,7 г), 2-ї групи – 20,6% (53,2 г). В обох групах спостерігалось зниження показників мінерального та білкового обміну в порівнянні з доопераційними величинами. Дистрофічні зміни в кістковій тканині тіл хребців поперекового відділу хребта відмічені у тварин обох груп, більш виражені – у 2-й групі.

Висновки. Порушення білкового та мінерального обміну можна спостерігати не тільки при масивній резекції, а й при виключенні половини і більшого сегмента тонкої кишки з пасажу шляхом шунтування шлунка, що не має значних переваг у втраті надлишкової маси тіла, але призводить до більш глибоких метаболічних порушень.

Ключові слова: ожиріння; бариатрична хірургія; мінішунтування шлунка; моделювання; анастомоз.

Abstract

Objective. To study metabolic changes and peculiarities of mineral balance depending on the common loop length while constructing of the simulated model of gastric shunting with one anastomosis during 60 days.

Materials and methods. Experimental simulation of gastric minishunting with one anastomosis of various length of bilio-pancreatic loop was constructed on the rats. In 10 rats the anastomosis was formatted on level of half of total length of small intestine (Group I), and also in 10 – a third part of general length of small intestine (Group II). Control Group consisted of 5 rats. The indices of the extra body mass loss and metabolic changes were compared.

Results. In the rats of Group I the index of the body mass loss have constituted 16.6% (41.7 gm), and of the Group II – 20.6% (53.2 gm). Lowering of indices of mineral and protein metabolism, comparing preoperative values, was observed in both Groups. Dystrophic changes in osseous tissue of vertebral bodies of lumbar vertebral column were noted in animals of both Groups, more pronounced – in Group II.

Conclusion. The protein and mineral metabolism disorders may be observed not only in large resection volume, but in exclusion of half and more segment of small bowel from general transit, using gastric shunting, what lacks significant advantages in the extra body mass loss, but leads to more profound metabolic disorders.

Keywords: obesity; bariatric surgery; gastric minishunting; simulation; anastomosis.

Механізми, які забезпечують метаболічний контроль після шунтування шлунка з одним анастомозом, залишаються до кінця не вивченими [1, 2]. Велика кількість експериментальних досліджень не тільки в загальній, а й у бариатричній хірургії була виконана на гризунах, що допомогло зрозуміти багато фізіологічних процесів після комбінованих та гастрорестриктивних операцій. Проте отримані дані експериментальних досліджень на тваринах завжди потрібно критично оцінювати та не порівню-

вати з фізіологією людини. Шляхом моделювання ожиріння та шунтування шлунка з одним анастомозом на лабораторних щурах з різною довжиною біліопанкреатичної та загальної петлі можна вивчити стан мікроелементів у різні строки після операції.

Мета дослідження: вивчити метаболічні зміни та особливості мінерального обміну в залежності від довжини загальної петлі при моделюванні шунтування шлунка з одним анастомозом у термін 60 діб.

Матеріали і методи дослідження

У 50 білих щурів-самців лінії Вістар застосовували індуковане висококалорійне харчування з високим вмістом тваринного жиру, який становив 45% основного раціону, протягом 3 міс з метою моделювання ожиріння. П'ять щурів із змодельованим ожирінням (контрольна група) були виведені з експерименту шляхом внутрішньоплевральної ін'єкції 1 мл 10% розчину тіопенталу натрію – передозування.

Маса тіла тварин вимірювалась до індукованої дієти, через 1, 2, 3 міс її застосування та через 2 міс після оперативного втручання з метою подальшої оцінки динаміки втрати надлишкової маси тіла. Зміну маси тіла аналізували, використовуючи відсоток, отриманий згідно з формулою: $(\text{фактична маса тіла} - \text{початкова маса тіла}) / (\text{початкова маса тіла}) \times 100$. Індуковане харчування після оперативного втручання не змінювалось. Через 2 міс після оперативного втручання тварини виводились з експерименту. Проводились огляд та забір тканини у ділянках хребта (грудний та поперековий відділи), метаепіфізу стегнової кістки та шийки стегна з кульшовим суглобом, щитоподібних та парашитоподібних залоз, ділянки загальної та білопанкреатичної петлі, печінки.

Хірургічна модель. У тварин 1-ї групи (10 щурів з ожирінням) виконали шунтування шлунка з одним анастомозом з довжиною загальної петлі, яка дорівнювала половині загальної довжини тонкої кишки. У тварин 2-ї групи (10 щурів з ожирінням) виконали шунтування шлунка з одним анастомозом з довжиною загальної петлі, яка дорівнювала третині загальної довжини тонкої кишки. Введення в анестезію виконувалось шляхом внутрішньочеревної ін'єкції свіжоприготовленого розчину тіопенталу натрію в дозі 25 мг/кг (у 2% розчині) за допомогою інсулінового шприца (довжина голки 6 мм).

Щури (n=25), які мали ознаки післяопераційних ускладнень (кишкова, шлункова непрохідність, перфорація стравоходу, перитоніт внаслідок неспроможності швів анастомоза), були виключені з експерименту.

Виконували всі маніпуляції та виводили піддослідних тварин з експерименту з дотриманням біоетичних норм гуманного поводження з лабораторними тваринами у відповідності до положень міжнародних та національних документів стосовно проведення експериментів із залученням тварин: Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986); Загальноетичних принципів проведення експериментів на тваринах (Київ, 2001), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 р. №3447-IV.

Щурам контрольної, 1-ї та 2-ї груп через 60 діб після операції виконувався забір крові шляхом пункції хвостової вени для визначення вмісту загального білка, альбуміну, загального кальцію, фосфору, магнію, заліза, калію за допомогою аналізаторів EasyLytePlus (MedicaCorp., США) та Prestige 24 (PZCORMAYS.A, Польща).

Підготовка до операції та післяопераційне ведення. Усіх щурів, яким планувалась операція, за добу до оперативного втручання поміщали в сухі клітки з вільним доступом до 5% розчину глюкози. Після операції тварини отримували мелоксикам (5 мг/кг), цефтриаксон (20 мг/кг) та 10 мл ізотонічного розчину шляхом підшкірної ін'єкції. На 2-гу добу після операції вводилось рідке харчування (не більше 20 мл на добу збалансованої суміші для ентерального харчування PeptamenAF з нейтральним смаком) з наступним поверненням на індуковане харчування через 4 доби після втручання.

Виконано 45 операцій шунтування шлунка з одним анастомозом. Середня тривалість операції становила (50 ± 5) хв. Загальна смертність – 44,4% (n = 25). В обох групах на першому післяопераційному тижні спостерігались перитоніт внаслідок некрозу стінки шлунка (n=2), перфорація стравоходу (n=3), неспроможність швів анастомоза (n=5), стеноз гастроентероанастомоза з гострим розширенням проксимальної кукси (n=15), безпосередньо пов'язані з показниками «кривої навчання» мікрохірург-

Рис. 1.
Візуалізований ілеоцекальний перехід для повного вимірювання тонкої кишки.

Рис. 2.
Вигляд шлунка після кліпування спареною кліпсою bet-o-lock.

гічної техніки. Всього щодо 20 щурів проведено повний період спостереження за 60 діб, ці тварини були включені в аналіз.

Техніка оперативного втручання. Після обробки операційного поля виконувалась верхньо–серединна лапаротомія. В лапаротомну рану виводилась сліпа кишка з подальшим повним вимірюванням довжини тонкої кишки шляхом прикладання до лінійки її протибрижового краю частинами по 5 см від ілеоцекального кута до дуоденоєюнального переходу, яка відповідала 100% (рис. 1). Інтраопераційно визначалась довжина загальної петлі, що відповідала половині та третині загальної довжини тонкої кишки відповідно. У своєму дослідженні J.–B. Savin і співавтори [3] показали, що загальна довжина тонкої кишки у щурів варіює від 90 до 120 см. У нашому дослідженні загальна довжина тонкої кишки варіювала від 85 до 110 см.

До 1-ї групи включили тварин, у яких довжина аліментарної петлі становила третину, до 2-ї – половину загальної довжини тонкої кишки.

Найбільш відомі методики формування проксимальної кукси за допомогою прошивання стінки шлунка на межі тіла та антрального відділу за допомогою степлерів TADST 30–мм – 3,5 мм [2 – 4] забезпечують герметичне відмежування відділів шлунка, що підтверджується за допомогою томоденситометрії, але вони дороговартісні та потребують ретельнішого хірургічного підходу.

Застосування кліпування шлунка значно знизило частоту неспроможності дистальної та проксимальної кукси

шлунка, а також забезпечило герметичне відмежування відділів шлунка та зменшило середню тривалість операції (рис. 2).

Виконувалась мобілізація великої кривизни шлунка, перигастральна дисекція малої кривизни шлунка дистальніше лівої шлункової артерії та проведення через технологічний отвір у малому сальнику двох спарених між собою полімерних кліпс hem-o-lock (рис. 3) з наступним кліпуванням та перетисканням стінки шлунка на межі тіла та антрального відділу. Резекція дна шлунка нами не виконувалась. У такий спосіб здійснювалось виключення антрального відділу шлунка, дванадцятипалої та проксимальних відділів порожньої кишки.

Гастроентероанастомоз (ГЕА) шириною близько 1 см у діаметрі формувалась безперервним швом на великій кривизні шлунка проксимальніше на 1 см від місця кліпування за допомогою монофіламентної нитки Prolene 8–0 (Ethicon, Somerville, NJ, США). Гастро– та ентеротомія виконувалась за допомогою монополярного ножа. У разі виявлення залишків шлункового вмісту проводилась їх евакуація через гастротомний отвір до повного очищення проксимальної кукси шлунка. Обов'язковим прийомом для профілактики анастомозиту та розвитку гострої непрохідності проксимальної кукси шлунка була крайова резекція слизової оболонки шлунка після виконання гастротомії. Привідна петля тонкої кишки фіксувалась також уздовж великої кривизни шлунка проксимальніше на 1,5 – 2 см від ділянки ГЕА. Ушивання черев-

Рис. 3.
Вигляд спареної кліпси hem-o-lock.

Рис. 4.
Динаміка приросту маси тіла щурів після введення індукованої дієти.

Зміни показників мінерального та білкового обміну у піддослідних тварин

Показники	Досліджувані групи тварин		
	контрольна (n=5)	2-га (n=17)	1-ша (n=18)
Залізо, мкмоль/л	26,4 ± 11,3	5,45 ± 15,3	3,4 ± 5,8
Фосфор, ммоль/л	1,8 ± 0,04	1,22 ± 0,6	1,15 ± 0,42
Кальцій загальний, ммоль/л	2,55 ± 0,17	2,26 ± 0,89	2,1 ± 1,29
Магній, ммоль/л	0,71 ± 0,004	0,67 ± 0,085	0,65 ± 0,07
Загальний білок, г/л	62,3 ± 5,8	44,9 ± 268,3	43,1 ± 305,5
Альбумін, г/л	29,5 ± 4,5	25,2 ± 69,3	23,4 ± 51,6

ної порожнини виконувалось у 2 шари з використанням вікрил рапід 4–0 (Ethicon).

Результати

Вплив на масу тіла дієти з високим вмістом жиру до та після оперативного втручання. Середній показник маси тіла щурів до введення в індуковану дієту становив 180,5 г (рис. 4), після 3 міс індукованої дієти – 256,7 г, середній приріст маси тіла – 76,2 г (42,2%). Згідно з формулою зміни маси тіла у 1-й групі щури мали показник втрати маси тіла 16,6% (41,7 г), у 2-й – 20,6% (53,2 г).

Хірургічний вплив на мінеральний та білковий обмін. В обох групах спостерігалось зниження показників мінерального та білкового обміну в порівнянні з доопераційними показниками (див. таблицю).

Зміни кісткової тканини та парацитоподібних залоз. Дефіцит вітаміну D має переважна більшість людей з ожирінням через недостатнє вживання в їжу харчових продуктів та добавок, що містять вітамін D, недостатню інсоляцію та зменшену біодоступність вітаміну D, які необхідні для розщеплення жиророзчинного надлишку жирової клітковини тканини. Вторинний гіперпаратиреоз на фоні дефіциту вітаміну D є поширеним явищем при ожирінні, незважаючи на прийом висококалорійної їжі.

Мезенхімальним походженням остеобластів та адипоцитів можна пояснити один із механізмів низької мінеральної щільності кісток у людей із ожирінням [5]. Вісцеральний та підшкірний жир має абсолютно протилежний вплив на міцність кісткової тканини, оскільки вісцеральний жир може негативно впливати на формування, структуру та міцність кісток, тоді як підшкірний жир виконує «захисну функцію». Зниження вироблення шлункового соку внаслідок рестриктивного компонента операції та гіпоацидність на фоні прийому блокаторів протонної помпи погіршують всмоктування кальцію, 80% якого

всмоктується у дванадцятипалій кишці, що виключається з пасажу при загальноприйнятих методиках шунтуючих операцій. Аналіз даних літератури показує, що саме дистрофічні зміни в кістковій тканині відбувались після шунтування шлунка за Ру вже через 3 міс після операції. Саме такі зміни спричиняються мальабсорбцією кальцію та низькими показниками рівня вітаміну D до операції. Низькі значення вітаміну D, що спостерігаються до операції, погано піддаються корекції у віддаленому післяопераційному періоді, що практично не зустрічається після гастрорестриктивних операцій [6].

Дистрофічні зміни спостерігались в кістковій тканині тіл хребців поперекового відділу хребта в обох групах тварин. Більш виражені зміни кісткової тканини були у 2-й групі тварин. У поперековому відділі хребта тварин 1-ї групи спостерігались ознаки демінералізації (рис. 5). Остеоматрикс ставав пікринофільним, менш щільним, у волокнистому хрящі міжхребцевих дисків містились осередки дистрофічних змін.

У 2-й групі тварин спостерігались більш значна демінералізація тіла хребця, потоншення кістки, дистрофічні зміни кісткової тканини, гомогенізація та базофілія матриксу, відсутність структурності – ліній цементації на деяких ділянках, вогнищеве просвітлення остеоматриксу на інших ділянках, зниження фуксинофілії матриксу (рис. 6).

Обговорення

Дослідження результатів в експерименті на тваринах не дозволяє впевнитись, що вплив на організм людини матиме однаковий ефект, тому що неможливо повністю відтворити техніку хірургічного втручання. За даними, опублікованими іншими авторами, які моделювали мінішунтування шлунка з одним анастомозом, техніка обмежувалась накладенням анастомоза між тонкою кишкою та стравоходом, через що не було можливості оцінити

Рис. 5.
Мікрофото.
Ділянка кісткової тканини поперекового відділу хребта тварини 1-ї групи (пояснення в тексті).
Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 400$.

Рис. 6.
Мікрофото.
Ділянка кісткової тканини поперекового відділу хребта тварини 2-ї групи (пояснення в тексті).
Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 400$.

вплив жовчного рефлюксу на куксу шлунка [6]. J. B. Cavin і співавтори [3] представили результати модифікації такого оперативного втручання, запропонувавши залишати культю шлунка, тим самим воно було схоже на операцію, що виконують людям. Проте у своїх моделях вони використовували довжину кишки для накладання анастомоза від 60 до 80 см з довжиною білопанкреатичної петлі 35 см. Порівняння безпосередньої залежності довжини білопанкреатичної петлі дозволяє вивчити метаболічний вплив на організм і в такий спосіб наблизитись до стандартизації моделювання. Також одним із варіантів є розроблена методика хірургічного втручання на щурах M. A. Siebert і співавторів [2]. Розроблений метод виключення частини шлунка з пасажу методом накладення модифікованої кліпси hem-o-lock. Публікацій, де було б наведено дані про використання кліпування шлунка, немає. Кліпування, на відміну від прошивання стінок шлунка степлерними апаратами, дозволяє уникнути травми стінок шлунка, що значно зменшує вірогідність операційних ускладнень (кровотеча, перфорація стінки шлунка, реканалізація степлерного шва з наступним утворенням гастрогастральної нориці у віддалені терміни) та, за необхідності, дозволяє відновити прохідність шлунка в ранні строки. За результатами багатьох проведених раніше експериментів іншими авторами можна порівняти тенденцію впливу на організм лабораторних тварин зі схожим впливом на організм людини. Таким чином, після проведення даного експерименту ми припускаємо, що виключення з пасажу більше половини тонкої кишки не матиме переваг у втраті надлишкової маси тіла в порівнянні з виключенням з пасажу менше половини тонкої кишки, але призведе до більш значущих метаболічних порушень. Отже, у подальшому бариатричні хірурги матимуть змогу уніфікувати довжину тонкої кишки для виключення з пасажу, щоб отримати, з одного боку, задовільний вплив на втрату надлишкової маси тіла, а з іншого, максимально зменшити прояви мальнотритивних порушень.

Висновки

Порушення білкового та мінерального обміну можна спостерігати не тільки при масивній резекції тонкої кишки, й при виключенні половини і більшого її сегмента з пасажу шляхом шунтування шлунка, що не має значних переваг у втраті надлишкової маси тіла, але призводить до більш глибоких метаболічних порушень.

Підтвердження

Фінансування. Джерелом фінансування публікації статті є кошти її авторів.

Інформація про внесок кожного учасника. Внесок кожного автора в цю роботу однаковий. Всі автори прочитали і схвалили остаточний варіант рукопису.

Конфлікт інтересів. Автори, які взяли участь у цьому дослідженні, декларують відсутність конфлікту інтересів щодо цього рукопису.

Згода на публікацію. Всі автори дали згоду на публікацію цього рукопису.

References

1. Abdeen G, le Roux CW. Mechanism Underlying the Weight Loss and Complications of Roux-en-Y Gastric Bypass. Review. *Obes Surg*. 2016 Feb;26(2):410–21. doi: 10.1007/s11695-015-1945-7. PMID: 26530712; PMCID: PMC4709370.
2. Siebert MA, Chevallier JM, D'Aurelle de Paladines D, Pottier Y, Msika S, Le Gall M, et al. One-anastomosis Gastric Bypass (OAGB) in Rats. *J Vis Exp*. 2018 Nov 10;(141). doi: 10.3791/58776. PMID: 30474647.
3. Cavin JB, Voiteiller E, Cluzeaud F, Kapel N, Marmuse JP, Chevallier JM, et al. Malabsorption and intestinal adaptation after one anastomosis gastric bypass compared with Roux-en-Y gastric bypass in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2016 Sep 1;311(3):G492–500. doi: 10.1152/ajpgi.00197.2016. Epub 2016 Jul 14. PMID: 27418681.
4. Poghosyan T, Alameh A, Bruzzi M, Faul A, Rives-Lange C, Zinzindohoue F, et al. Conversion of Sleeve Gastrectomy to One Anastomosis Gastric Bypass for Weight Loss Failure. *Obes Surg*. 2019 Aug;29(8):2436–41. doi: 10.1007/s11695-019-03864-x. PMID: 30945152.
5. Parfenov A, Bykova S, Sabelnikova E, Belostotskii N, Khomeriki S, Akhmadullina O, et al. Enteropathy with impaired membrane digestion and rebamipide. *Consilium Medicum*. 2019;21(8):49–57. [In Russian]. doi: 10.26442/20751753.2019.8.190504.
6. Stenström B, Furnes MW, Tømmerås K, Syversen, Zhao CM, Chen D. Mechanism of gastric bypass-induced body weight loss: one-year follow-up after micro-gastric bypass in rats. *J Gastrointest Surg*. 2006 Dec;10(10):1384–91. doi: 10.1016/j.gassur.2006.07.005. PMID: 17175458.

Надійшла 19.07.2020