УДК 616-092.9
DOI 10.34822/2304-9448-2020-4-87-92

РОЛЬ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭНТЕРАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Е. В. Бубович [1], ***В. В. Дарвин*** [1], ***О. Н. Старцева*** [1, 2], ***С. Н. Нохрина*** [3]

[1] *Сургутский государственный университет, Сургут, Россия*

[2] *Сургутская окружная клиническая больница, Сургут, Россия*

[3] *Лангепасская городская больница, Лангепас, Россия*

Цель – установить особенности выраженности эндотелиальной дисфункции при энтеральной недостаточности в различных моделях острой хирургической патологии методом оценки концентрации молекул адгезии PECAM-1 (CD31) в плазме крови экспериментальных животных. **Материал и методы.** Эксперимент проведен на 25 кроликах-самцах породы Шиншилла средней массой 2 700 ± 100 г, которые были разделены на 3 группы: I группа – 5 интактных животных, II группа – 10 кроликов, у которых моделировался перитонит, III группа – 10 животных с моделью острой кишечной непроходимости. Летальность вследствие прогрессирования патологического процесса составила 8 % (2 кролика) на 3-и сутки эксперимента. В течение всего эксперимента проводилось измерение интраабдоминального давления прямым методом. Для оценки степени тяжести интраабдоминальной гипертензии у животных произведен перерасчет показателей, соответствующих нормам интраабдоминального давления для человека. В эксперименте исследована концентрация молекул адгезии PECAM-1 (CD31) во всех группах, а также проведена оценка патоморфологической картины состояния тонкого кишечника и микроциркуляторного русла при острой кишечной непроходимости и перитоните. **Результаты.** У животных во II группе концентрация CD31 была статистически значимо выше ($p < 0,05$) в сравнении с показателями III группы, где моделировался процесс острой кишечной непроходимости на протяжении всего эксперимента, что указывает на более тяжелое повреждение эндотелия сосудов и нарушение тонуса микроциркуляторного русла. При анализе данных измерений интраабдоминального давления статистически значимых различий между двумя группами животных не выявлено. Патоморфологическая картина стенки тонкого кишечника и микроциркуляторного русла зависит от стадии воспаления и уровня интраабдоминального давления при прогрессировании энтеральной недостаточности.

Ключевые слова: перитонит, острая кишечная непроходимость, энтеральная недостаточность, эндотелиальная дисфункция, молекулы адгезии, микроциркуляция, механосенсорный комплекс PECAM-Flk-1.

Шифр специальности: 14.03.03 Патологическая физиология;
14.01.17 Хирургия.

Автор для переписки: Старцева Олеся Николаевна, e-mail: starceva-olesya@inbox.ru

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия хирургическое лечение острых заболеваний органов брюшной полости, таких как острый перитонит и острая кишечная непроходимость, достигло значительных успехов. Однако частота развития осложнений данных состояний в виде энтеральной недостаточности и интраабдоминальной гипертензии остается на высоком уровне. Энтеральная недостаточность представляет собой патологический симптомокомплекс нарушений двигательной, всасывательной, секреторной и барьерной функций кишечника, который является ключевым фактором в генерализации инфекционного процесса, септических осложнений, прогрессировании интраабдоминальной гипертензии и полиорганной недостаточности [1–2]. Так, летальность при острой хирургической патологии, обусловленной перитонитом, достигает 30 %, а при развитии осложнений в виде полиорганной недостаточности – 80–90 % [3–4].

Одной из нерешенных до настоящего времени хирургических проблем остается понимание механизмов развития прогрессирования энтеральной недостаточности и определение ее ранних лабораторных критериев для оказания своевременного патогенетического лечения. Для решения этой задачи значение может иметь накопление знаний о стадийности развития энтеральной недостаточности, выраженности повреждения эндотелия микроциркуляторного русла и структурно-функциональных изменениях в стенке кишки, которые определяются как прогрессированием заболевания, так и повышением интраабдоминального давления.

Цель – установить особенности выраженности эндотелиальной дисфункции при энтеральной недостаточности в различных моделях острой хирургической патологии методом оценки концентрации молекул адгезии PECAM-1 (CD31) в плазме крови экспериментальных животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент проведен на 25 кроликах-самцах породы Шиншилла средней массой 2 700 ± 100 г в соответствии с Европейской конвенцией по защите по-

звоночных животных, используемых для экспериментов и в иных научных целях, и на основании приказа МЗ РФ от 23.10.2010 № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики». Работа выполнена на базе Медицинского института БУ ВО «Сургутский государственный университет» и одобрена этической комиссией. Животных содержали в стандартных условиях вивария, из эксперимента выводили путем передозировки средств для наркоза на 1, 2, 3 и 4-е сутки по 2 кролика из каждой группы.

Для решения поставленной задачи животные были разделены на 3 группы. В I группу (контрольную) вошли 5 интактных кроликов, во II группу – 10 кроликов, у которых моделировался перитонит, в III группу – 10 животных с моделью острой кишечной непроходимости (ОКН). Летальность вследствие прогрессирования патологического процесса составила 8 % (2 кролика) на 3-и сутки эксперимента.

Модель перитонита создавалась по методике В. А. Лазаренко и соавт. (патент № 233826), согласно которой пункционным способом в брюшную полость опытных животных вводилась 10–15 %-ая профильтрованная каловая взвесь в дозе 0,5–1 мл на 100 г массы животного.

Процесс острой кишечной непроходимости моделировался оперативно под наркозом (Ксила – 0,15 мл/кг, Interchemie, Нидерланды + Пропофол 1 %-ый – 5 мл/кг, Norkbrook, Великобритания), в ходе которого после выполнения нижнесрединной лапаротомии на тонкий кишечник, на 1–1,5 см проксимальнее илеоцекального угла, накладывалась двойная лигатура. Затем брюшная стенка послойно ушивалась.

Состояние эндотелия микроциркуляторного русла оценивали по концентрации белковой молекулы PECAM-1 (CD31) в венозной крови ежедневно. Содержание молекул определялось методом иммуноферментного анализа наборами ELISA Kit for Planet/Endotelial Cell Adhesion Molecule (PECAM-1). Анализ проведен согласно протоколу фирмы-производителя. За норму принимали результаты контрольной группы – 60–100 нг/мл.

Для определения тяжести течения синдрома энтеральной недостаточности животным измеряли интраабдоминальное давление (ИАД) в течение всего периода исследования, учитывая показатели функционирования желудочно-кишечного тракта животных (аппетит, вздутие живота, перистальтику, стул). I степень интраабдоминальной гипертензии (ИАГ) расценивали как местный синдром энтеральной недостаточности, II степень и выше – как генерализованный синдром.

Измерение ИАД проводили прямым методом с помощью инвазивного измерителя низких давлений ИиНД-500/75 (ООО «Тритон-ЭлектроникС», Россия). Аппарат подсоединяли к герметично пришитому катетеру 18G, ранее установленному по средней линии живота между брюшиной и апоневрозом под наркозом. За норму принимали уровень ИАД в контрольной группе – 0–1 мм рт. ст.

Для оценки степени тяжести ИАГ у животных были выведены нормы путем перерасчета показателей ИАД в соответствии с нормами для человека (табл. 1).

ROLE OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN PATHOGENESIS OF ENTERAL INSUFFICIENCY

E. V. Bubovich [1], ***V. V. Darvin*** [1, 2], ***O. N. Startseva*** [1, 2], ***S. N. Nokhrina*** [3]

[1] *Surgut State University, Surgut, Russia*

[2] *Surgut Regional Clinical Hospital, Surgut, Russia*

[3] *Langepas City Hospital, Langepas, Russia*

The study aims to establish the features of the severity of endothelial dysfunction in case of enteral insufficiency in various models of acute surgical pathology by assessing the concentration of adhesion molecules PECAM-1 (CD31) in the blood plasma of experimental animals. **Material and methods.** The experiment was carried out on 25 male Chinchilla rabbits with an average weight of 2,700 ± 100 g, which were divided into 3 groups: five intact animals in group I, group II with ten rabbits in which peritonitis was modeled, group III included ten animals with acute intestinal obstruction. Mortality due to the progression of the pathological process was 8 % (two rabbits) on the 3rd day of the experiment. Throughout the experimental study, the intra-abdominal pressure was measured by a direct method. To assess the severity of intra-abdominal hypertension in animals, the indices corresponding to the norms of intra-abdominal pressure for humans were recalculated. The experiment investigated the concentration of adhesion molecules PECAM-1 (CD31) in all groups and evaluated the pathomorphological picture of the state of the small intestine and microvasculature in acute intestinal obstruction and peritonitis. **Results.** In animals in group II, the concentration of CD31 was statistically significantly higher ($p < 0.05$) compared to those in group III, where the process of acute intestinal obstruction was simulated throughout the entire experiment, which indicates more severe damage to the vascular endothelium and impaired tone of the microvasculature. When analyzing the data of measurements of intra-abdominal pressure, no statistically significant differences were found between the two groups of animals. The pathological picture of the wall of the small intestine and the microvasculature depends on the stage of inflammation and the level of intra-abdominal pressure during the progression of enteral insufficiency.

Keywords: peritonitis, acute intestinal obstruction, enteral insufficiency, endothelial dysfunction, adhesion molecules, microcirculation, mechanosensory complex PECAM-Flk-1.

Code: 14.03.03 Pathophysiology;
14.01.17 Surgery.

Corresponding Author: Olesya N. Startseva, e-mail: starceva-olesya@inbox.ru

Таблица 1

Показатели интраабдоминального давления, мм рт. ст.

Показатели ИАД для человека по данным WSACS	Степень ИАГ	Показатели ИАД для экспериментальных животных
5–10	норма	0–1
12–15	I	2–5
16–20	II	6–10
21–25	III	11–15
Более 25	IV	Более 15

С помощью морфологического исследования оценивали степень тяжести микроциркуляторных нарушений и структуру тонкой кишки. Материал фиксировали в 10 %-м нейтральном забуференном растворе формалина (pH 7,2–7,4) в течение 12–24 часов. Готовили парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм по стандартной методике и окрашивали их гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование проводилось на микроскопе Nikon Eclipse Ni M570E, Япония.

Статистическая обработка полученных результатов проведена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к исследованиям в области медицины, с использованием электронного пакета анализа MS Excel. Сравнительный статистический анализ проводился с использованием непараметрического метода точного критерия Фишера при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка концентрации молекул адгезии PECAM-1 (CD31), отражающих состояние эндотелия сосудов, проводилась в динамике во всех трех группах в венозной крови. В контрольной группе данный показатель значительно не изменялся и составил в среднем 93,2 ± 5,23 нг/мл. При этом у животных во II группе с перитонитом этот показатель был статистически значимо повышен ($p < 0,05$) в сравнении с показателем III группы, где моделировался процесс ОКН (табл. 2).

Таблица 2

Динамика изменения концентрации молекулы адгезии PECAM-1 (CD31) у экспериментальных животных

Сутки эксперимента	II группа (n = 10)	III группа (n = 10)
1-е сутки	120 ± 4,5	102,4 ± 2,9*
2-е сутки	138 ± 8,5	106,6 ± 6,2*
3-е сутки	169,5 ± 7,3	110,3 ± 1,8*
4-е сутки	200 ± 10,0	119,6 ± 3,8*

Примечание: * – различия между группами статистически значимы ($p < 0,05$).

Значительное увеличение концентрации молекул адгезии PECAM-1 (CD31) в сыворотке крови животных II группы указывает на более тяжелое повреждение сосудистого эндотелия и нарушение тонуса микроциркуляторного русла при развитии перитонита. Это объясняется тем, что острый воспалительный процесс, развивающийся при перитоните, сопровождается повышенной выработкой в кровотоке медиаторов воспаления – провоспалительных цитокинов. Действие цитокинов обусловливает повреждение сосудистого эндотелия: повреждение цитосклета с активацией межэндотелиального механосенсорного комплекса PECAM-Flk-1, повышение сосудистой проницаемости, снижение тонуса сосудов. Активация комплекса PECAM-Flk-1 приводит к повышенному синтезу адгезивной молекулы PECAM-1 (CD31) и оксида азота, который в данных условиях еще более усугубляет дисциркуляторные расстройства и способствует нарушению целостности эпителиального барьера слизистой оболочки тонкой кишки и всасыванию кишечной микрофлоры в кровоток, тем самым запуская развитие синдрома энтеральной недостаточности [5].

При моделировании ОКН воспалительный процесс не был таким активным, повреждение микроциркуляторного русла было преимущественно вызвано ишемией, обусловленной сосудистым спазмом под влиянием симпатического отдела вегетативной нервной системы и биологически активных веществ, о чем свидетельствовало незначительное повышение PECAM-1 (CD31) в плазме крови лабораторных животных.

Изучение развития и прогрессирования энтеральной недостаточности на основании измерения ИАД показало, что в обеих группах отмечалось его постепенное нарастание выше нормальных значений в диапазоне от 3 до 8 мм рт. ст. начиная со вторых суток эксперимента. При этом статистически значимых различий между II и III группами по уровню ИАГ не выявлено. Распределение уровня ИАД в зависимости от суток эксперимента представлено в таблице 3.

Таблица 3

Динамика интраабдоминальной гипертензии у экспериментальных животных, мм рт. ст.

Сутки эксперимента	II группа (n = 10)	III группа (n = 10)
1-е сутки	0	0
2-е сутки	5,6 ± 0,8	5,4 ± 0,3
3-е сутки	6,0 ± 0,9	4,5 ± 0,8
4-е сутки	7,1 ± 0,8	5,1 ± 0,4

Анализ данных показывает, что повышение ИАД до I стадии на вторые сутки эксперимента соответствует клиническим проявлениям местного синдрома энтеральной недостаточности (снижение аппетита, вздутие живота, отсутствие стула). По мере прогрессирования патологического процесса в группе с перитонитом нарастают нарушения микроциркуляции в кишечнике и, соответственно, происходит возрастание уровня ИАД до II стадии. На 3-и сутки появляются симптомы генерализованного синдрома энтеральной недостаточности, характеризующегося выраженным нарушением работы пищеварительного тракта (отказ от еды и воды, жидкий стул) и генерализацией инфекционного процесса (стойкая гипертермия 38,0 °С). На 4-е сутки уровень ИАГ соответствует также II стадии, однако присоединяются клинические признаки полиорганной недостаточности – малоподвижность животных, появление свистящих хрипов при дыхании, смена гипертермического синдрома гипотермией.

Необходимо отметить, что в III группе животных с ОКН патологический процесс в брюшной полости был менее выражен, клинические симптомы соответствовали только местным проявлениям энтеральной недостаточности, гипертермический синдром (37,6 °С) отмечался только на 2-е сутки эксперимента, при этом ИАГ не превышала I степени.

При микроскопическом исследовании гистологических препаратов тонкой кишки на 2, 3 и 4-е сутки эксперимента были обнаружены стереотипные структурные изменения в стенке кишки и микроциркуляторном русле в обеих группах, выраженность которых ассоциировалась с увеличением уровня ИАД.

При развитии ИАГ I степени (на 2-е сутки) морфологические изменения в стенке тонкой кишки характеризовались некрозом отдельных энтероцитов на верхушках ворсин тонкой кишки, отеком подлежащей собственной пластинки и плотной диффузной лимфоидно-клеточной инфильтрацией, местами с формированием реактивных фолликулов (рис. 1).

На 3-и сутки эксперимента, при повышении ИАГ до II степени, в слизистой оболочке тонкой кишки определялись распространенный отек эпителиальных клеток с отторжением энтероцитов в просвет кишки, выраженное полнокровие сосудов с экстравазацией лейкоцитов и эритроцитов в собственную пластинку (рис. 2а, 2б). Не исключено, что выраженная вазодилатация на уровне микроциркуляторного русла определялась также действием продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), лизосомальных ферментов и медиаторов воспаления [6]. В нашем исследовании в группе животных с перитонитом она сочеталась с увеличением концентрации молекул адгезии, или PECAM-1 (CD31), в 1,8 раза и соответствовала развитию генерализованного синдрома энтеральной недостаточности.

На 4-е сутки были выявлены более тяжелые изменения в стенке тонкой кишки: выраженная гиперемия капилляров и венул, множественные кровоизлияния во всех оболочках кишки, отек с распространением на подслизистый слой, переход деструктивно-воспалительного процесса на серозную оболочку (рис. 3). Такие изменения соответствовали ИАГ II степени и ассоциировались с увеличением концентрации PECAM-1 (CD31) в плазме крови в 2,2 раза и более относительно ее нормальных значений и клиническими проявлениями развивающейся полиорганной недостаточности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушение микроциркуляции является ведущим патогенетическим фактором в развитии энтеральной недостаточности при острой хирургической патологии (перитоните и ОКН). Концентрация молекул адгезии эндотелия PECAM-1 (CD31) в плазме крови статистически значимо возрастает при прогрессировании энтеральной недостаточности и развитии полиорганной недостаточности и, вероятно, может быть ранним маркером поражения эндотелия сосудов микроциркуляторного русла слизистой оболочки тонкой кишки при острой хирургической патологии.

Прогрессирование синдрома энтеральной недостаточности ассоциируется с выраженностью воспаления в стенке кишки, интраабдоминальной гипертензией и увеличением концентрации молекул адгезии эндотелия.

Понимание патогенетических механизмов развития всех стадий энтеральной недостаточности и определение ранних маркеров ее прогрессирования при острой абдоминальной хирургической патологии позволит практическому врачу своевременно определить тактику и улучшить результаты ее лечения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

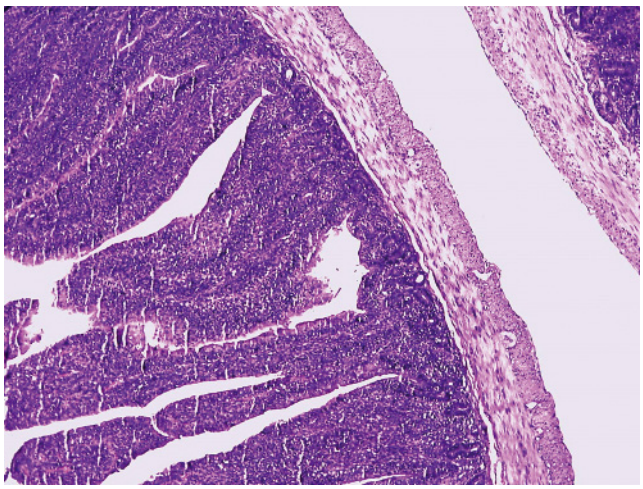
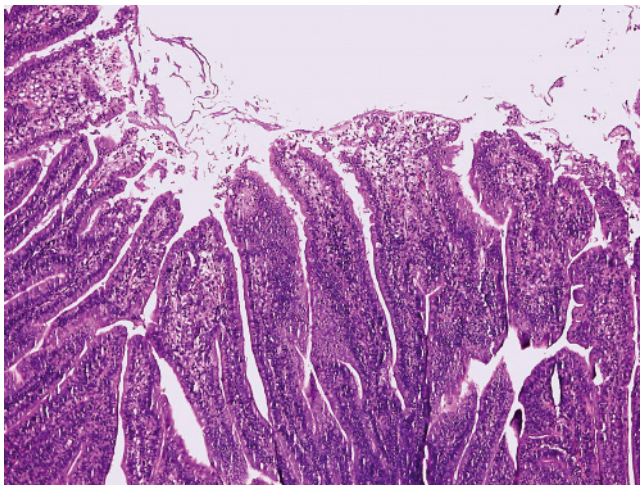
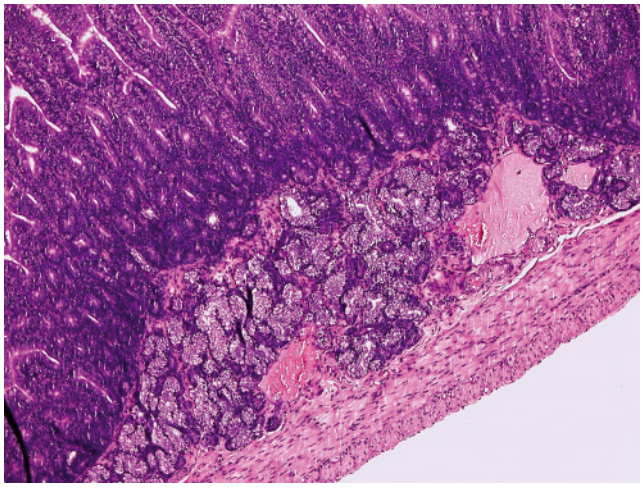


Рис. 1. Стенка подвздошной кишки на 2-е сутки при моделировании перитонита (ув. ×100, окраска гематоксилин-эозином)



2а



2б

Рис. 2а, 2б. Стенка подвздошной кишки на 3-е сутки при моделировании перитонита (ув. ×100, окраска гематоксилин-эозином)

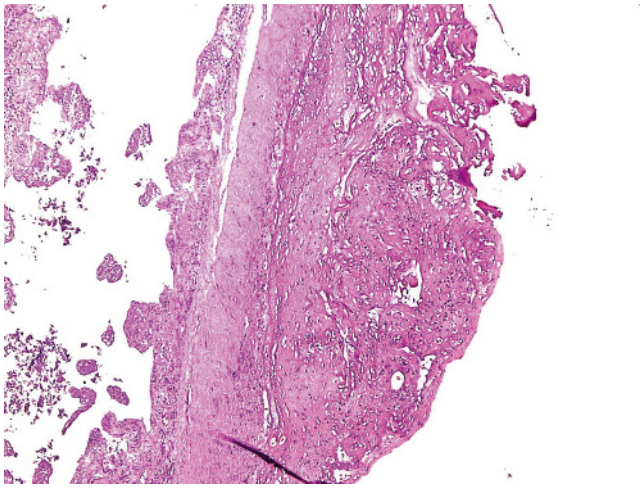


Рис. 3. Стенка подвздошной кишки на 4-е сутки при моделировании перитонита (ув. ×100, окраска гематоксилин-эозином)

ЛИТЕРАТУРА

1. Косинец В. А. Коррекция биоэнергетических процессов в тонкоий кишке при экспериментальном распространенном гноийном перитоните // Эксперимент. и клинич. фармакология. 2012. Т. 75, № 8. С. 39–43.
2. Косинец В. А. Патогенетические аспекты комплексного лечения пациентов с распространенным гноийым перитонитом // Вестник ВГМУ. 2014. Т. 13, № 4. С. 63–69.
3. Федосеев А. В., Бударев В. Н., Муравьев С. Ю., Абу Варда Ф. Х., Борисенко Р. С., Панина Н. Ю., Голякова Н. А. К вопросу диагностики ранних признаков полиорганной дисфункции у больных с синдромом энтеральной недостаточности // Вестник эксперимент. и клинич. хирургии. 2012. Т. 5, № 1. С. 60–64.
4. Паршин Д. С., Топчиев М. А. Лечение синдрома кишечноий недостаточности у больных с разлитым перитонитом // Вестник Тамбов. ун-та. 2013. № 18. С. 296–298.
5. Болевич С. Б., Войнов В. А. Молекулярные механизмы в патологии человека. М. : Мед. информ. агентство, 2012. 208 с.
6. Бубович Е. В., Старцева О. Н. Механизмы нарушений микроциркуляции кишечника на различных стадиях интраабдоминальной гипертензии при острой хирургической патологии // Вестник СурГУ. Медицина. 2019. № 2. С. 69–74.

REFERENCES

1. Kosinets V. A. Correction of Bioenergetic Processes in Small Intestine during Experimental Widespread Purulent Peritonitis // Experimental and Clinical Pharmacology. 2012. Vol. 75, No. 8. P. 39–43. (In Russian).
2. Kosinets V. A. Pathogenetic Aspects of Complex Treatment of Patients with Generalized Purulent Peritonitis // Vestnik of Vitebsk State Medical University. 2014. Vol. 13, No. 4. P. 63–69. (In Russian).
3. Fedoseev A. V., Murav'ev S. Y., Budarev V. N., Abuvarda F. H., Borisenko R. S., Panina N. Y., Golyakova N. A. The Syndrome of Enteric Insufficiency as the Vector of Early Diagnostics of Polyorganic Dysfunction in Urgent Surgery // Journal of Experimental and Clinical Surgery. 2012. Vol. 5, No. 1. P. 60–64. (In Russian).
4. Parshin D. S., Topchiyev M. A. Treatment of Syndrome of Intestine Insufficiency of Poured Festering Peritonitis Patients // Tambov University Reports. Series: Natural and Technical Sciences. 2013. No. 18 (1). P. 296–298. (In Russian).
5. Bolevich S. B., Voinov V. A. Molekuliarnye mekhanizmy v patologii cheloveka. Moscow : OOO Izdatelstvo "Meditsinskoe informatsionnoe agenstvo", 2012. 208 p. (In Russian).
6. Bubovich E. V., Startseva O. N. Mechanisms of Microcirculatory Disorder in Intestine during Various Stages of Intra-Abdominal Hypertension with Acute Surgical Pathology // Vestnik SurGU. Medicina. 2019. No. 2. P. 69–74. (In Russian).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бубович Елена Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патофизиологии и общей патологии, Медицинский институт, Сургутский государственный университет, Сургут, Россия.
E-mail: bubovichev@gmail.com

Дарвин Владимир Васильевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии, Медицинский институт, Сургутский государственный университет, Сургут, Россия.
E-mail: dvv@mf.surgu.ru

Старцева Олеся Николаевна – врач – анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации № 2, Сургутская окружная клиническая больница, Сургут, Россия.
E-mail: starceva-olesya@inbox.ru

Нохрина Светлана Николаевна – биолог клинико-диагностической лаборатории, Лангепасская городская больница, Лангепас, Россия.
E-mail: nsn.77@mail.ru

ABOUT THE AUTHORS

Elena V. Bubovich – Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Department of Pathophysiology and General Pathology, Medical Institute, Surgut State University, Surgut, Russia.
E-mail: bubovichev@gmail.com

Vladimir V. Darvin – Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Head, Department of Hospital Surgery, Medical Institute, Surgut State University, Surgut, Russia.
E-mail: dvv@mf.surgu.ru

Olesya N. Startseva – Anaesthesiologist-reanimatologist, Anaesthesiology and Reanimation Department No. 2, Surgut Regional Clinical Hospital, Surgut, Russia.
E-mail: starceva-olesya@inbox.ru

Svetlana N. Nokhrina – Biologist, Clinical Diagnostic Laboratory, Langepas City Hospital, Langepas, Russia.
E-mail: nsn.77@mail.ru