

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет)
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

На правах рукописи

**КОВАЛЕНКО
АЛЕКСЕЙ АНАТОЛЬЕВИЧ**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПОВЫШЕНИЯ
ЭФФЕКТИВНОСТИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ
ТОНКОКИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ ПУТЕМ АКТИВАЦИИ
МЕСТНЫХ ПЕПТИДЕРГИЧЕСКИХ СИСТЕМ**

14.01.17 – Хирургия

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель
доктор медицинских наук, профессор
Александр Николаевич ЩЕРБЮК
Научный консультант
доктор медицинских наук
Валентина Каргоевна ХУГАЕВА

Москва – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ И ПЕПТИДЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИЙ КИШЕЧНИКА (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР).....	13
1.1 Острая кишечная непроходимость: этиология и патогенез.....	15
1.2 Роль гемодинамики и лимфоциркуляции в патогенезе формирования кишечной непроходимости.....	21
1.3 Структурно-функциональная организация системы опиоидной регуляции функций ЖКТ.....	23
1.4 Эндогенные пептиды – регуляторы функций ЖКТ.....	27
1.5 Пептидергическая регуляция функции ЖКТ при патологических состояниях.....	31
1.6 Защитные эндогенные пептиды – ключевой фактор регуляции гомеостаза кишечной стенки.....	32
1.7 Современные представления о пептидергической регуляции лимфатических сосудов.....	39
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	41
2.1 Дизайн исследования.....	41
2.2 Этические и нормативные процедуры при проведении исследования.....	43
2.3 Основные сведения о лабораторных животных.....	44
2.4 Характеристика объекта исследования.....	46
2.5 Моделирование кишечной непроходимости у крыс.....	46
2.5.1 Создание энтеро-энтероанастомоза.....	51
2.6 Биомикроскопия брыжейки и стенки ТК крысы.....	51
2.6.1 Регистрация сокращения стенки и клапана лимфатических	

микрососудов брыжейки ТК крысы.....	53
2.7 Лазерная доплеровская флоуметрия стенки ТК крысы.....	54
2.8 Методы оценки восстановления структуры и функции кишки после проведения хирургического вмешательства и использования пептида-171.....	55
2.9 Статистическая обработка результатов исследования.....	56
ГЛАВА 3. ВЫЖИВАЕМОСТЬ КРЫС С РАЗЛИЧНЫМИ МОДЕЛЯМИ ТОНКОКИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ.....	57
3.1 Сравнительный анализ выживаемости животных при различных видах экспериментальной тонкокишечной непроходимости и введении опиоидного пептида.....	57
3.2 Изучение влияния возрастных и гендерных факторов на выживаемость животных при экспериментальной тонкокишечной непроходимости и введении опиоидного пептида.....	63
ГЛАВА 4. МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ В БРЫЖЕЙКЕ И СТЕНКЕ ТК КРЫСЫ В ДИНАМИКЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО РАЗРЕШЕНИЯ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ И ПРИ ВВЕДЕНИИ ПЕПТИДА.....	70
4.1 Динамика показателя микроциркуляции стенки ТК крыс с различными моделями ТКН (по данным ЛДФ).....	70
4.2 Биомикроскопическое изучение реакции кровеносных и лимфатических сосудов при ТКН в контроле и при введении пептида.....	77
4.2.1 Реакция элементов венозного русла брыжейки ТК при КН в контроле и при введении пептида.....	77
4.2.2 Реакция лимфатических микрососудов брыжейки ТК крысы при КН в контроле и при введении пептида.....	80

ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ЛИМФОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА В ВОССТАНОВЛЕНИИ СТРУКТУРЫ КИШЕЧНОЙ СТЕНКИ ПОСЛЕ ЕЕ РЕЗЕКЦИИ И НАЛОЖЕНИЯ МЕЖКИШЕЧНОГО АНАСТОМОЗА ПО ПОВОДУ ТОНКОКИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ.....	84
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	96
ИТОГИ ВЫПОЛНЕНИЯ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	106
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	107
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	108
ВЫВОДЫ.....	109
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	111
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	112

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Кишечная непроходимость (КН) – это грозное осложнение различных заболеваний органов брюшной полости и сердечно-сосудистой системы. Выделяют большое количество предрасполагающих факторов КН, которые могут быть врожденными (удлинение участков кишки, аномалии развития) и приобретенными. Наиболее частыми приобретенными факторами являются: спаечный процесс после воспалительных заболеваний брюшной полости или перенесенной операции, различного рода опухоли, грыжи передней брюшной стенки и др. [1]. Следует отметить, что с увеличением продолжительности жизни населения растет число заболеваний кишечника, сопровождающихся развитием острой кишечной непроходимости.

По данным современных исследований, летальность при острой кишечной непроходимости остается высокой и зависит в первую очередь от времени с момента начала заболевания и от вида КН. При декомпенсированной КН прогноз, как правило, неблагоприятный. Несмотря на существование различных причин КН, универсальным звеном патогенеза является нарушение микроциркуляции в стенке кишки, приводящее к некрозу [2]. Необратимые нарушения микроциркуляции стенки кишки возникают через 12 часов от момента начала заболевания и со временем прогрессируют. В этот период начинают накапливаться продукты эндогенной интоксикации. Развивается гиповолемия, что также ухудшает процессы микроциркуляции.

В случае механической КН основным методом лечения является хирургическое вмешательство, которое заключается в устранении причины, вызвавшей ОКН, при необходимости – резекция нежизнеспособного участка кишечника с последующим восстановлением пассажа кишечного содержимого [3]. Наложение межкишечного анастомоза в условиях КН сопровождается высокой частотой его несостоятельности (несмотря на проводимую коррекцию водно-электролитных нарушений) и развитием

вторичного перитонита. Главная причина несостоятельности межкишечного анастомоза при КН – нарушения микроциркуляции в стенке кишки [4].

В связи с этим возникло предположение о возможности улучшения прогноза операции с помощью методов, улучшающих микроциркуляцию [5]. Несмотря на применяемые способы активации кровотока и улучшения реологических свойств крови, процент осложнений и летальность остаются на высоком уровне [6].

Степень разработанности темы исследования

На протяжении последних 35 лет в ФГБНУ «НИИ общей патологии и патофизиологии» проводились экспериментальные исследования, показавшие возможность восстановления микрогемоциркуляции с помощью стимуляции лимфотока в микрососудах. В.К. Хугаевой в 1988 году обнаружен новый вид регуляции лимфатических микрососудов – опиодергическая. Использование опиодных пептидов прямого действия при ишемии мозга, воспалении кожи и кардиогенном отеке легких [7, 8] дали положительные результаты. Лимфостимуляторы прямого действия активируют сокращение стенки и клапана лимфатического микрососуда [7, 8]. При этом происходит активное дренирование лимфы в лимфатические узлы, что способствует дезинтоксикации.

Микроциркуляторная сеть кишечной стенки богата лимфатическими сосудами. Их плотность обусловлена всасыванием питательных веществ из просвета кишечника [9].

Таким образом, возможность направленно влиять на микролимфоциркуляцию, а также лимфодинамику, стала предпосылкой к применению метода прямой лимфостимуляции при острой кишечной непроходимости.

Цель исследования

Экспериментальное обоснование роли активатора микролимфоциркуляции (опиоидного пептида-171 прямого действия) в комплексном хирургическом лечении тонкокишечной непроходимости.

Задачи исследования

1. Разработать экспериментальные модели непроходимости тонкого кишечника для последующего изучения роли пептидергической регуляции микроциркуляции.

2. Изучить выживаемость животных с тонкокишечной непроходимостью в зависимости от ведущего патофизиологического механизма ее развития, пола и возраста, и влияние опиоидного пептида на этот процесс.

3. Оценить состояние микроциркуляции в зоне энтеро-энтероанастомоза и в прилегающих к нему участках у животных, прооперированных по поводу КН, с помощью метода лазерной доплеровской флоуметрии и биомикроскопии.

4. Изучить влияние синтетического пептида на стимуляцию лимфотока в брыжейке ТК крысы, динамику микроциркуляции и выживаемость после резекции ТК. Определить адаптационный потенциал пептида в саногенезе КН в комплексе с оперативным лечением.

5. Обосновать целесообразность применения активации лимфотока в комплексном лечении тонкокишечной непроходимости.

Научная новизна исследования

Впервые проведено комплексное изучение адаптационно-регулирующей роли синтетического лимфостимулирующего опиоидного пептида-171 при его местном однократном применении в процессе саногенеза после хирургического лечения тонкокишечной непроходимости.

В работе определен и обоснован патофизиологический и прогностический потенциал моделирования различных видов непроходимости ТК в эксперименте. На основании анализа шансов выживаемости животных и характера микроциркуляторных нарушений в различных половозрастных группах разработана оптимальная экспериментальная модель острой хирургической патологии и оперативного

вмешательства по поводу нее, позволившая изучить микроциркуляцию в зоне энтеро-энтероанастомоза и в прилегающих участках с помощью функциональных и морфологических методов исследования.

Впервые с целью коррекции нарушений микроциркуляции после резекции ТК при кишечной непроходимости использован опиоидный пептид, обладающий прямым лимфостимулирующим действием. Установлено, что использование данного вещества при кишечной непроходимости восстанавливает нарушенную микроциркуляцию, уменьшает отек и препятствует повреждению ткани ТК. Впервые при биомикроскопии показано патофизиологическое значение изменения диаметра микрососудов и активности лимфатических микрососудов в динамике тонкокишечной непроходимости, а также при применении лимфостимулирующего пептида. Его использование позволило повысить выживаемость животных независимо от веса, их выживаемость всегда превышала выживаемость животных контрольной группы.

Теоретическая и практическая значимость исследования

В условиях биомикроскопии получены новые знания о микроциркуляции в стенке кишки в патогенезе тонкокишечной непроходимости. Установлено, что лимфостимулирующий пептид играет важную роль в регуляции микроциркуляции в стенке кишки при тонкокишечной непроходимости. Результаты исследования показали важное значение состояния микроциркуляции брыжеечных микрососудов и стимуляции лимфотока при хирургическом лечении тонкокишечной непроходимости.

Практическая значимость работы заключается в возможности использования прямой активации лимфотока с помощью лимфостимулирующего пептида для коррекции нарушений микроциркуляции в комплексном лечении тонкокишечной непроходимости. Модифицированные методы изучения состояния микроциркуляции в стенке

кишки дают возможность для исследования заболеваний кишечника в эксперименте при биомикроскопии.

Методология и методы исследования

Использовали несколько методических подходов для формирования тонкокишечной непроходимости, основанных на анализе реальной клинической практики: окклюзия брыжеечных артерий, перекрут петли кишки, перевязка кишки, а также их сочетаний.

Для анализа патогенетической значимости разрабатываемой модели изучали выживаемость животных в различных возрастных и половых группах. Использовали систему периодизации возраста крыс по Т.А. Гуськовой (2002).

Регуляторная роль активации регионарной опиоидной пептидергической системы была оценена путем регистрации показателя микроциркуляции в стенке кишки методом лазерной доплеровской флоуметрии, а также анализа структурно-функциональных свойств венозных и лимфатических микрососудов брыжейки и кишечной стенки методом биомикроскопии.

Эффективность местного использования синтетического агониста дельта-опиатных рецепторов оценивалась на основе гистологического исследования кишки в области сформированного анастомоза на 7-е сутки после хирургического вмешательства.

Положения, выносимые на защиту

1. Лимфостимулятор прямого действия, опиоидный пептид №171, способствует уменьшению проявлений тонкокишечной непроходимости, улучшает микроциркуляцию, препятствует повреждению стенки тонкого кишечника.

2. Использование пептида №171 увеличивает выживаемость животных при его предварительном введении.

3. Разработанная модификация метода прижизненного изучения тонкокишечной непроходимости позволяет исследовать динамику КН.

Степень достоверности

Достоверность изложенных в диссертации результатов обусловлена строгим соблюдением требований Правил надлежащей лабораторной практики при работе с экспериментальными животными, в том числе в части соблюдения требований к их содержанию; использованием в работе здоровых крыс; применением методов исследования с высокой степенью доказательности; использованием лабораторного оборудования, расходных материалов и находящихся в исправном техническом состоянии инструментов ведущих отечественных и зарубежных производителей; надлежащим и объективным ведением записей исследования; применением адекватных методов статистической обработки полученных данных.

Практическое внедрение

Изучение микроциркуляции в зоне энтеро-энтероанастомоза и в прилегающих участках после резекции ТК при КН с помощью биомикроскопии и гистологических методов исследования активно применяется в научных исследованиях сотрудниками лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Апробация диссертационного исследования

Апробация диссертации состоялась на совместном заседании кафедр оперативной хирургии и топографической анатомии, госпитальной хирургии №1 лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ «НИИОПП» Протокол № 6 «26» июня 2019 г.

Результаты работы были доложены и обсуждены на Конкурсе на лучший научный и инновационный проект студентов и молодых ученых российских и зарубежных вузов (медицинское и фармацевтическое образование) (2007); Итоговых научных конференциях молодых исследователей с международным участием «Татьянин день» (Москва, 2007,

2008, 2010, 2012); VII, IX, X, XI Международных конференциях «Гемореология и гемоциркуляция» (Ярославль, 2009, 2013, 2015, 2017); XIII ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева с Всероссийской конференцией молодых ученых (Москва, 2009); Успенски чтения. Научно-практическая конференция врачей России с международным участием, посвященная 60-летию кафедры общей хирургии Тверского государственного медицинского университета (Тверь, 2015); 90-й Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Теоретические и практические аспекты современной медицины», посвященной 100-летию медицинского образования в Крыму (Симферополь, 2018); 10th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy (ISCAA) (Moscow, 2018); XX международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI веке» «Отечественная медицина как основа развития современного здравоохранения» (в аспектах модернизации технологии, информации, науки и системы образования) (Москва, 2018); VI межвузовском форуме студентов и молодых специалистов «Aescular medical science and skills» (Москва, 2018).

Личный вклад автора

Автором предложена идея и детально разработан план настоящего диссертационного исследования. Автор провел обзор отечественных и иностранных научных источников, сформировал дизайн проекта. Автором лично выполнены все инвазивные вмешательства на животных, смоделированы варианты ТКН, проведено формирование межкишечного анастомоза. Автор лично регистрировал изменения микроциркуляции и оценивал структурно-функциональное состояние микрососудистого русла поврежденных участков кишки у экспериментальных животных, проводил наблюдение и регистрацию летальности крыс в различных половозрастных группах. При непосредственном и деятельном участии автора выполнено гистологическое исследование участков кишки. Автор активно участвовал в написании публикаций и подготовке заявки на получение патента на

изобретение Российской Федерации. Автором лично написаны данная рукопись исследовательского труда и автореферат диссертации.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 печатных научных работ: 3 статьи в изданиях из перечня Высшей аттестационной комиссии при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 6 работ в сборниках научно-практических конференций, а также 1 патент на изобретение Российской Федерации.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста и состоит из введения, шести глав (обзор литературы, описания материалов и методов исследования, трех глав с описанием результатов собственных исследований, заключения), выводов и библиографического списка из 239 источников (167 – иностранных, 72 – отечественных). Работа иллюстрирована 10 таблицами и 29 рисунками.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ И ПЕПТИДЕРГИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИЙ КИШЕЧНИКА

Среди urgentных хирургических заболеваний кишечная непроходимость (КН) продолжает занимать лидирующие позиции. Ежегодно на долю КН среди другой хирургической патологии приходится от 10 до 30% случаев. Так, ОКН заболевают более 20-25 человек на 100000 населения [10]. При этом КН главная причина смерти больных с «острым животом». Смертность при КН остается крайне высокой в некоторых группах больных, не претерпев изменений с 50-х годов XX в. В среднем летальность варьирует в пределах 4,3–18,9%, достигая у больных старше 60 лет 36%, а среди пациентов с ранней послеоперационной кишечной непроходимостью – 82%. Отчасти такая высокая летальность связана с поздним началом лечения. Одной из причин задержки оказания помощи является несвоевременная диагностика заболевания [11].

За последние годы количество пациентов с отдельными видами острой кишечной непроходимости (инвагинацией, заворотом, узлообразованием) уменьшилось в 2–3 раза. Так, инвагинация составляет 3–5%, заворот и узлообразование — 4–6% от всех форм кишечной непроходимости неопухолевого генеза. В то же время увеличилось число пациентов с обтурационной кишечной непроходимостью опухолевого генеза (20–30%) и спаечной болезнью брюшной полости (50–80%) [12].

В настоящее время КН рассматривается как клинический симптомокомплекс, характеризующийся прекращением или нарушением прохождения содержимого по кишечнику, вызванным различными причинами (механическим препятствием и/или изменением двигательной активности) [4,

13, 14, 15]. Причины, приводящие к этому, различны. Среди них выделяют спаечную болезнь кишечника, различные опухолевые процессы, инвагинацию, болезнь Крона и др. В связи с этим КН не может рассматриваться как самостоятельное заболевание, а представляет собой осложнение различных острых и хронических заболеваний органов брюшной полости [16,17].

Кишечная непроходимость описывалась еще в трудах Гиппократ и Галена. Причиной ее, по мнению ученых «служила обильная, неумеренная еда и питье, охлаждение живота, толчки живота» [18].

В целом до XVIII в. имел место описательный период заболевания с малоэффективным консервативным лечением, в ходе которого назначались противосудорожные средства, приемы ртути, свечи, клизмы, вдувание воздуха, кровопускание. Следует отметить, что вдувание воздуха, описанное сотни лет назад, сейчас активно применяется в лечении инвагинации у детей.

В конце XVI в. Riolan и Holdanus впервые описали инвагинацию кишечника. В 1654 г. анатом Bartilin во время вскрытия обнаружил желчекаменную кишечную непроходимость. Позже Léon Bouveret описал ее пилородуоденальную форму (синдром Бувере). Здесь стоит напомнить, что единственно возможным путем попадания в просвет кишечника крупного желчного конкремента является формирование холецистодуоденального свища.

В 1797 г. Hunter описал спаечный процесс в животе после огнестрельного ранения.

В конце XIX в. Eduard Georg von Wahl описал симптомы непроходимости (ныне известный как синдром Валя) в труде *Die Aetiologie und Therapie des Ileus* («Этиология и лечение непроходимости») [18].

Первый рентгеновский снимок при кишечной непроходимости был описан Беклером (Becler) в 1906 г., а в 1919 г. Kloiber описал патогномичный рентгенологический признак заболевания —

горизонтальные уровни жидкости и скопление над ними газа (чаши Клойбера) [19].

Не осталась в стороне от изучения кишечной непроходимости отечественная школа хирургии. Н.М. Максимович-Амбодик в своих трудах еще в 1781 г. описывал илеус. В 1838 г. В.П. Добровольский опубликовал монографию «О болезни, именуемой илеусом». С.С. Вайль выделил обтурационную и странгуляционную формы кишечной непроходимости. С.И. Спасокукоцкий предложил токсическую теорию патогенеза, а А.В. Вишневский и П.Н. Маслов предложили лечебно-диагностический прием при этом заболевании.

Патогенез острой кишечной непроходимости в современном мире рассматривается как многофакторный процесс, сочетающий рефлекторные, дегидратационные и интоксикационные компоненты. Прогресс патологической физиологии и биохимии, появление более развитой экспериментальной базы создают условия для совершенствования знаний о патогенетических механизмах [20].

1.1 Острая кишечная непроходимость: этиология и патогенез

Универсальность патогенеза и клинических проявлений, единые подходы в диагностике и лечении патологического состояния, связанного с нарушением пассажа кишечного содержимого в аборальном направлении (от желудка к прямой кишке), в настоящее время рассматривается как полиэтиологическое состояние, именуемое КН, и как самостоятельная нозологическая единица [13, 4, 14, 15].

Этиологические факторы кишечной непроходимости принято разделять на предрасполагающие (как правило, механические изменения брюшной стенки, связочного аппарата брюшной полости, брыжейки или стенки кишки, инородные тела в просвете кишки) и производящие (чаще функциональные расстройства моторики) [21,22].

Первая группа включает в себя врожденные и приобретенные

состояния. К врожденным относятся разного рода особенности и аномалии анатомического строения кишки и кишечной стенки: удлинение участков кишки (мегаколон, долихосигма), незавершенность поворота кишечника, врожденные стенозы и окклюзии кишечника, пороки развития нервно-мышечного аппарата кишки [23]. К приобретенным факторам следует отнести спаечный процесс в брюшной полости, развивающийся после хирургических вмешательств и воспалительных заболеваний органов брюшной полости, приобретенные наружные и внутренние грыжи, новообразования, обтурация просвета желчными камнями, фитобезоарами, каловыми камнями, гельминтами [24,25].

Производящие факторы — резкое увеличение двигательной активности кишечника вследствие повышенной пищевой нагрузки (особенно после голодания), медикаментозной стимуляции, повышения внутрибрюшного давления при тяжелой физической нагрузке, развития энтероколита.

Доказана роль нерегулярного, несбалансированного и недостаточного питания в развитии КН [26,27].

Первая научно-обоснованная классификация острой кишечной непроходимости была предложена в XVII в. Ранхиным, разделившим все виды ОКН на вызванные закупоркой кишки изнутри (*obturatio*) и сдавлением кишки извне (*compressio*). В 1948 г А.Г. Соловьев сформулировал классификацию ОКН, имеющую много общего с современной. В дальнейшем она неоднократно модифицировалась различными авторами, однако принципиальное деление ОКН на механические и динамические формы неизменно сохранялось [28].

В настоящее время наиболее важным в тактическом плане является разделение больных на три формы заболевания: странгуляционную, обтурационную и мезентериальную [11,29]. Нецелесообразно отдельно выделять так называемую смешанную форму, которая имеет признаки как странгуляционной, так и обтурационной непроходимости. Это вносит неопределенность как в терминологическом, так и в тактическом плане, не

позволяя обеспечить своевременное лечение пациентов.

1. Обтурация – нарушение пассажа по различным отделам кишечника без нарушения кровоснабжения органа. Чаще всего причиной такой формы являются спайки брюшной полости, желчные камни, безоары.

2. Странгуляция – нарушение кровоснабжения кишки в месте нарушения пассажа, встречается при спайках брюшной полости, инвагинации, завороте и узлообразовании.

3. Мезентериальная форма непроходимости (вследствие нарушения артериального притока и/или венозного оттока по сосудам брыжейки без странгуляции) выделяется не всеми авторами.

В динамике развития болезни различают три фазы (стадии) (табл. 1.1).

Патофизиологическая основа 3-й стадии – формирование на фоне обезвоживания трех источников эндотоксикоза. Вследствие развития симбиотного пищеварения и изменения градиента аллохтонной флоры в дистально-проксимальном направлении, накопления жидкости и газов в приводящем отделе кишки формируется внутрикишечный – первый источник интоксикации. Вторым источником интоксикации является стенка кишки, из тканей которой в кровеносное русло поступают лизосомальные ферменты, оказывающие повреждающее действие, которые определяют различной степени выраженности изменения со стороны всех органов и систем. В этой стадии происходит быстрое инфицирование первоначально геморрагического экссудата в брюшинной полости, развитие гнойного перитонита – третьего источника интоксикации.

В зависимости от уровня локализации патологического фактора, вызывающего КН, выделяют тонкокишечную (частота встречаемости 60-70%) и толстокишечную (частота 30-40%) непроходимость [30,31].

Острая тонкокишечная непроходимость (ОТКН) является распространенным острым хирургическим заболеванием [32-37] и среди всех хирургических больных, поступающих в стационары с острой болью в животе, составляет до 20% [1,38-42]. Летальный исход наблюдается у 10,5–

64,2% больных и за последние годы не имеет тенденции к снижению [39, 43]. К сожалению, несмотря на распространение новых медицинских технологий в медицинскую практику, ОТКН остается тяжелым и опасным заболеванием [44, 45, 32, 46, 47], а при развитии перитонита или токсико-септического шока летальность достигает 70–100% [48-52].

Таблица 1.1 Стадии кишечной непроходимости

Стадия КН	Лидирующие симптомы
1 стадия – стадия ишемии	Боль
2 стадия – стадия волевических расстройств	Рвота, наличие симптома Матье-Склярора («шум плеска»), наличие свободной жидкости в брюшной полости
3 стадия – стадия интоксикации и перитонита	Эндотоксикоз и симптомы перитонита

Причиной ОТКН чаще – от 50 до 75% случаев – бывают послеоперационные спайки брюшной полости [53-57]. Это обусловлено ростом количества хирургических вмешательств на органах брюшной полости и результативного лечения перитонитов различной этиологии, а также иных гнойно-воспалительных заболеваний брюшной полости, при которых спайки развиваются в 63–97% случаев [57, 59]. Более 30% пациентов, перенесших хирургические вмешательства на органах брюшной полости, госпитализируются повторно для лечения спаечной болезни и ее осложнений, и примерно у 20% из них ведущей причиной является ОТКН [58].

Опухолевые поражения кишки, особенно у лиц пожилого и старческого возраста, являются причиной кишечной непроходимости. В подавляющем большинстве случаев острая кишечная непроходимость является осложнением колоректального рака, которое возникает у 15–20% больных

[60-65]. В этой возрастной группе старше 50 лет опухоли толстой кишки имеют осложненное течение в 42,5–86,2% случаев [66, 67].

По данным [67, 68], наиболее часто непроходимость толстой кишки встречается у лиц пожилого и старческого возраста (55%). Обтурационная непроходимость в два раза чаще развивается при раке левой половины ободочной кишки, чем её правой половины [69].

При одной и той же форме КН показатели летальности могут быть различны. Факторы, увеличивающие смертность при КН, следующие: длительность болезни, время обращения за медицинской помощью от начала заболевания, возраст больного, наличие сопутствующих заболеваний и их декомпенсация, а также объем выполненного оперативного вмешательства [70, 71, 72]. Хирургия острой кишечной непроходимости сопряжена с высоким уровнем летальности, достигающим 25%, частым развитием послеоперационных осложнений [73]. Диагностика спаечной КН часто вызывает сложности, что является причиной задержки операции, и поэтому приводит к увеличению частоты послеоперационных осложнений, а также летальности.

Причинами острой тонкокишечной непроходимости (ОТКН), по данным научной литературы, также могут быть инвагинации, гематомы стенки кишки, болезнь Крона, первичные новообразования стенки ТК, патология мезентеральных сосудов, энтериты на фоне лучевой терапии, миграция желчных камней в просвет ТК, безоары, дистальный интестинальный обструктивный синдром, инородные тела ТК, эндометриоз, внутрибрюшные спайки, грыжи живота – как брюшной стенки, так и внутренние [74].

Патогенез ОТКН затрагивает все органы и системы. Однако центральным звеном при развитии непроходимости является непосредственно сама тонкая кишка, представляя собой первичный и основной источник эндогенной интоксикации. Прогрессирующее перерастяжение кишечных петель и, как следствие, нарушение

микроциркуляции в стенке кишки, приводит к нарушению моторной, секреторной и всасывательной функций тонкой кишки. Интрамуральная ишемия стенки кишки приводит к нарушению барьерной функции слизистой и, как следствие, транслокации бактерий и продуктов их жизнедеятельности в венозные и лимфатические микрососуды [75]. Тонкая кишка при ОКН становится мощным источником интоксикации, усугубляя гомеостатические нарушения и декомпенсируя функциональные кишечные нарушения, тем самым замыкая «порочный круг» [76]. Это способствует развитию тяжелых интраабдоминальных осложнений, а их частота напрямую связана с выраженностью и длительностью ОКН, особенно у больных пожилого и старческого возраста [77].

Патофизиологические изменения при ОКН особенно сильно выражены при странгуляционной форме кишечной непроходимости. Сдавление сосудов брыжейки приводит к снижению артериального притока и нарушению венозного оттока. Высвобождение медиаторов воспаления (кинины и гистамин), повышающих проницаемость сосудистой стенки, а также водно-электролитные нарушения приводят к появлению интерстициального отека. Затем появляются признаки нарушения пассажа по кишке с секвестрацией жидкости и волемическими нарушениями. На этом фоне под влиянием выраженной ишемии, дополнительного воздействия микробных и тканевых эндотоксинов возникает деструкция кишечной стенки. При странгуляционной непроходимости нарушение барьерной функции слизистой происходит в более ранние сроки, а транслокация бактериальной флоры наступает даже при отсутствии некроза кишки [11].

Инвагинация чаще всего встречается у детей и лиц среднего возраста. Патогенез заболевания достаточно сложен и малоизучен. Чаще всего (90% случаев) инвагинация развивается у пациентов с врожденными анатомическими особенностями строения кишки или наличием органической патологии. Образование инвагината происходит вследствие нарушений моторной функции и координации перистальтики различных отделов кишки

на фоне провоцирующих факторов. По локализации различают илеоцекальную (45–68%), тонкокишечную (10–18%), толстокишечную (8–15%) инвагинацию [1, 19].

Предрасполагающим фактором развития заворота кишки и узлообразования являются врожденные аномалии, длинная брыжейка кишки, наличие спаек брюшной полости. Из производящих причин наибольшую роль играют погрешности в диете, переедание, повышение внутрибрюшного давления. Выраженность нарушений и клинических проявлений напрямую зависит от степени заворота. Так, при ротации кишки на 180° заболевание в большей степени соответствует обтурационной непроходимости с минимальными признаками нарушения питания кишки. В то время как при завороте более 270° отмечается выраженная ишемия органа с бурным течением заболевания и ранним развитием некроза кишки. По локализации наиболее часто имеет место заворот сигмовидной (60–75%), реже слепой (20–35%), тонкой (7–18%) и поперечно-ободочной кишки (3–5%). Наиболее тяжело протекает узлообразование, которое встречается относительно редко, – в 3–5% случаев [78, 79].

1.2 Роль гемодинамики и лимфоциркуляции в патогенезе формирования кишечной непроходимости

Наиболее значимым звеном патогенеза в развитии ОКН является нарушение кровоснабжения на уровне микроциркуляции. Это обусловлено снижением артериального притока и затруднением венозного оттока за счет компрессии сосудов брыжейки (странгуляция) или внутривисцеральных сосудов (обтурация) [80, 81, 82]. При странгуляции нарушение кровообращения развивается быстро и характеризуется значительной глубиной. У больных с обтурационной кишечной непроходимостью оно нарастает постепенно, менее выражено и сопровождается перераспределением кровотока между слизистой и мышечной оболочками в приводящей кишке до соотношения 1:4

(в норме оно составляет 2:1) [84, 45].

В ответ на возникшую ишемию развивается первичный симпатический рефлекс, приводящий к спазму прекапиллярных сфинктеров, снижению объемной скорости кровотока, открытию артериовенозных анастомозов, стазу и агрегации форменных элементов. Парез микроциркуляторного русла усиливается присоединением действия недоокисленных продуктов и субстратов [86, 87]. Одновременно под влиянием высвобождающихся тканевых кининов и гистамина повышается проницаемость сосудистой стенки с появлением интерстициального отека, пропотеванием крови в свободную брюшную полость, просвет кишечника. При этом происходит замедление моторной функции кишечника, снижение секреторной активности в печени, желудке и поджелудочной железе и, как следствие, замедление полостного и пристеночного пищеварения. Этот процесс усугубляется нарушением коллоидно-осмотического и ионно-электролитных взаимоотношений плазмы и интерстициальной жидкости. Исходом прогрессирования ишемии ТК является некроз стенки с перфорацией и перитонитом [88-96].

Совокупность многочисленных и разнообразных по своей природе патогенетических процессов, лежащих в основе формирования кишечной непроходимости – гипермобильность кишки, нарушение внутрибрюшного давления, пассаж кишечного содержимого, ишемически-реперфузионное повреждение кишечной стенки, патологические состояния, в том числе онкологической природы, – активируют сложный каскад внутри- и внеклеточных сигнальных путей, обеспечивающих морфологическую целостность и функциональную кооперацию клеточных элементов кишечника и связанных с ним органов и систем, что приводит к появлению и/или отягощению микроциркуляторных, трофических нарушений, расстройству моторно-эвакуаторной функции органа, нарушению целостности барьерной функции слизистой оболочки кишечника и др. В результате формируются порочные круги, лежащие в основе прогрессии

заболевания, стадийности клинической картины [97-101].

Для разработки рациональных подходов к консервативному и хирургическому лечению рассматриваемой острой патологии необходимо понимать, что в основе описываемых процессов лежат явления молекулярно-биологической дезинтеграции внутриклеточной регуляции функций различных по природе и выполняемым функциям клеток: энтероцитов, ГМК, эндокринных клеток, локальных образований периферической нервной системы и др. При этом важнейшими биологическими мессенджерами, обеспечивающими морфофункциональное единство кишечника, является система эндогенных пептидов, чрезвычайно широко представленная в органе. Среди последних наибольшее значение, по современным представлениям, отводится пептидам – агонистам опиатных рецепторов, а также так называемым эндогенным защитным пептидам. Данные классы молекулярных агентов будут более подробно рассмотрены в данном обзоре.

1.3 Структурно-функциональная организация системы опиоидной регуляции функций ЖКТ

На периферии опиатные рецепторы имеют достаточно широкое распространение в различных тканевых структурах, включая нейроэндокринные, иммунные и эктодермальные клетки [102]. В ЖКТ они представлены на гладкомышечных клетках (ГМК), а также в области нервных окончаний симпатических и периферических чувствительных нервов. Было доказано, что синтез структурных элементов рецепторов осуществляется в дорзальных рогах спинного мозга, после чего они транспортируются по отросткам в ЦНС, а также на периферию [103].

Дистрибуция мю-опиатных рецепторов в нервных элементах кишечника подробно освещена Sternini et al. [104]. Используя радиографию и меченные изотопами агонисты и антагонисты ($[^3\text{H}]$ дигидроморфин, $[^3\text{H}]$ налуксон и $[^3\text{H}]$ лоперамид), авторами было показано, что мю-рецепторы экспрессируются с некоторыми различиями в подслизистых и

мезентериальных нервных сплетениях, а также продольных мышцах ТК у многих видов млекопитающих (крысы, морские свинки, свиньи) и человека [105, 106].

Каппа-рецепторы также представлены в ЖКТ млекопитающих, в частности, в подслизистых и межмышечных нервных сплетениях, в печени [107].

Функциональная активность ЖКТ определяется скоординированной работой многих компонентов, включая вегетативную нервную систему, ГМК, слизистую оболочку и систему кровеносных сосудов. Вегетативная система представлена в рассматриваемой области межмышечными и подслизистыми сплетениями. Локализация первых между продольными и циркулярными мышцами кишечника обуславливает их вовлеченность в регуляцию кишечной перистальтики. Подслизистые нервные образования контролируют локальную абсорбцию и секрецию [108]. Опиатные рецепторы, экспрессированные в обоих типах нервных сплетений, играют важнейшую роль в регуляции транзита содержимого по кишечной трубке, транспорта через слизистый барьер жидкостей и электролитов и, таким образом, поддержании гомеостаза кишечника.

Опиоиды влияют на первичную возбудимость нейронов кишечных нервных образований посредством взаимодействия с ключевыми нейротрансмиттерами вегетативной нервной системы, такими как ацетилхолин (АХ), норадреналин, нейрокинин А (НКА), АТФ, вазоактивный интестинальный пептид (ВИП), 5-гидрокситриптамиин (5-НТ) [109]. В более поздних исследованиях высказывались суждения о возможности взаимодействия опиатов с глутаматными рецепторами кишечника свиней [110-112]. В недавно проведенных исследованиях было показано, что лиганды опиатных рецепторов способны реализовывать свои регуляторные эффекты на кишечную стенку посредством нитратной медиации [113]. В частности, авторы установили, что морфин-индуцированное сокращение кишечной трубки мышей подавлялось тетродотоксином и N^G-нитро-L-

аргинином, тем самым доказывая, что потенциальным механизмом реализации действия морфина может быть подавление высвобождения оксида азота из окончаний тормозных нервов.

Важнейшими эффектами агонистов опиатных рецепторов на ЖКТ являются подавление тонической сегментирующей сократимости, дискоординация перистальтики за счет ингибирования высвобождения АХ, наряду со снижением секреции вследствие антихолинергического действия и подавления синтеза ВИП в терминалях нейронов [114] (рис. 1.1).

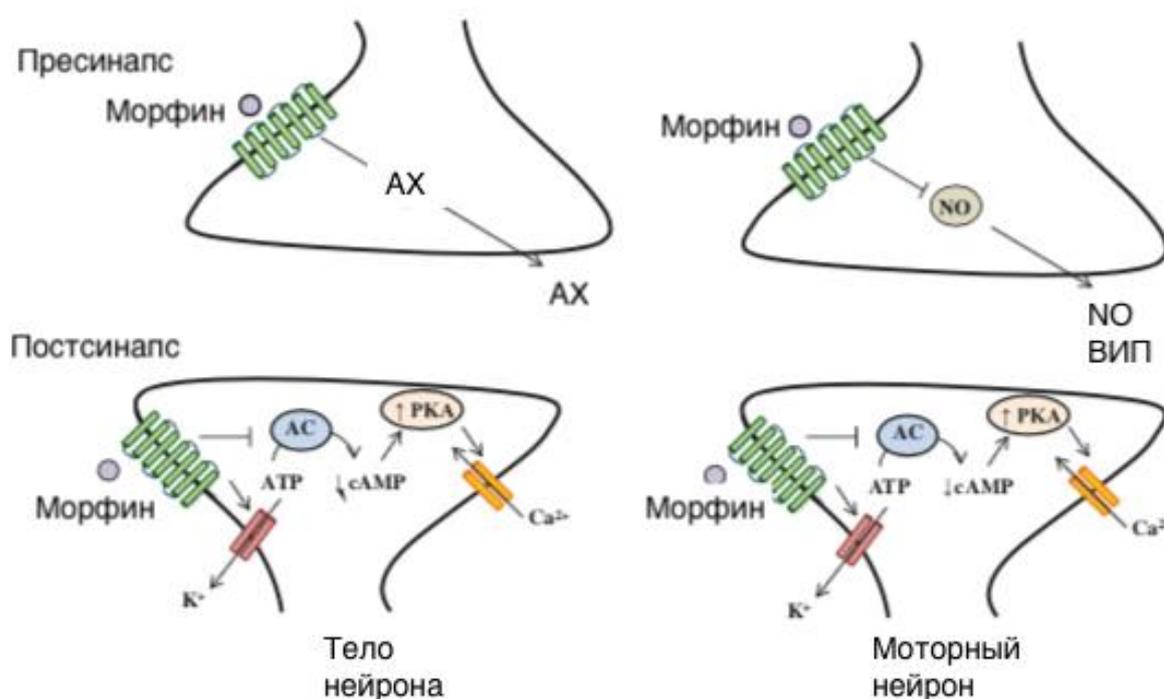


Рисунок 1.1 – Механизм формирования эффектов на желудочно-кишечный тракт агонистов мю- и дельта-опиатных рецепторов по [114].

Пояснение в тексте.

Слизистая оболочка тонкого отдела кишечника обладает способностью абсорбировать нутриенты, воду и электролиты. Активная абсорбция натрия и секреция хлора через слизистую оболочку представляется важнейшим процессом в основе поддержания оптимального водно-электролитного баланса, противомикробной защиты и осуществления полостного и

пристеночного пищеварения [115]. Агонисты опиоидных рецепторов сдерживают эпителиальную секрецию, активируют абсорбцию воды и электролитов преимущественно за счет активации дельта- и мю-рецепторов [116]. Рецептор опосредованная активация синтеза внутриклеточных циклических нуклеотидов сопровождается стимуляцией секреции хлора и подавлением Na/Cl абсорбции [117].

В целом агонисты опиатных рецепторов вызывают стационарный моторный паттерн, характеризующийся подавлением релаксации нижнепищеводного сфинктера, уменьшением силы и частоты пропульсивных сокращений ГМК тонкого и толстого кишечника, повышением тонуса анального и пилорического сфинктеров, увеличением времени опорожнения желудка и скорости транзита содержимого по пищеварительному тракту, наряду с активацией абсорбции жидкостей их полости кишечника (рис. 1.2).

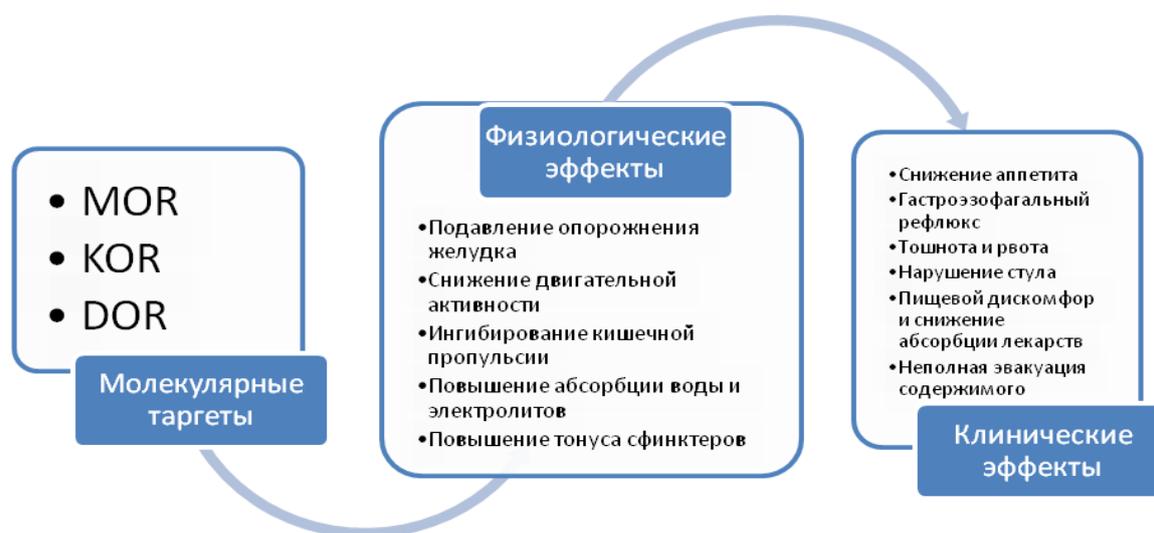


Рисунок 1.2 – Клинико-физиологические эффекты активации опиодергической системы регуляции функций ЖКТ по [117].

Помимо местной активации рецепторов, агонисты опиатной системы могут реализовывать свои эффекты посредством центрального воздействия на нервные структуры, находящиеся вне экранной функции гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). В частности, было показано, что

активация мю-рецепторов медиального нижнего ядра солитарного тракта сопровождается нарушением кишечной моторики: микроинъекции агониста мю-рецепторов в диапазоне доз от 1 до 10 фемта-моль в указанную область приводили к снижению внутрикишечного давления и фазовой сократимости, а также индуцировали моторную активность желудка [118]. Механизм описанных эффектов связывают с ГАМК-опосредованной супрессией нейронов [119], а предварительная ваготомия или введение антагонистов мю-рецепторов полностью нивелировали эффекты микроинъекций.

1.4 Эндогенные пептиды – регуляторы функций ЖКТ

Эндогенные пептиды – агонисты опиатных рецепторов – синтезируются как в нейронах центральной, так и периферической нервной системы. Три протеина дают начало эндогенным лигандам системы: проопиомеланокортин, продинорфин и проенкефалин. Первый является предшественником альфа- и бета-эндорфинов, а также неопиатных пептидов, таких как адrenокортиотропный гормон (АГТГ), альфа и бета-меланоцитостимулирующие гормоны, кортиотропиноподобный промежуточный пептид (CLIP) и бета-липотропин.

Динорфины альфа и бета наряду с неоморфинами происходят от продинорфина. Проенкефалин является предшественником энкефалинов ([Leu⁵]энкефалин, [Met⁵]энкефалин, [Met⁵]энкефалин-Arg⁶-Gly⁷-Leu⁸, [Met⁵]энкефалин-Arg⁶-Phe⁷). Кроме того, из проэнкефалина образуются бычий адrenomедулярный пептид, пептиды E и F [120].

Опиоидные пептиды являются важнейшим компонентом, обеспечивающим интеграцию и связь между нейроэндокринной и иммунной системами, что обуславливает формирование иммуномодуляторного действия пептидов и их возможное участие в патогенезе иммуноопосредованных патологических состояний.

Эндогенные пептиды, как было показано ранее, ингибируют выделение ключевых нейротрансмиттеров ЦНС и периферических нервов, среди которых наибольшее значение имеют АХ, дофамин, норадреналин.

В ЖКТ эндогенные опиоидные пептиды представлены в нервных и эндокринных клетках слизистой оболочки [121]. В физиологических условиях посредством указанных пептидов реализуется ингибиторный эффект в отношении сократимости ГМК пропульсивной мускулатуры системы, а также продукции желчи, панкреатических ферментов и кишечной секреции [122].

Энкефалины – олигопептиды, образующиеся, главным образом, надпочечниками и поджелудочной железой. В ЖКТ они также могут образовываться в железах желудка и внутрисекреторных клетках слизистой оболочки кишечника [123]. В реализации функций ЖКТ принимают участие два энкефалина – [Leu⁵]энкефалин и [Met⁵]энкефалин. Оба пептида активируют дельта-опиатные рецепторы, а также в высоких концентрациях обладают агонистической активностью в отношении мю-рецепторов. Ключевыми эффектами пептидов являются антиноцицептивный, за счет ингибирования центростремительных импульсов от периферических болевых рецепторов в ЦНС [121].

Помимо указанных мест продукции, энкефалины также могут вырабатываться лейкоцитами и принимать участие в реализации воспалительной реакции. Owkczarek с соавт. [124] показали в своем недавнем исследовании, что плазменный уровень [Met⁵]энкефалина снижался у пациентов с неспецифическим язвенным колитом (НЯК) по сравнению со здоровыми добровольцами. Напротив, при изучении биопсийного материала указанных пациентов было установлено, что тканевой уровень пептида был выше у пациентов с НЯК, чем в биоптатах интактной кишки.

DAMGO, синтетический агонист мю-опиатных рецепторов, разработанный как структурный аналог энкефалинов, на модели висцеральной боли у крыс, формируемой внутрибрюшинными и

подкожными инъекциями 2% уксусной кислоты, показал преимущественное антиноцицептивное действие при сравнении с морфином. Помимо этого, введение налоксона метиодида, периферического антагониста опиатных рецепторов, ослабляло обезболивающий эффект синтетического энкефалина [125].

В другом исследовании было показано, что DAMGO вызывает супрессию повышенной возбудимости нейронов дорзальных рогов спинного мозга крыс с хронической висцеральной гипералгезией – моделью, используемой для характеристики механизмов формирования кишечной патологии с нарушением моторной функции органа [126].

Эндоморфин-1 (ЭМ-1, Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂) и эндоморфин-2 (ЭМ-2, Tyr-Pro-Phe-Phe-NH₂) – два эндогенных тетрапептида, выделенных Zadina и соавт. [127] из фронтальной коры быков и головного мозга человека. Тетрапептиды обладают самой высокой афинностью к мю-рецепторам среди всех известных эндогенных агонистов.

На сегодняшний день существует несколько работ, показывающих наличие активности эндоморфинов на ЖКТ. В частности, было показано, что ЭМ-1 и 2 ингибируют ответ ГМК пищевода и кишечника на раздражение, снимаемое налоксоном [128]. В опытах на морских свинках ЭМ подавляют высвобождение АХ в нейромышечный синапс препаратов кишки животных [129, 130].

Более того, эндоморфины способны подавлять сократимость продольной мускулатуры дистального отдела кишечника мыши наряду с повышением сократимости циркулярной мускулатуры проксимального и центрального отделов кишечника животных. Было также установлено, что налоксон в концентрации 10⁻⁶ М полностью предотвращает формирование указанных эффектов эндоморфинов, что доказывает вовлеченность мю-рецепторов в реализацию эффектов ЭМ на сократимость кишечной стенки [131].

В ряде исследований изучались иммуномодулирующие свойства ЭМ в отношении ЖКТ. Так, Azuma с сотрудниками [132] изучили влияние ЭМ на функцию перитонеальных макрофагов. Авторы показали, что ЭМ-2 подавляет продукцию цитокинов – ФНО-альфа, ИЛ-10 и ИЛ-12. Помимо этого, ЭМ-2 повышает выработку ИЛ-1бета макрофагами, стимулированными фторбол 12-мирилат-13 ацетатом, и ингибирует хемотаксис.

Эндоморфины, наряду с другими эндогенными агонистами опиатных рецепторов, быстро разрушаются после выделения клетками, что существенно лимитирует возможность изучения их биологических, физиологических и патофизиологических эффектов. В последнее десятилетие был создан ряд аналогов эндоморфинов с улучшенными кинетическими свойствами, позволивший приблизиться к пониманию биологической роли эндогенных пептидов в регуляции функции внутренних органов, в том числе и кишечника [133].

Среди других эндогенных пептидов, в контексте настоящего исследования, внимания заслуживают сиоморфины и казоксин 4. Сиоморфины, наибольшее физиологическое значение среди которых имеют сиоморфины-5, 6 и 7, являются агонистами мю- и дельта-опиатных рецепторов и обладают способностью подавлять всасывание нутриентов и кишечную перистальтику [134]. Ингибиторная активность сиоморфинов на транзит по ЖКТ изучался с использованием селективных агонистов и антагонистов 5-НТ_{1А}, D₂ и (раклоприд) и ГАМК_В (саклофен) рецепторов. В результате было установлено, что ингибирование кишечной сократимости сиоморфинами реализуется через высвобождение серотонина и активацию 5-НТ рецепторов, что в свою очередь ведет к выбросу дофамина и, наконец, высвобождению ГАМК с последующей стимуляцией ГАМК_В-рецепторов.

Тетрапептидный агонист мю-рецепторов казоксин 4 был изолирован из казеиновой фракции коровьего молока. Было показано, что казоксин предотвращает морфин-индуцированную сократимость изолированного

тонкого кишечника мышей и морских свинок [135]. Мю-рецепторный компонент был более выражен в случае с морскими свинками, тогда как каппа- и дельта-рецепторная активность в отношении тонкого отдела кишечника превалировала в опытах на мышах [136].

1.5. Пептидергическая регуляция функции ЖКТ при патологических состояниях

Ингибиторный эффект опиатных пептидов в отношении ЖКТ в течение столетий используется в терапевтических целях, например, для лечения диареи, представляющей собой изменение нормальной двигательной активности толстой кишки наряду с увеличением объема содержимого, воды и частоты стула. При этом классическое антидиарейное средство – лоперамид – представляет собой агонист подтипа дельта- и мю-опиатных рецепторов, экспрессированных в периферических органах [137]. Лоперамид широко используется у пациентов с расстройствами пищеварения, а также на фоне химио- и радиотерапии для контроля диареи. Терапевтические дозы лоперамида не способны создавать плазматические концентрации, необходимые для преодоления гематоэнцефалического барьера [138]. На уровне ЖКТ лоперамид вызывает расслабление продольной мускулатуры кишечника посредством активации АТФ-чувствительных калиевых каналов [139].

Поскольку в исследованиях, проведенных в последнее время, была показана превалирующая локализация дельта-опиатных рецепторов на секретомоторных и вазодилатирующих нейронах подслизистого и мышечного слоев стенки ТК [140], в патогенезе нарушений моторики, трофики секреции, а также формировании клинической картины патологии тонкого кишечника, в том числе и кишечной непроходимости, задействованы в первую очередь дельта-рецептор-связанные сигнальные пути [141].

1.6 Защитные эндогенные пептиды – ключевой фактор регуляции гомеостаза кишечной стенки

Защитные эндогенные пептиды представлены полипептидными молекулами, синтезируемыми клетками слизистой оболочки кишечника, которые обладают широким спектром биологических эффектов (рис. 1.3). Важнейшими семействами пептидов, найденными у большинства позвоночных животных и человека, являются дефенсины, кателицидины, S100 семейство, супер-семейство рибонуклеаз А, регенерирующих лектинов С-типа (REGIII) и пептидогликан-распознающие пептидов [142]. Дефенсины, на основе последовательности из шести цистеинов, подразделяются на три подсемейства: альфа-, бета- и гамма-дефенсины. Если бета-подсемейство идентифицировано у всех позвоночных, а альфа – у большинства видов, то гамма-дефенсины найдены лишь у приматов [142]. Кателицидины идентифицированы по кателиновому домену [143]. S100 семейство пептидов обладают сайтом связывания для ионов кальция [144, 145]. Супер-семейство рибонуклеаз А характеризуется наличием 6-8 цистеиновых последовательностей, формирующих характерные дисульфидные мостики с постоянно локализованными остатками гистидина и лизина [146, 147].



Рисунок 1.3 – Совокупность биологических эффектов защитных эндогенных пептидов по [141,142]. Ред. автора.

REGIII семейство представлено водорастворимыми C-лектинами с карбогидратным доменом, связывающимся с сахарами по кальций-зависимому типу [148]. Наконец, пептидогликан-распознающие пептиды способны связываться с пептидогликаном микробной клетки посредством специфического взаимодействия с мирамил-трипептидным фрагментом [149].

Система защитных эндогенных пептидов с природной противомикробной активностью в отношении Грам-положительных и Грам-отрицательных бактерий, вирусов, грибов, простейших и даже опухолевых клеток является составной частью местного иммунитета [150, 151]. Человеческие LL-37, альфа и бета-дефенсины обладают наиболее широкой противомикробной активностью [150, 151]. Для кателицидинов была показана высокая активность в отношении бактерий, в том числе антибиотико-резистентных штаммов [152, 153, 154-156]. Бета-дефенсины активны в отношении возбудителей зоонозов [157-159].

Механизм противомикробного действия пептидов обусловлен разрушением клеточной стенки микроорганизмов или взаимодействием с внутриклеточными макромолекулами [160]. В силу сложного механизма реализации активности пептидов многие микроорганизмы довольно чувствительны к ним, однако в последнее время развитие кишечных инфекций связывают непосредственно с формированием пептидной резистентности микроорганизмов, которая, однако, не распространяется на индуцированные формы пептидов [161, 162].

Помимо антимикробной активности, рассматриваемый класс пептидов участвует в реализации местных иммунных реакций [163, 164] (рис. 1.3). Многие человеческие пептиды способны активировать миграцию нейтрофилов или моноцитов и подавлять провоспалительный ответ. Также человеческие эндогенные пептиды обладают выраженными свойствами по стимуляции дифференцировки макрофагов и дендритных клеток. Кроме того, человеческие кателицидины LL-37 индуцируют разрешение воспалительного

процесса путем активации реэпителизации и ранозаживления, а также аутофагии и апоптоза [163, 164]. Указанные эффекты реализуются за счет прямого связывания с липополисахаридами (ЛПС) микробных клеток и ингибирования ЛПС-опосредованной продукции цитокинов в макрофагах и активации воспалительной реакции [154-156].

Дефенсины, в том числе и человеческие, обладают свойствами хемотаксиса в отношении незрелых дендритных клеток моноцитарного происхождения [165]. Кателицидин PR-39 способен подавлять НАДФН-оксидазную активность фагоцитов и ослаблять ишемически-реперфузионное повреждение кишечной стенки [166] путем блокирования ферментативного ансамбля за счет связывания с p47phox – цитозольным компонентом НАДФН-оксидазы [167]. Пептид ускоряет заживление ран в связи с индукцией синдеканов [168], активирует ангиогенез и формирование функциональных кровеносных сосудов посредством ингибирования убиквитин-протеасомно-зависимой деградации фактора, индуцирующего гипоксию 1-альфа (HIF 1-а) [169].

В последние годы появляется все больше доказательств участия защитных эндогенных пептидов в регуляции проницаемости слизистого барьера кишечника посредством прямого участия в экспрессии муцина [170-186] и пептидов, обеспечивающих формирование клеточных контактов в эпителиальном слое слизистой оболочки кишки (рис. 1.4).

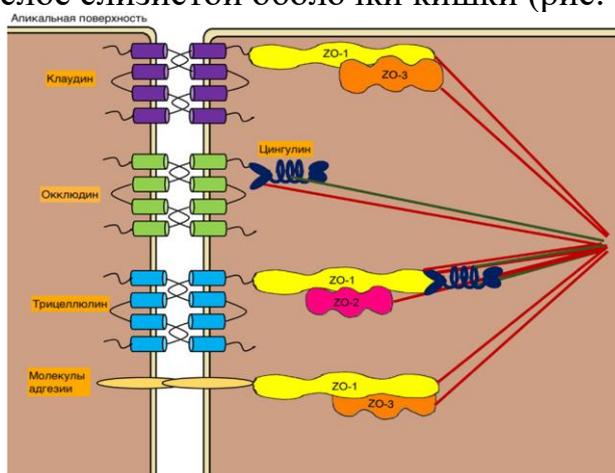


Рисунок 1.4 – Формирование межклеточных контактов слизистой оболочки толстой кишки по [170]. Ред. автора.

Эпителий толстой кишки представлен однослойным призматическим эпителием, формирующим крипты и кишечные ворсины. Клеточный состав кишечного эпителия включает стволовые клетки, энтероциты, секреторные клетки (клетки Панета, бокаловидные и эндокринные клетки) [187]. При этом основными продуцентами эндогенных пептидов являются бокаловидные клетки и клетки Панета. Латеральные мембраны всех клеточных элементов кишечного эпителия образуют три вида контактов: плотные контакты, адгезивные соединения и десмосомы [189, 190, 191], формирующие совокупно виртуально непроницаемый барьер. Помимо барьерной функции, указанные контакты принимают участие в поддержании поляризации клетки. Рассматриваемые контакты (рис. 1.5) представляют собой мультипротеиновые комплексы, состоящие из трансмембранных, цитоплазматических белков, взаимодействующих непосредственно с цитоскелетом. Среди перечисленных видов соединений лишь плотные контакты обладают селективной проницаемостью для воды, электролитов и некоторых других молекул низкой молекулярной массы [189, 190, 191].

Среди множества протеинов, вовлеченных в формирование межклеточных соединений, наибольшее структурно-функциональное значение имеют трансмембранные клаудины, окклюдины, молекулы адгезии (МА) и трицеллюлин, а также цитозольные *zonula occludens* (ZO) и цингулин [189, 190, 191]. Среди позвоночных структура указанных белков имеет высокую степень структурного консерватизма [192-198].

Структурная организация ключевых участников плотных межклеточных контактов была детально изучена на основе кристаллической модели мышинового клаудина-15 с использованием методов электронной и спиновой микроскопии в перекрестных экспериментах (рис. 1.6). Было установлено, что белковые структуры образуют сложные конфигурации, включающие мембранные и цитозольные домены и петли, устроенные таким образом, чтобы были возможны конформационные изменения макромолекул,

обеспечивающие широкий спектр сайтов связывания, а также регуляции проницаемости соединений [191, 192, 199, 200].

Кишечный барьер позволяет обеспечивать гомеостаз между кишечной микробиотой и иммунной системой хозяина. Дисфункция межклеточных соединений обуславливает развитие целого ряда патологических состояний кишечника, среди которых следует упомянуть болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, целиакия и др. [189, 191]. Так, установлено, что при болезни Крона снижается экспрессия клаудинов 3, 5 и 8, окклюдина и молекул адгезии 1 типа наряду с существенным ростом экспрессии клаудина-2. У пациентов, страдающих НЯК, наблюдается гипорегуляция клаудинов-1 и 4, молекул адгезии 1 типа на фоне гиперэкспрессии клаудина-2 [189, 191]. При обоих патологических процессах установлена гиперэкспрессия MLCK (сайт связывания с легкими цепями миозина) [201].

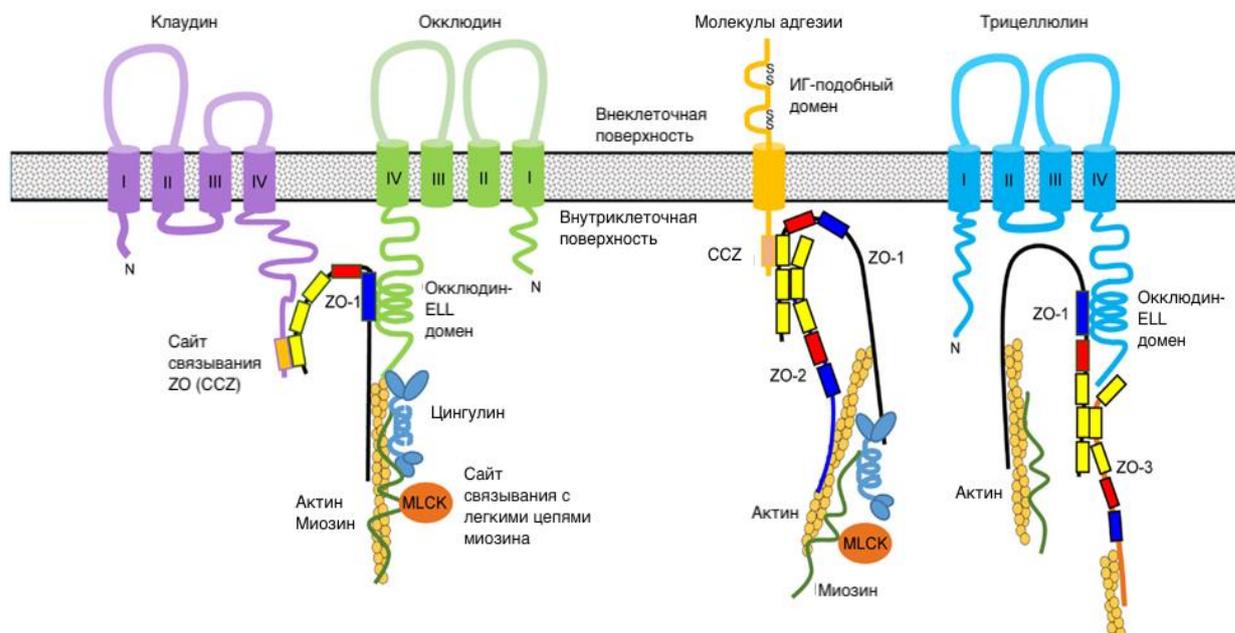


Рисунок 1.5 – Структурно-межмолекулярное взаимодействие компонентов плотных контактов и по [191, 192]. Ред. автора.

В целом совокупность упомянутых факторов истощает кишечную парацеллюлярную проницаемость и приводит к формированию т.н. «синдрома негерметичной кишки». Известно, что многие патогены, такие как холерный вибрион, энтеропатогенные эшерихии, клостридии, возбудители брюшного тифа, вызывают диарею за счет разрушения кишечного барьера вследствие продукции экзотоксинов [191]. В частности, клаудины-3 и 4 являются рецепторами для энтеротоксина патогенных клостридий [202]. Раннее отнятие ребенка от груди сопровождается нарушением формирования кишечного барьера за счет гипоекспрессии окклюдина, клаудина-1 и ZO-1 [203].

Наряду со снижением продукции структурных белков плотных клеточных контактов, при многих заболеваниях кишечника наблюдается aberrantная экспрессия эндогенных защитных пептидов [204]. Так, установлено, что у пациентов с тонкокишечной локализацией при болезни Крона снижена продукция альфа-дефенсинов клетками Панета [205], тогда как она остается ненарушенной у лиц с локализацией патологического процесса в толстой кишке. Напротив, у данных пациентов зарегистрирована гипоекспрессия дефенсинов-1 и 2 [206]. По сравнению со здоровыми добровольцами экспрессия кателицидина LL-37 и альфа-дефенсинов-2, 3 и 4 существенно редуцирована при толстокишечной локализации процесса при болезни Крона [207-212]. Несколько внутри- и внеклеточно локализованных рецепторов отвечают за реализацию физиологических функций кателицидинов и дефенсинов у человека и животных (рис. 1.6). Так, LL-37 являются лигандами P2X пуринергической рецептора 7 (P2X7), формил-пептид-подобного рецептора $\frac{1}{2}$, глицеральдегид 3-фосфат дегидрогеназы и секвестосомы-1/p62, в то время как ряд человеческих дефенсинов-бета способен связываться с рецепторами хемокинов-2, 6 и рядом других [213-215].

В частности, активация выработки муцина (MUC2, MUC5AC) при участии кателицидинов обусловлена активацией EGF-рецепторов (рис. 1.6)

посредством активации ФНО-альфа конвертирующего фермента [216]. Указанный кателицидин, а также некоторые дефенсины (HBD-3), представители семейства S100 (S100A7) активируют регуляцию экспрессии структурных элементов плотных контактов посредством воздействия на некоторые внутриклеточные киназы – Rac1, α PKC ζ/λ , GSK-3 α/β , и PI3K [213, 220-227]. Несмотря на то, что роль упомянутых рецепторов, экспрессия связанных с ними молекул и взаимосвязь указанных факторов с формированием и функциональной активностью плотных контактов интенсивно изучаются в настоящее время, результаты исследований далеки от конечной цели. В нашей стране был проведен комплекс фундаментальных исследований по изучению роли пептидергической системы в регуляции лимфангиогенеза и функции магистральных и внутриорганных лимфатических сосудов [228-236].

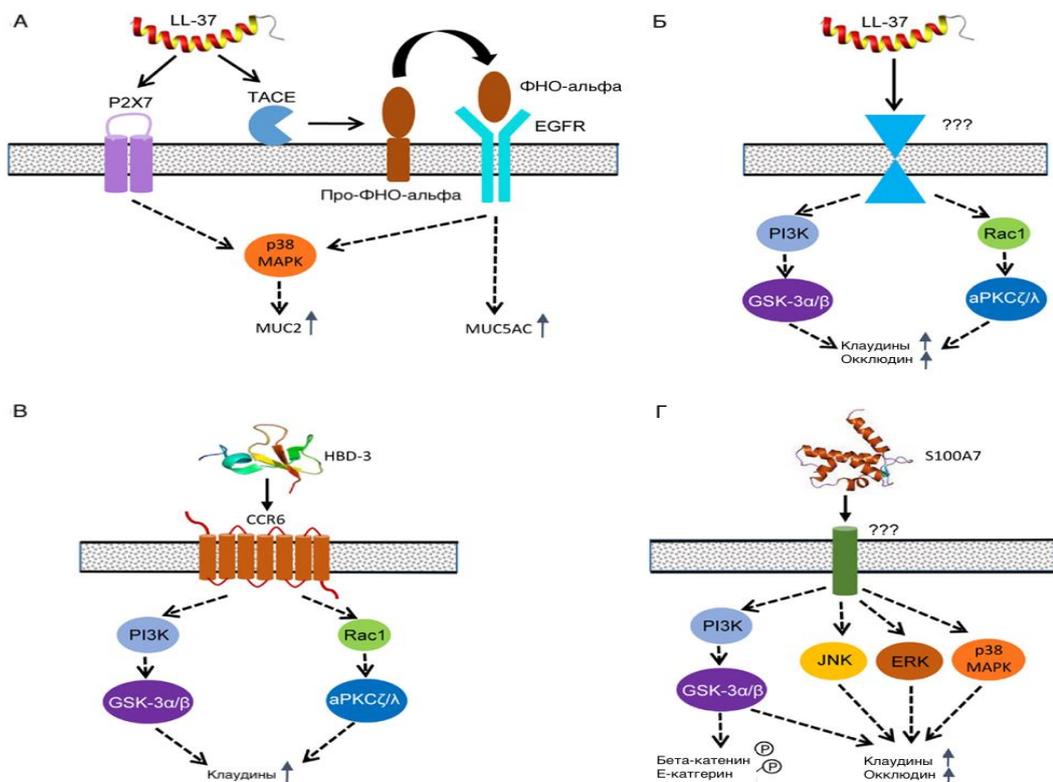


Рисунок 1.6 – Лиганд-рецепторные механизмы реализации биологических эффектов эндогенных пептидов по [213]. Ред. Автора (пояснение в тексте).

В частности, несмотря на отсутствие до настоящего времени прямых указаний на присутствие популяций опиоидных рецепторов на мембране клеточных элементов лимфатических сосудов, весь спектр полученных научных результатов подтверждает несомненную и значимую роль пептидергической системы в регуляции лимфоциркуляции.

1.7 Современные представления о пептидергической регуляции лимфатических сосудов

Фармакологическое воздействие на изолированные препараты лимфатических сосудов брыжейки природными и полусинтетическими опиатами (лейэнкефалин) приводило к существенному повышению моторной сократительной функции лимфатических сосудов и увеличению перфузии брыжейки [233, 235]. Подобные результаты были позднее зарегистрированы и для грудного лимфатического протока, где скорость лимфотока увеличивалась даже более значительно (в 6-9 раз при сравнении с 4-кратным ростом показателя в брыжеечных сосудах) [236]. Синтетический частичный агонист дельта-опиоидных рецепторов даларгин стимулировал лимфоток преимущественно за счет повышения продукции лимфы вследствие увеличения секреции и резорбции жидкости в просвет сосудов [228].

В работах последних лет была показана роль пептидергической лимфорегуляции и при ряде других патологических состояний в эксперименте: нарушениях мозгового кровообращения и травматическом повреждении головного мозга, респираторном дистресс-синдроме и отеке легкого [229, 231, 234].

Вместе с тем следует подчеркнуть ряд положений, представляющихся в настоящее время несомненными: 1) способность эндогенных пептидов опиатной и неопиатной природы регулировать структурно-функциональную организацию кишечной стенки чрезвычайно широко варьирует; 2) различные компоненты кишечного гомеостаза – продукция муцина, проницаемость слизистого барьера, секреция, перистальтическая активность гладких мышц,

ангиогенез – регулируются различными пептидами по-разному; 3) в реализацию биологической роли эндогенных пептидов при физиологических состояниях и в условиях развития патологических процессов вовлечены сложные и многочисленные внутриклеточные сигнальные пути; 4) одни и те же рецепторы способны оказывать разнонаправленное действие в отношении отдельных компонентов функциональной организации кишечника.

Все вышесказанное обуславливает высокий научный интерес к изучению биологической роли эндогенных пептидов и их синтетических аналогов, а также возможные точки приложения их действия при различных патологических состояниях желудочно-кишечного тракта, в том числе острой хирургической патологии и, в частности, острой кишечной непроходимости, на фоне применения традиционных хирургических методов лечения.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Поскольку настоящее исследование посвящено изучению патофизиологических механизмов воздействия синтетического опиоидного пептида, агониста дельта-опиатных рецепторов, на микроциркуляцию в стенке ТК и лимфоотток, раскрытию ключевых элементов механизма патофизиологического действия, при планировании работы, разработке ее концепции, плана, дизайна мы основывались на основополагающих принципах поискового исследования, а именно: объективности; учёта непрерывного изменения, развития исследуемых явлений; единства логического и исторического; системности изучения процесса с учетом всех его требований; восхождения от абстрактного к конкретному и от конкретного к абстрактному.

2.1 Дизайн исследования

Диссертационное исследование выполнено по традиционному плану, характерному для экспериментальных работ, и состоит из шести этапов, схема которых представлена на рисунке 2.1.

На первом этапе было запланировано проведение аналитического обзора современных представлений о патогенезе острой кишечной непроходимости и роли микролимфоцитарного русла при данном патологическом состоянии в отечественной и мировой науке, требовалось установить основные тренды в области поиска новых и перспективных молекул-антагонистов, обладающих, с одной стороны, надежным и длительным действием, а с другой – наделенных оптимальным с точки зрения современных клинических требований профилем безопасности. Нам было важно на данном этапе определить место планируемого исследования в научном континууме с позиций актуальности, потенциальных научной новизны и практической значимости результатов работы.



Рисунок 2.1 – Дизайн исследования.

На первом этапе работы нами также был разработан детальный план исследования, для каждого вида лабораторно-экспериментальной активности составлены подробные протоколы, осуществлена этическая экспертиза диссертационной работы.

Второй этап исследования был посвящен выработке методологической и методической стратегии работы.

Третий, четвертый и пятый этапы работы включали проведение лабораторно-экспериментального раздела.

На заключительном – шестом – этапе диссертационного проекта была проведена математическая и статистическая обработка результатов экспериментальных исследований, сформулированы выводы, практические рекомендации, представлено обобщенное видение перспектив дальнейшего развития рассматриваемой темы.

2.2 Этические и нормативные процедуры при проведении исследования

План и протоколы экспериментальных исследований в рамках настоящего диссертационного проекта прошли экспертизу на соответствие действующим нормативно-правовым требованиям в области использования лабораторных животных и биологического материала на заседании этического комитета при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) от 06 декабря 2017 года, № 11-17.

Исследование выполнено в соответствии с положениями следующих законодательных и нормативных актов, принятых для подобного рода исследований в Российской Федерации:

1. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики»;

2. ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Национальный стандарт Российской Федерации);

3. «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» под ред. А.Н. Миронова (2013).

Для каждого вида экспериментального исследования, манипуляции, лабораторной активности, а также при обращении с лабораторными животными мы использовали Стандартные операционные процедуры.

2.3 Основные сведения о лабораторных животных

Эксперименты проводили на белых беспородных крысах массой 90-260 г (48 самок, 268 самцов, всего 316 особей), полученных в виварии ФГБНУ «НИИ Общей патологии и патофизиологии». Животные содержались в стандартных условиях вивария в соответствии с требованиями ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» [237], с естественной сменой дневного и ночного режимов и свободным доступом к пище (брикетированный корм, овощи и др.) и воде. За 12 часов до воспроизведения острой кишечной непроходимости животных депривировали от пищи при сохранении свободного доступа к питьевой воде.

При формировании экспериментальных групп и серий руководствовались принципом необходимости и достаточности: так, с целью достижения репрезентативности результатов каждая группа животных включала не менее 6 голов; но при этом, во избежание необоснованно высоких затрат лабораторных животных, их максимальное количество в группе не превышало 10 особей. Вместе с тем, поскольку животные групп 8 и 9 выводились из эксперимента в разные сроки, фрагменты брыжейки и кишечной стенки были необходимы для проведения морфологических исследований и микроциркуляции, общая численность групп составила 63 и 67 животных соответственно (с соблюдением вышеописанного принципа необходимости и достаточности).

Все лабораторные животные в соответствии с действующими требованиями проходили процедуру карантинизации в виварии ФГБНУ

«НИИ общей патологии и патофизиологии». Мы вели мониторинг внешнего вида грызунов, особенностей их поведенческих реакций, учет гибели экспериментальных животных (фактов падежа на карантинном этапе не фиксировали). Ежедневно проводился контроль веса и общего состояния лабораторных грызунов. Температурный режим воздуха атмосферы – не ниже 20 и не выше 24⁰ С, относительная влажность атмосферного воздуха в помещении – 55-65%. Каждые четыре дня в клетках осуществляли замену подстила.

Все инвазивные манипуляции, хирургические вмешательства, сопровождающиеся возникновением болевых ощущений, осуществляли под наркозом. Анестезиологическое пособие выполняли путем внутримышечного введения 8% раствора хлоралгидрата из расчета 0,6 г/кг массы животного.

Во время эксперимента животные находились на подогреваемой платформе (рисунок 2.2). Опыты с изучением лимфостимулирующей активности пептида в ЛМ брыжейки ТК крысы проводили в период 14-18 часов у депривированных от пищи животных, так как прием пищи спонтанно вызывает активацию лимфотока.



Рисунок 2.2 – Положение животных во время операции

2.4 Характеристика объекта исследования

В работе использовали опиоидный пептид, агонист дельта-опиатных рецепторов, аналог лейэнкефалина и даларгина, синтезированный в лаборатории синтеза пептидов ФГБУ «НМИЦ Кардиологии» Минздрава России. Структурная формула пептида: Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Glu. Лабораторный шифр учреждения-разработчика – пептид-171. Пептид использовали местно, в виде орошения на поверхность брыжейки, стенки ТК, содержащих лимфатические микрососуды, в концентрации 40,0 мкг/кг веса в 1,0 мл 0,9% раствора хлорида натрия [238].

2.5 Моделирование кишечной непроходимости (КН) у крыс

В работе использовали различные модели КН у крыс с целью выявления наиболее тяжелых нарушений микроциркуляции и их последствий, которые сопровождались самой низкой выживаемостью животных. Избранные модели соответствовали наиболее часто встречаемым в клинической практике формам поражения ТК (тромбоз сосудов брыжейки, дивертикулы кишки, спаечный процесс после травмы, сдавление просвета опухолью и др.), требующих обязательного и своевременного оперативного вмешательства в течение первых 24 часов после появления симптомов КН и перитонита. Структура и объем исследований представлен в таблице 2.1.

В работе были использованы две группы контроля: первой внутрибрюшинно после проведения лапаротомии вводили пептид, растворенный в изотоническом растворе хлорида натрия в концентрации 40,0 мкг/кг веса в объеме 1 мл раствора (в качестве растворителя использовали изотонический 0,9% раствор хлорида натрия). Животные второй контрольной группы получали плацебо в виде пропорционального объема физиологического раствора, вводимого интраперитонеально.

У животных первой группы контроля после наркотизации проводили срединную лапаротомию с последующим ушиванием раны. Во второй группе

дополнительно накладывали лигатуру на участок ТК, расположенный на расстоянии 5-7 см проксимальнее илеоцекального перехода рис. 2.3.

Таблица 2.1 Структура и объем исследования

№	Группы экспериментов	N
<i>Общее распределение животных по группам в зависимости от воспроизводимой патологии</i>		
I	Моделирование кишечной непроходимости	220
	1.1 Интактные животные (И)	10
	1.2 Интактные животные + Пептид (П)	10
	1-ая группа: Лапаротомия + Физиол. р-р (Контроль)	10
	2-ая группа: Лигатура ТК	10
	3-я группа: Лигатура одной брыжеечной артерии	10
	4-я группа: Лигатура на трех брыжеечных артериях	10
	5-я группа: Лигатура одной артерии + Перекрут кишки	10
	6-я группа: Пересечение кишки + Анастомоз	10
	7-я группа: Резекция кишки + Анастомоз	10
	8-я группа: Лигатура кишки + Резекция кишки + Анастомоз	63
	9-я группа: Лигатура + Резекция + Анастомоз + Пептид-171	67
<i>Распределение животных по методам исследования</i>		
II	Определение возрастно-половых параметров выживаемости крыс с КН на фоне воздействия пептидом	96
III	Биомикроскопия брыжейки и стенки ТК крысы	69
	2.1 Определение сократительной активности лимфатических микрососудов	69
	2.2 Диаметр венул	69
	2.3 Диаметр лимфатических сосудов	69
IV	Лазерная доплеровская флоуметрия стенки ТК	316
	3.1 Определение показателя микроциркуляции	
V	Гистологическое исследование стенки ТК	67
	4.1 Контроль (8-я группа)	27
	4.2 Опыт (9-я группа)	40



Рисунок 2.3 – Наложение лигатуры на участок ТК, расположенный на расстоянии 5-7 см проксимальнее илеоцекального перехода (группа 2). Пояснение в тексте.

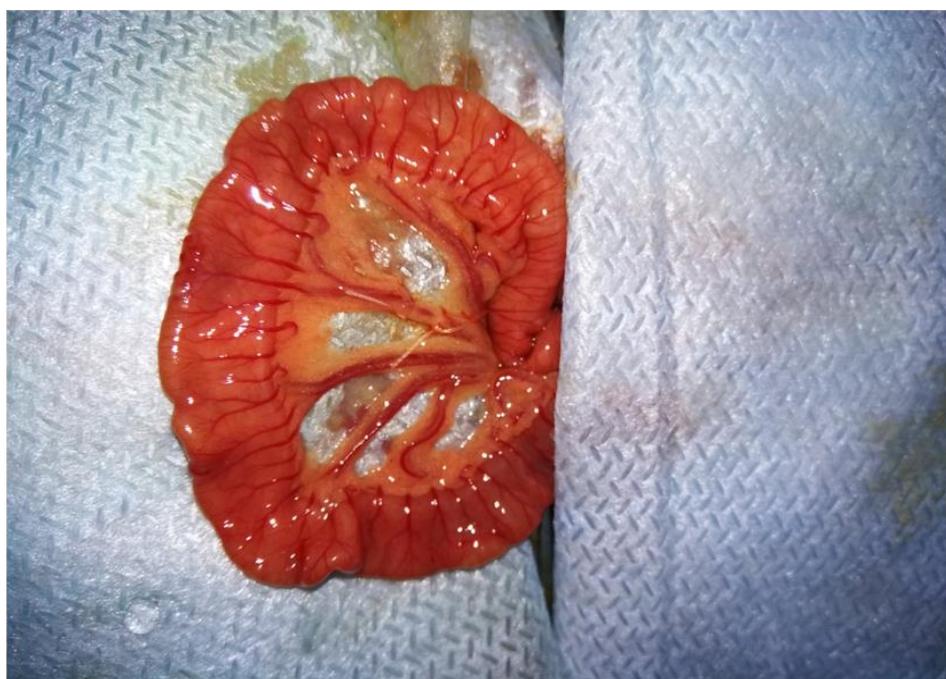


Рисунок 2.4 – Наложение лигатуры на одну сегментарную брыжеечную артерию (группа 3). Пояснение в тексте.

У животных третьей группы лигатуру накладывали на одну сегментарную брыжеечную артерию (рис.2.4).

Животным четвертой группы лигировали три артерии брыжейки (рис.2.5).

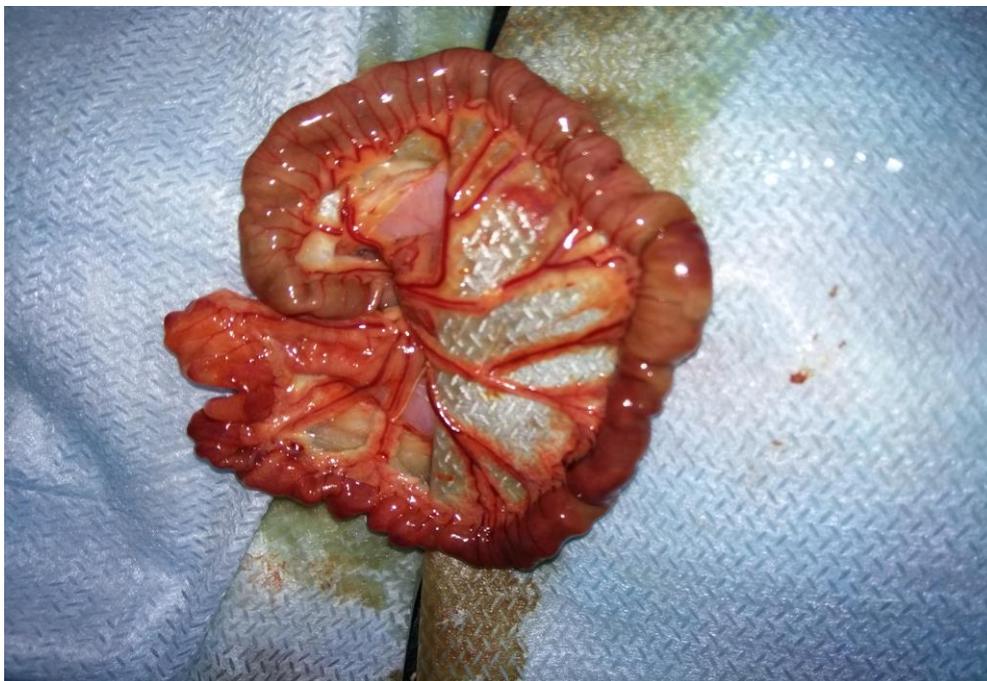


Рисунок 2.5 – Наложение лигатуры на три сегментарных брыжеечных артерий (группа 4). Пояснение в тексте.



Рисунок 2.6 – Наложение лигатуры на одну сегментарную брыжеечную артерию и перекрут кишки (группа 5). Пояснение в тексте.

В пятой группе животных лигатура на одной артерии брыжейки сочеталась с перекрутом кишки (рис.2.6). Имело место комплексное сочетание нарушения кровообращения на небольшом участке стенки ТК и проходимости ТК. В шестой группе интактную кишку пересекали с последующим созданием ЭЭА (рис. 2.7). В седьмой группе животных производили резекцию фрагмента неповрежденной кишки на протяжении 6-8 см с последующим наложением ЭЭА. Участок резекции кишки в других опытах соответствовал месту наложения лигатуры. В восьмой группе после лапаротомии накладывали лигатуру на стенку ТК с последующим ушиванием операционного отверстия.



Рисунок 2.7 - Формирование энтеро-энтероанастомоза (группа 6).

Пояснение в тексте.

Через 24 часа производили повторную лапаротомию под внутримышечным наркозом, резекцию поврежденного лигатурой участка кишки на расстоянии 6-8 см от лигатуры в проксимальном и 3-4 см дистальном направлениях. Девятую группу подвергали манипуляциям, аналогичным восьмой группе. Отличие заключалось в орошении поверхности анастомоза и прилежащих тканей лимфостимулирующим пептидом-171 (в концентрации 40 мкг/кг веса в 1 мл изотонического 0,9%

раствора хлорида натрия) непосредственно перед ушиванием операционной раны.

2.5.1 Создание энтеро-энтероанастомоза

Хирургическое лечение предусматривает устранение причины, вызвавшей КН, резекцию нежизнеспособного участка кишечника с последующим восстановлением пассажа кишечного содержимого. Наложение межкишечного анастомоза сопровождается высокой частотой несостоятельности и развитием вторичного перитонита.

Протокол эксперимента и ход операции: здоровое животное (вес и пол крысы соответствовал задачам исследования и определялся в зависимости от группы) через 12 часов после депривации от пищи наркотизировали (8% хлоралгидрат 0,6 гр/кг внутримышечно) и укладывали на подогреваемый лабораторный операционный столик; после освобождения операционного поля от волосяного покрова по средней линии живота проводили лапаротомию с выделением кишки и наложением лигатуры (резекция участка ТК на протяжении 6-8 см (3,5-4,0 см проксимальнее и дистальнее места перевязки кишки). После чего свободные концы кишки совмещали и ушивали наложением однорядного межкишечного анастомоза по типу «конец в конец» с использованием нити на атравматической игле Prolene 8/0. Проводили ушивание дефекта брыжейки с последующим ушиванием операционной раны.

После проведения оперативного вмешательства животное помещали в индивидуальную клетку.

Операцию производили при использовании светодиодного налобного осветителя и налобной лупы с увеличением $\times 3,5$.

2.6 Биомикроскопия брыжейки и стенки ТК крысы

Биомикроскопию микрососудов брыжейки и стенки ТК крысы проводили по общепринятой методике (Чернух А.А., 1984) с использованием стереомикроскопа ЛЮМАМ И2. Наблюдение проводили перед перевязкой

кишки и формированием патологического процесса, немедленно после перевязки кишки, а также при проведении релапаротомии на 7-е сутки после осуществления хирургического лечения ОКН и использования пептида-171. Через разрез брюшной стенки по средней линии живота извлекали петлю ТК атравматичными пинцетами. Петлю расправляли на световоде специального обогреваемого столика микроскопа ЛЮМАМ. Температуру стола и орошаемого изотонического раствора хлорида натрия (рН=7.4) поддерживали на уровне 38°C. Марлевые салфетки на поверхности кишки предотвращали пересыхание брыжейки и стенки кишки. При биомикроскопии использовали увеличение изображения от x20 до x400; объективы от x2 до x40; окуляры x7, x8, x10.

Стенку ТК в процессе операции исследовали с помощью бинокулярной лупы МБС-08 (Россия) при увеличении от x10 до x200; объективы от x2 до x40; окуляры x7, x8, x10 (рис. 2.8)

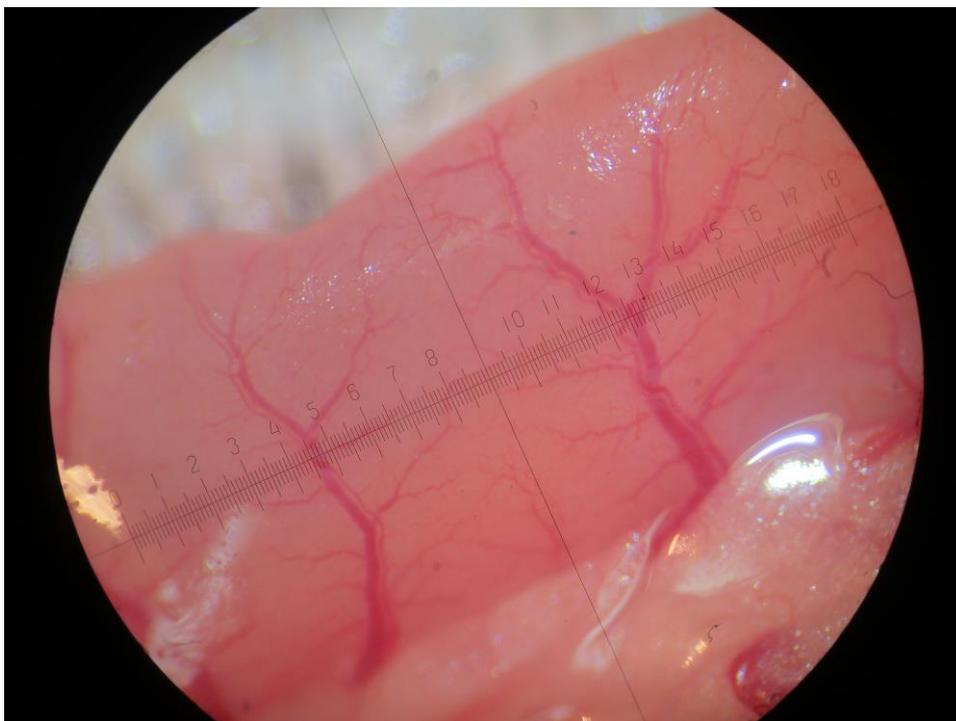
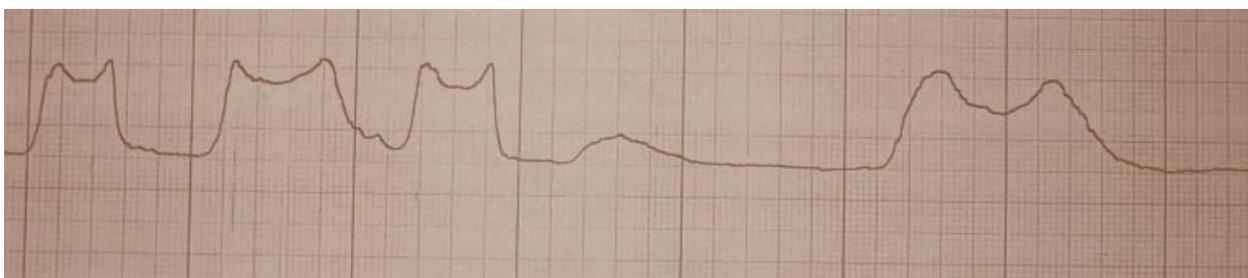


Рисунок 2.8 – Биомикроскопия стенки тонкой кишки под бинокулярной лупой МБС-08.

2.6.1 Регистрация сокращения стенки и клапана лимфатических микрососудов брыжейки ТК крысы

Регистрация моторики стенки и клапанов ЛМ брыжейки в условиях биомикроскопии проводили с помощью фотометрического метода, разработанного в лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции (Александров, Хугаева). В прижизненных условиях под наркозом проводят фотометрию просвета ЛМ около стенки или клапана ЛМ в точке смыкания створок клапана. При сокращении стенки (клапана) фотометрируемый участок перекрывается более плотной структурой, и изменяется оптический сигнал, который отмечается подъемом на кривой регистратора (самописца). Расслабление стенки (клапана) сопровождается снижением плотности участка фотометрии, кривая опускается к исходному уровню. Промежуток между подъемом и спадом кривой соответствует длительности одного сокращения. Интервал между сокращениями характеризует паузу между ними. По количеству сокращений за 1 м определяли частоту сокращений стенки (клапана). Регистрацию проводили перед перевязкой кишки и формированием патологического процесса, немедленно после перевязки кишки, а также при проведении релапаротомии на 7-е сутки после осуществления хирургического лечения КН и использования пептида-171 (рис. 2.9).



**Рисунок 2.9 – Регистрация сокращения стенки ЛМ. Скорость записи
2 мм/с. Пояснение в тексте.**

2.7 Лазерная доплеровская флоуметрия стенки ТК крысы

Микроциркуляцию стенки ТК крысы изучали наряду с прямым методом с помощью биомикроскопии также косвенным – с помощью лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛАКК-02 фирмы НПП Лазма, Россия (рис.2.10).



Рисунок 2.10 – Лазерный анализатор капиллярного кровотока ЛАКК-02 фирмы «НПП Лазма» (Россия)

Прибор позволяет в относительных единицах оценивать среднюю скорость кровотока в капиллярных микрососудах, расположенных на глубине 0,5-1,0 мм, на площади 1,0 мм². Принцип работы прибора основан на отражении зондирующего гелий-неонового лазерного пучка от движущихся эритроцитов. Показатель микроциркуляции (ПМ) зависит от количества эритроцитов в микрососудах, скорости их передвижения. Изменение частоты сигнала (эффект Доплера) связано с наличием плазматических промежутков между эритроцитами. Установка состоит из блока с цифровым индикатором и регистратором ПМ, лазерным пучком на кончике зонда, который устанавливается над исследуемым участком кишки. Животное находится под наркозом, поскольку исследование проводится в процессе операции.

Регистрацию проводили перед перевязкой кишки и формированием патологического процесса, немедленно после перевязки кишки, а также при проведении релапаротомии на 7-е сутки после осуществления хирургического лечения ОКН и использования пептида-171. При оценке прогноза выживаемости животного после моделирования ОКН использовали данные ЛДФ полученные в участке, расположенном проксимальнее зоны повреждения кишки (рис. 2.11).

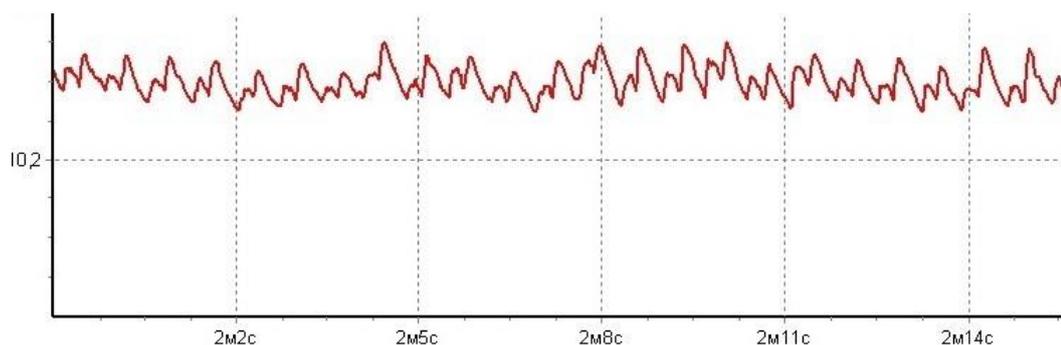


Рисунок 2.11 – Вариант регистрации ПМС аппаратом ЛАКК-02

2.8 Методы оценки восстановления структуры и функции кишки после проведения хирургического вмешательства и использования пептида-171

Для изучения процесса восстановления структурно-функциональной организации ТК после проведения хирургической операции и при использовании пептида-171 применяли гистологический метод исследования. Участки проксимального отрезка стенки ТК крысы на 7-е сутки после хирургического устранения обтурационной тонкокишечной непроходимости фиксировали в 4% формалине и заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили гистологические препараты с последующим стандартным гистологическим окрашиванием гематоксилином и эозином. Проводили РАС-реакцию. Результат окрашивания на каждом этапе контролировали под микроскопом. Микрофотосъемка осуществлялась с помощью цифровой камеры LEIKA EC3 (Германия) при общем увеличении: x100, x200, x400.

2.9 Статистическая обработка результатов исследования

Статистическая обработка результатов исследования проводилась в многофункциональной программе статистического анализа «Statistica 6.0». Нормальность распределения признака в статистической совокупности изучали с помощью одно- или двухмерного дисперсионного анализа (ANOVA) [239]. В случае нормального распределения признаков применялся t-критерий Стьюдента, при наличии необходимости сравнений трех и более признаков использовали парный критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, а также критерий Даннета. Для анализа выживаемости животных с острой кишечной непроходимостью, в зависимости от этиопатогенетического варианта развития, пола и возраста животных строили кривую выживаемости. Анализ кривых проводили с использованием критерия Гехана с поправкой Йейтса. Статистически достоверными считали вероятность ошибки $p \leq 0.05$.

ГЛАВА 3

ВЫЖИВАЕМОСТЬ КРЫС С РАЗЛИЧНЫМИ МОДЕЛЯМИ ТКН

3.1 Сравнительный анализ выживаемости животных при различных видах экспериментальной ТКН и введении опиоидного пептида

В настоящее время существуют две основные теории, объясняющие причины смерти при острой кишечной непроходимости: интоксикационная и нарушение нейрогуморальной регуляции ЖКТ. Начало создания интоксикационной теории связывают с именем Амюса (Amussat), который в 1838 г. впервые указал на токсемию при непроходимости кишечника. В эксперименте была установлена возможность транслокации бактерий из просвета кишки через кишечную стенку при стазе микроциркуляции. Эта теория поддерживалась многими исследователями в конце прошлого века. Изучение функции печени, почек, поджелудочной железы и желудочно-кишечного тракта при непроходимости кишечника, дополненное изучением биохимических сдвигов со стороны крови, позволило раскрыть особенности обмена при этом заболевании. В свете экспериментальных данных Д.П. Чухриенко причиной летального исхода в таких случаях следует считать не интоксикацию, а расстройство центральной регуляции функций организма, вызванное истощением центров коры головного мозга. Наибольшую роль в этом отводят нарушениям водно-электролитного обмена. Летальные исходы при непроходимости кишечника наступают наиболее часто на вторые и третьи сутки после начала заболевания и в первые сутки после произведенного оперативного вмешательства. Летальные исходы при кишечной непроходимости, наступившие спустя 10 суток и более после начала заболевания или произведенной операции, вызывались в основном воспалительными и гнойными заболеваниями легких, заболеваниями сердечно-сосудистой системы и раковым поражением различных отделов желудочно-кишечного тракта. Уровень современных научных возможностей позволяет значительно уменьшить эти цифры.

Сегодня послеоперационная летальность при непроходимости все еще остается высокой — 15–18%. Только в единичных лечебных учреждениях она снижена до 8–10% и меньше.

На первом этапе нашего исследования была оценена выживаемость у 220 белых беспородных крыс-самцов исходной массой 200-260 г с различными вариантами нарушения кишечной непроходимости. Для этого животные (за исключением двух групп контроля) были разделены на 9 групп не менее чем по 10 особей в каждой. Всем крысам, включенным в описываемые группы, под внутримышечным обезболиванием 8% раствора хлоралгидрата (0,6 гр/кг веса животного) выполнена срединная лапаротомия с последующим воспроизведением патологического состояния (табл. 3.1).

Наблюдение за животными проводили в течение 7-ми суток, в течение которых регистрировали динамику гибели крыс с последующим анализом кривой выживаемости с помощью критерия Гехана с поправкой Йейтса (рис. 3.1). Интервал, в течение которого учитывались погибшие и выжившие крысы в рамках общего времени наблюдения, составлял 12 часов. Таким образом, весь период наблюдения был сегментирован на 14 временных промежутков.

В группе интактного контроля падежа животных закономерно не наблюдали, в связи с чем результаты данной группы не вносили в описательную часть настоящей главы. Первую группу животных (контроль с лапаротомией) составили крысы, у которых осуществляли продольную срединную лапаротомию с последующим ушиванием операционной раны. Животным 2-й группы с помощью наложения лигатуры на отдел тонкого кишечника формировали механическое нарушение проходимости кишки. У групп животных № 3-5 моделировали сосудистые повреждения, нарушающие кровоснабжение стенки ТК, животным 5-й группы наряду с окклюзией одной брыжеечной артерии проводили перекрут петли ТК, в 6-й группе пересечение кишки сочетали с ее последующим наложением энтеро-энтероанастомоза, в 7-й – резекция фрагмента кишки с наложением энтеро-

энтероанастомоза, в 8-й – сочетание лигирования, резекции кишки и наложения анастомоза. У крыс 9-й группы, которым воспроизводили ситуацию, повторяющую такую в группе № 8, использовали перитонеальную аппликацию пептида-171.

Таблица 3.1 Результаты исследования выживаемости крыс с различными вариантами кишечной непроходимости

№ группы	Вариант патологии	Животных		Время гибели, сут.
		В группе, ед	Выжило (%)	
1	Лапаротомия (контроль)	10	10 (100)	-
2	Лигирование кишки	10	0 (0)*	2,3±0,4
3	Окклюзия 1 брыжеечной артерии	10	9 (90)	5 ^A
4	Окклюзия 3 брыжеечных артерий	10	0 (0)*	3,7±0,3 ^A
5	Окклюзия 1 брыжеечной артерии и перекрут петли	10	0 (0)*	1,9±0,2
6	Пересечение кишки с последующим ушиванием	10	10 (100)	-
7	Резекция с наложением анастомоза	10	9 (90)	6 ^A
8	Лигирование, резекция с наложением анастомоза	63	27 (43)*	4,2±0,3
9	Лигирование, резекция, анастомоз на фоне пептида-171	67	44 (66)	5,3±0,2 ^{A,Б}

Примечание: * – различия при сравнении с контролем статистически достоверны при $p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат); ^A – различия при сравнении с

группой 2 значимы при $p < 0,05$, ^Б – различия при сравнении с группой 8 значимы при $p < 0,05$ (критерий Гехана с поправкой Йейтса).

В контрольной группе не наблюдали гибели животных, что свидетельствовало, в первую очередь, о грамотной хирургической технике выполнения лапаротомии и удовлетворительных санитарно-гигиенических условиях проведения манипуляции и содержания крыс. Продолжительность жизни крыс групп 2-9 зависела от тяжести повреждения, площади нарушенного кровоснабжения стенки кишки, способности восстановления проходимости кишечного содержимого через 24 часа после моделирования ТКН и наложения ЭЭА.

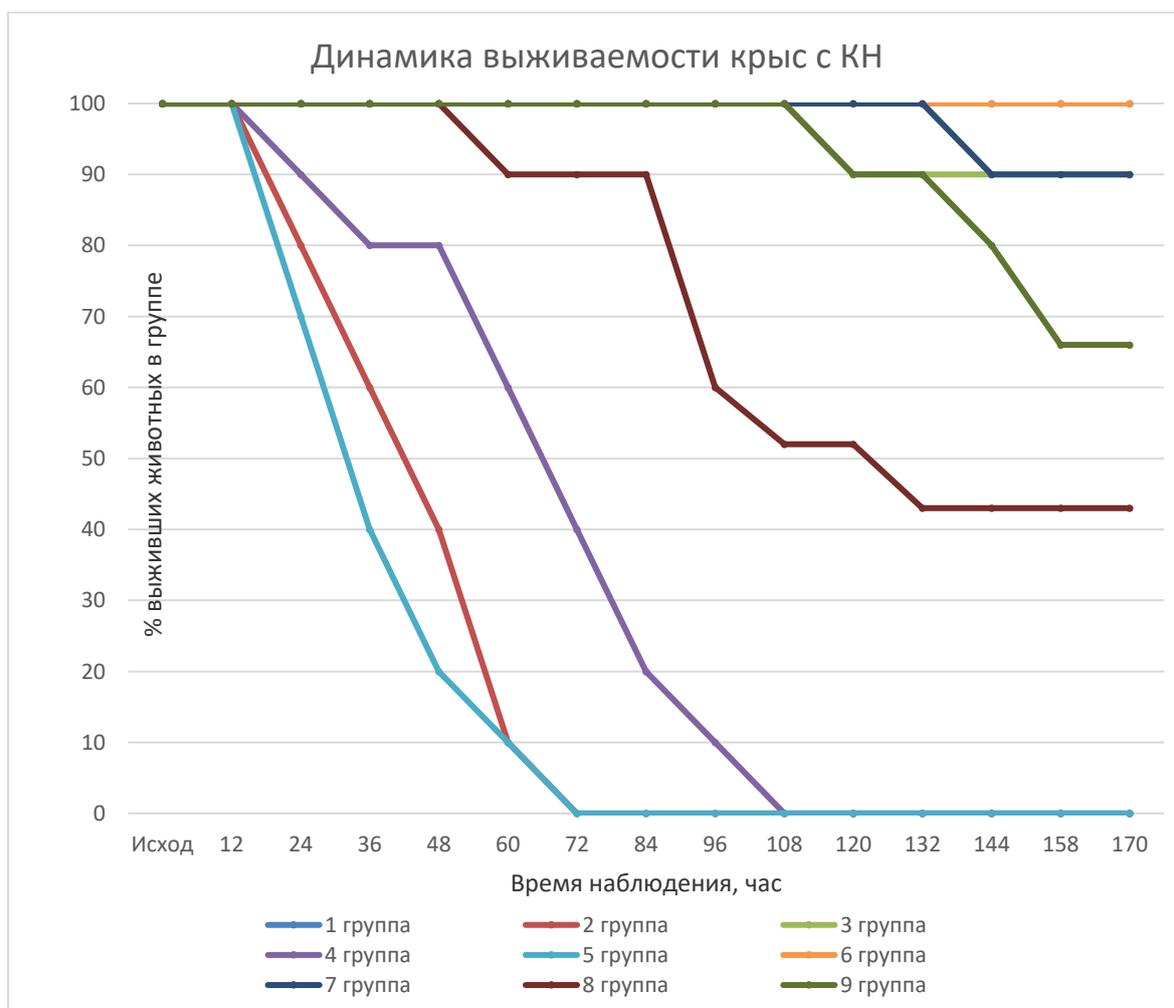


Рисунок 3.1 – Кривые выживаемости крыс с различными вариантами ТКН и воздействием пептида-171 (наблюдение в течение 7-ми суток после проведения вмешательства).

Полное прекращение пассажа в кишке при наложении лигатуры, перекрут кишки и нарушение кровоснабжения в стенке ТК после перевязки трех брыжеечных артерий вызывали гибель у 100% животных (группы № 2, 4, 5). При анализе времени гибели обращает на себя внимание тот факт, что наиболее тяжелым повреждением, вызывающим гибель в течение первых суток, является механическая перевязка кишки (2,3 сут) и окклюзия 1 брыжеечной артерии в сочетании со странгуляционным компонентом вызывала гибель крыс в среднем на 1,9 сутки после операции, что не имело статистической значимости при сравнении с животными 2-й группы. Субтотальная ишемия / некроз кишки, вызванные перевязкой 3 брыжеечных артерий, также сопровождался гибелью животных, однако в среднем время жизни крыс увеличивалось до 3,7 суток. Незначительное снижение кровоснабжения стенки ТК при перевязке одной брыжеечной артерии вызывало гибель 10% животных.

Прогноз выживаемости после оперативного вмешательства при ОКН зависел от длительности существования повреждения кишки. Например, 24-х часовое лигирование стенки кишки (группа № 8) вызывало гибель 70% животных, несмотря на наложение ЭЭА. В то же время резекция неповрежденного фрагмента кишки длиной 6-8 см также с последующим созданием ЭЭА вызывала гибель лишь 10% животных.

Поскольку модель с лигатурой стенки кишки в течение суток оказалась самой тяжелой среди моделей с минимальной выживаемостью животных, которым создавали межкишечный анастомоз, она была избрана в качестве контроля сравнения с предполагаемым более эффективным способом лечения ОКН. Все последующие результаты, связанные с применением пептида (группа № 9), сравнивали с данными группы № 8.

Наибольший показатель выживаемости – 66% – был получен при использовании лимфостимулирующего пептида-171 в группе № 9 (таблица 3.1, рис. 3.1). Увеличение выживаемости животных 9-й группы на 23% по

сравнению с 8-й группой было достигнуто за счет локального одноразового использования пептида-171 в концентрации 40,0 мкг/кг веса при завершении операции. Позитивный эффект локального воздействия синтетического пептида подчеркивается также и тем, что в процессе операции не использовались антибиотики и другие противомикробные и противовоспалительные лекарственные средства.

Имел значение еще один факт улучшения прогноза выживаемости: удаление поврежденных тканей кишки около лигатуры способствует увеличению выживаемости с 0% до 43%. Следовательно, дополнительное устранение продуктов распада, создающих повышенный локальный уровень интоксикации вокруг лигатуры, устраняемый механически, эффективен. Аналогичной эффективностью может обладать любой другой фактор, выводящий токсины и продукты распада тканей из зоны повреждения. Таким фактором может быть активированная лимфатическая система. Однако лимфатические микрососуды функционируют периодически. Длительные паузы между сокращениями стенки и особенно клапанов ЛМ, торможение моторики под влиянием наркоза, антибиотиков, многих лекарственных препаратов не способствуют активации лимфатического дренажа. Более того, лимфостаз, увеличение токсичности интерстициального пространства и лимфы, гидростатический отек в зоне поражения способствуют сдавлению ЛМ, прогрессированию лимфостаза, нарушению лимфооттока, следствием которого становится нарушение микрогемодинамики.

Таким образом, наиболее тяжело протекающим, вызывающим гибель животных в первые 3-е суток, экспериментальным повреждением ТК являются ее лигирование, окклюзия 3 брыжеечных артерий и сочетание перевязки 1 артерии с перекрутом петли кишки. С точки зрения соответствия экспериментальной патологии условиям реальной клинической практики нам представляется, что сочетание перевязки кишки с последующей ее резекцией в пределах здоровых тканей и наложение энтеро-энтероанастомоза является наиболее репрезентативным вариантом воздействия. При этом выживаемость

животных при таком подходе к моделированию составляет 43%. Местная, на область брыжейки, аппликация раствора пептида-171, являющегося синтетическим агонистом дельта-опиатных рецепторов, в концентрации 40,0 мкг/кг веса приводит к статистически значимому увеличению выживаемости животных до 66% в группе, что свидетельствует о его участии в регуляции витальных функций в месте применения.

3.2 Изучение влияния возрастных и гендерных факторов на выживаемость животных при экспериментальной ТКН и введении опиоидного пептида

При изучении зависимости между выживаемостью лабораторных животных и их половозрастными особенностями перед нами встал вопрос периодизации жизни белых крыс с возможным соотнесением их возраста с возрастными периодами жизни человека. В табл. 3.2 представлены данные о периодах жизни лабораторных крыс по Т.А. Гуськовой (2002).

Таблица 3.2 Периоды жизни белых крыс и их соответствие возрасту человека по Т.А. Гуськовой (2002)

Период	Возраст	Вес, г	Возраст человека, лет
Новорожденный	1-5 сут.	4-6	0-1
Подсосный	1 нед. – 1 мес.	7-30	1-4
Инфантильный	1-2 мес.	30-90	4-10
Препубертатный	2-3 мес.	90-120	10-17
Пубертатный	3-4 мес.	120-180	17-20
Половозрелый	5 мес. и более	180 и более	20 и старше

В связи с тем, что технически выполнение хирургического пособия по моделированию кишечной непроходимости у крысят весом до 30 г представляет определенные трудности, в рамках настоящей работы в

исследование брали животных, находящихся в четырех возрастных группах: инфантильной, препубертатной, пубертатной и ранней половозрелой, обоих полов (по 6 крыс в каждой группе каждого пола). Кроме того, для изучения роли опиоидергического пептида-171 для каждого половозрастного класса были сформированы группы животных, получавших инстилляцию пептидом (табл. 3.3).

Таблица 3.3 Выживаемость лабораторных крыс различных возрастных групп с ТКН и на фоне местного воздействия пептидом-171

Возрастной период	Пол	Условия постановки опыта	Число животных в группе	
			В группе	Выжило (%)
Инфантильный	М	Контроль	6	0 (0)
		Пептид-171	6	1 (17)
	Ж	Контроль	6	1 (17)
		Пептид-171	6	1 (17)
Препубертатный	М	Контроль	6	2 (34)
		Пептид-171	6	6 (100)*
	Ж	Контроль	6	2 (34)
		Пептид-171	6	5 (83)*
Пубертатный	М	Контроль	6	0 (0)
		Пептид-171	6	4 (67)*
	Ж	Контроль	6	2 (34)
		Пептид-171	6	5 (83)*
Половозрелый	М	Контроль	6	2 (34)
		Пептид-171	6	4 (67)
	Ж	Контроль	6	3 (50)
		Пептид-171	6	6 (100)*

Примечание: * – различия при сравнении с соответствующими значениями в контроле статистически достоверны при $p < 0,05$ (точный критерий Фишера).

В качестве модели КН во всех экспериментах настоящего раздела работы использовали метод, наиболее соответствующий условиям реальной

клинической практики, состоящий из лигирования кишки с последующей резекцией и наложением энтеро-энтероанастомоза, как было описано нами ранее.

При анализе полученных результатов мы установили, что наиболее чувствительными к патологическому воздействию тонкокишечной непроходимости вне зависимости от половой принадлежности являются животные в инфантильный период жизни. Очевидно, подобные результаты являются следствием особенностей формирования ЖКТ в данный период, а также особенностей вскармливания крыс в указанном возрасте. Локальное воздействие пептида не оказывает модулирующего действия на последствия вмешательства по поводу ОКН.

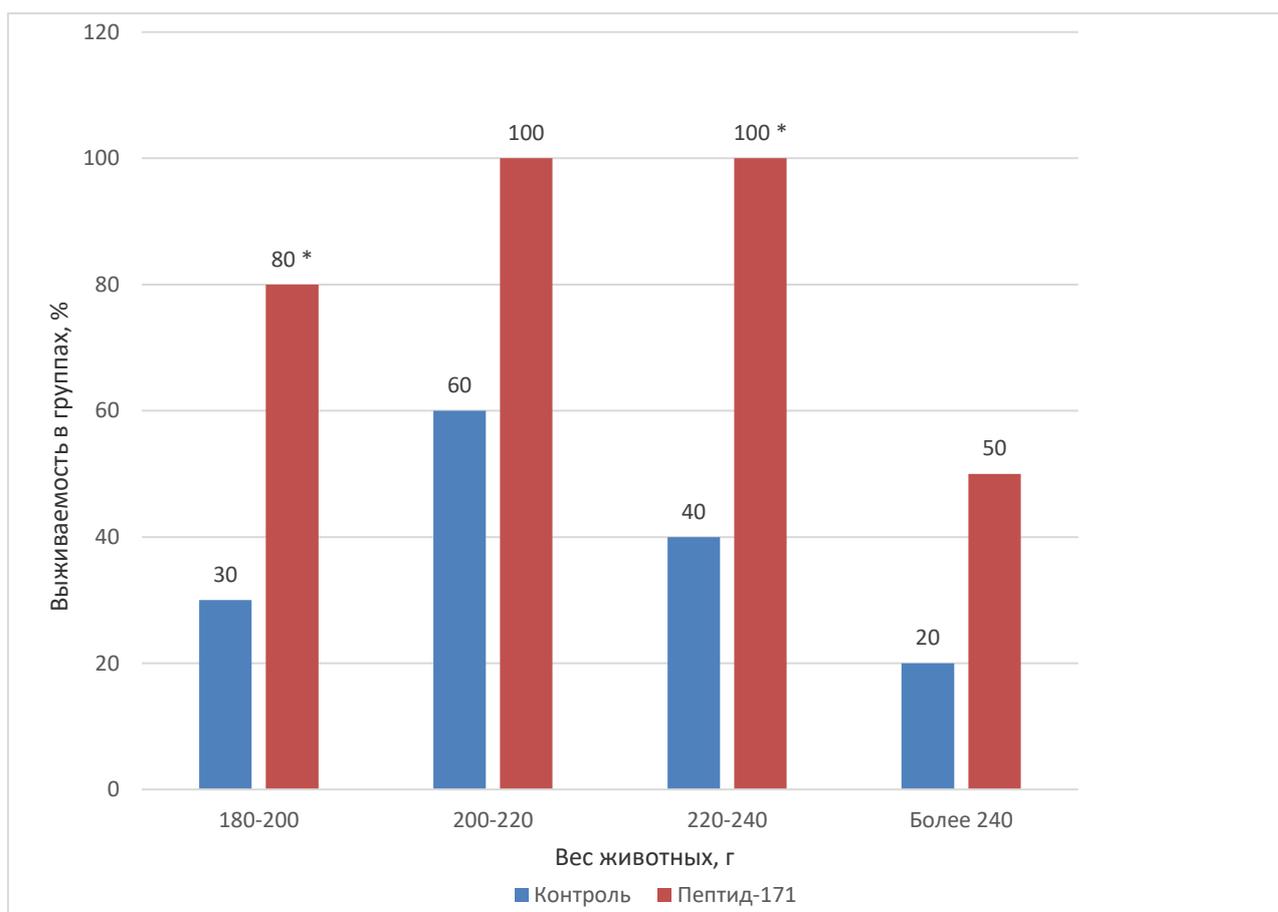
В препубертатном возрасте на фоне сохраняющегося глубоко травмирующего и практически фатального влияния моделирования острой непроходимости кишки установлено мощное корригирующее влияние местного использования раствора пептида-171, позволившего достичь 100% и 83% выживаемости в группах самцов и самок соответственно. Возможно, полученные результаты могут быть связаны с формированием и созреванием эндогенной системы пептидергической регуляции функций ЖКТ у животных и, в частности, системы опиатных пептидов, что согласуется с имеющимися в научной литературе сведениями о данной системе [143].

В пубертатном периоде самцы и самки по-разному переживали моделирование ОКН: так, в группе самок выживаемость превышала таковую в группе самцов. При этом нами отмечено положительное однонаправленное воздействие аппликации пептида-171 в обеих подгруппах.

В половозрелом периоде местное применение пептида-171 у самок сопровождалось выживанием всех крыс, включенных в опытную группу, выживаемость в группе самцов была ниже – 83%, однако половые различия не достигали уровня статистической значимости.

Поскольку половозрелый период у крыс также протекает стадийно, для изучения выживаемости животных с ОКН, в том числе при локальном

воздействии пептидом-171, мы решили стратифицировать крыс в соответствие с их весом (рис. 3.2, 3.3). Данный подход, с нашей точки зрения, вполне обоснован тем, что при прочих равных условиях одинаковый доступ к корму и воде, сопоставимый двигательный режим, сопровождаются устойчивой прибавкой веса крыс, являющейся в данной случае временной функцией.

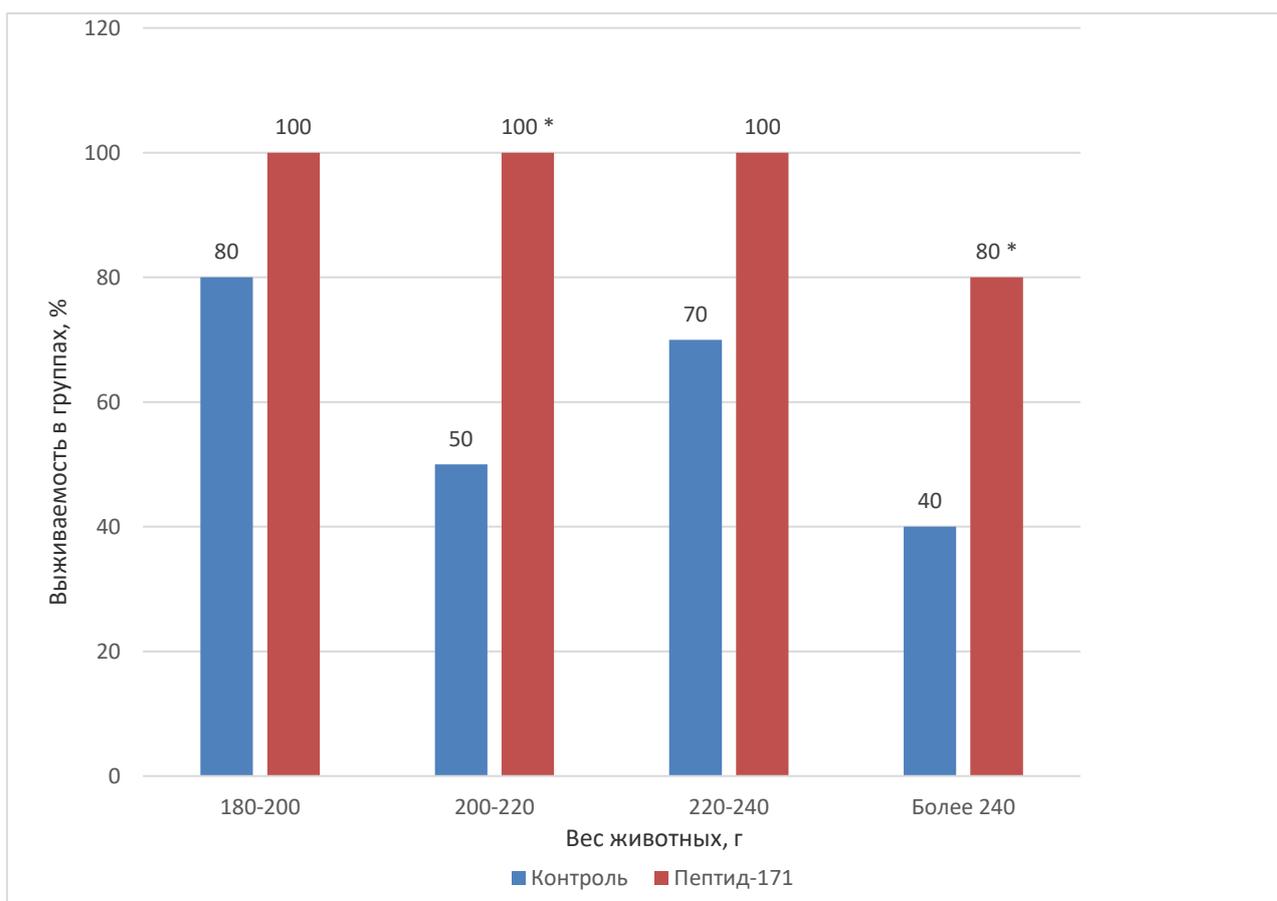


Примечание: * – различия при сравнении с контролем в соответствующей весовой группе статистически достоверны при $p < 0,05$ (точный критерий Фишера).

Рисунок 3.2 – Выживаемость животных в подгруппах половозрелых самцов крыс с ТКН на фоне воздействия пептида-171.

Результаты контрольной группы, соответствующие выживаемости крыс в процентах, свидетельствуют о низкой выживаемости самых молодых

крыс-самцов в группе исследованных половозрелых животных с весом 180-200 г (рис. 3.2, 3.3). Далее возникает максимальная устойчивость к ОКН, характеризующаяся увеличением выживаемости в два раза по сравнению с животными первой подгруппы. Дальнейшее постепенное снижение выживаемости до 20% у крыс с весом более 240 г (минимальное значение) предшествует второму подъему у 250 г животных до 40% (Рис. 3.2).



Примечание: * – различия при сравнении с контролем в соответствующей весовой группе статистически достоверны при $p < 0,05$ (точный критерий Фишера).

Рисунок 3.3 – Выживаемость животных в подгруппах половозрелых самок крыс с ТКН на фоне воздействия пептида-171.

Динамика выживаемости животных, получавших пептид, резко отличается от результатов контрольной группы высоким уровнем

выживаемости в каждой возрастной группе (в среднем по всем подгруппам больше на 32%). Более того, пептид максимально увеличивал выживаемость самых мелких животных (увеличение в 2,4 раза в первой подгруппе с массой 180-200 г). Минимальная выживаемость совпала так же, как и в контроле, с подгруппой массой 240 г. Однако предшествующая весовая подгруппа с массой 220-240 г отличалась 100% выживаемостью при использовании пептида.

В группах самок наблюдали некоторые отличительные особенности: наибольшая выживаемость животных регистрировалась в группах, соответствующих весу 180-200 и 220-240 г. У животных с этим же весом отмечали и максимальную эффективность местного использования опиоидного пептида с точки зрения его влияния на выживаемость крыс-самок (рис. 3.3). Возможным объяснением подобных различий между подгруппами самцов и самок может быть связь с фертильной функцией, обуславливающей расширение нормы реакции самок, в том числе и на повреждающие внешние воздействия.

Описанная возрастная динамика выживаемости имеет анатомо-физиологическое основание. Хорошо известно об интенсивном развитии лимфатической системы у новорожденных млекопитающих и человека. Ребенок при рождении имеет 2000 лимфатических узлов, взрослый человек – только 200. Естественная деградация лимфатической системы происходит одновременно с интенсивным развитием кровеносной системы. Увеличение числа и объема кровеносных микрососудов вызывает снижение гематокрита в микрососудах. Поскольку максимальная плотность лимфатических микрососудов отмечается в раннем возрасте, исследованные крысы с минимальным возрастом имели максимальную плотность лимфатических сосудов, что способствовало большей эффективности лимфостимулирующего пептида при активации большого числа ЛМ.

Возраст, соответствующий массе 240 г, по-видимому, является переходным в гормональном плане, что отразилось в этот период на

минимальной устойчивости и адаптации организма к экстремальным условиям. Опиоидные пептиды проявляют высокую активность только при экстремальных состояниях. Применение их в адекватной для них ситуации КН способствовало достижению максимального эффекта (100% выживаемости) у 250 г крыс.

Таким образом можно сделать вывод о большей эффективности стимуляции лимфотока пептидом у молодых животных; о большей эффективности в органах, содержащих большее количество ЛМ. По мере взросления и старения снижение численности и функциональной активности ЛМ необходимо компенсировать использованием лимфостимулятора для поддержания гомеостаза организма в экстремальных состояниях, каким является КН.

ГЛАВА 4

МИКРОЦИРКУЛЯЦИЯ В БРЫЖЕЙКЕ И СТЕНКЕ ТК КРЫСЫ В ДИНАМИКЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО РАЗРЕШЕНИЯ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ И ПРИ ВВЕДЕНИИ ПЕПТИДА

Одним из важнейших процессов, участвующих в поддержании гомеостаза кишечной стенки, сохранении ее структурно-функциональной целостности является состояние микроциркуляции. Формирование кишечной непроходимости сопровождается первичными или вторичными микроциркуляторными нарушениями, во многом определяющими прогноз и исходы острой хирургической патологии. Все это делает оценку состояния микроциркуляторного бассейна не просто важной, но и необходимой как для суждения о глубине и тяжести повреждения органа, так и для прогнозирования течения заболевания.

4.1 Динамика показателя микроциркуляции стенки ТК крыс с различными моделями ТКН (по данным ЛДФ)

Косвенный показатель скорости капиллярного кровотока – ПМ регистрирует количество отраженных от движущихся эритроцитов лазерных лучей и выражается в условных единицах. В таблице 4.1 представлены значения ПМ, характеризующие средний кровоток в мм³ ткани ТК, расположенном проксимальнее участка ее повреждения. Конец зонда располагался у поверхности стенки ТК.

Анализ динамики ПМ у животных всех исследованных групп свидетельствует об их одинаковой направленности, не зависящей от использованной модели. Исходное значение ПМ после повреждения стенки ТК резко снижалось через 1 минуту после воздействия. Степень снижения ПМ была различной в зависимости от выбранной модели. Максимальное снижение ПМ на 76% возникало у животных 5-й группы, которые подвергались комбинированному воздействию (лигатура одной брыжеечной

артерии и странгуляция кишки). Минимальное снижение ПМ на 22% отмечено в 3-й группе, в которой производилась перевязка только одной артерии брыжейки. Перевязка трех артерий в 4-й группе вызывала снижение ПМ почти в три раза (на 63% больше), чем у крыс с окклюзией одного сосудистого ствола. У животных с ОКН в группах 2, 6-9 регистрировали сопоставимое снижение ПМ в среднем на 44–47%.

В таблице 4.1 обобщены полученные результаты значения ПМ в первую минуту после повреждения ТК в зависимости от модели КН. В соответствии с преобладанием сосудистого или окклюзионного компонентов формирования патологии, а также степени подавления микроциркуляторной функции все использованные подходы были ранжированы в объединенные группы. Последующий сравнительный анализ полученных результатов при КН по критериям степени снижения ПМ объединенных групп с частотой смертности этих же животных позволил разделить их на три варианта взаимной зависимости (таблица 4.2). Применяв метод отношения шансов, мы установили, что первый вариант (группы 3, 6, 7) отличался низкой смертностью, не превышающей 10% при минимальном снижении ПМ в начале КН. Второй вариант реакции микрососудов почти в два раза превышал снижение ПМ, а летальность животных в группах 2, 4, 5, 8 росла в 5-10 раз по сравнению с первым групповым вариантом. Третий вариант, включавший только одну, 9-ю группу, животные которой получали местное воздействие пептидом-171 с лимфостимулирующей активностью, занимал промежуточное место между первым и вторым вариантами реакции как по снижению ПМ, так и по показателю смертности животных.

Динамика ПМ во всех группах, как отмечалось ранее, до момента введения пептида 9-й группе была одинаковой. В таблице 4.1 эта закономерность прослеживается для 8-й и 9-й групп.

Таблица 4.1 Динамика показателя микроциркуляции в стенке ТК крысы при различных моделях кишечной непроходимости

Экспериментальная группа	Вес крыс (г)	Показатель микроциркуляции (ПМ), ед.				
		Исход	Через 1 мин после операции	За 1 ч до резекции кишки	Через 1 час после операции	На 7-е сутки после операции
1	228.0 ± 2.5	20.2 ± 0,1	-	-	19.8 ± 0,2	-
2	221.0 ± 3.8	20.3 ± 0,1	10.9 ± 0.3	-	-	-
3 Выжили Погибли	222.0 ± 3.3	20.1 ± 0,2	15.7 ± 0,4	-	-	-
	224.4 ± 3.0	20.1 ± 0,2	15.7 ± 0,4		19.7 ± 0,2	
	200.0	20.2 ± 0.0	16.5 ± 0.0		-	
4	229.0 ± 3.8	20.9 ± 0,3	7.7 ± 0,2	-	-	-
5	226.0 ± 4.2	21.1 ± 0,2	5.1 ± 0,3	-	-	-
6	234.0 ± 4.2	20.3 ± 0,2	11.3 ± 0,3	-	15.7 ± 0,3	-

Таблица 4.1 Продолжение						
1	2	3	4	5	6	7
7	233.5 ± 2.5	20.4 ± 1,0	11.3 ± 0,2	-	-	
Выжили	232.0 ± 2.5	20.5 ± 0,1	11.2 ± 0,2	-	16.1 ± 0,1	-
Погибли	240.0 ± 0.0	20.4 ± 0,3	12.0 ± 0,1	-	-	
8	227.9 ± 3.3	20.7 ± 0.1	11.1 ± 0.1	6.6 ± 0.1	10.7 ± 0.1	
Выжили	226.7 ± 3.1	20.5 ± 0,01	11,0 ± 0,2	6,6 ± 0,1	11.1 ± 0,1	13.2 ± 0,2
Погибли	228.9 ± 3.0	20.7 ± 0,1*	11,2 ± 0,1	6,7 ± 0,1	10.7 ± 0,1*	
9	226.6 ± 2.8	20.5 ± 0.1	10.9 ± 0.1	6.5 ± 0.2	10.7 ± 0.1	
Выжили	224.1 ± 2.2	20.4 ± 0,1	10.9 ± 0,01	6.5 ± 0,1	10.9 ± 0,1	14.3 ± 01*
Погибли	231.7 ± 2.6*	20.5 ± 0,1	11.0 ± 0,2	6.6 ± 0,1	10.3 ± 0,1*	

Примечание:* – межгрупповые различия (между выжившими и погибшими) достоверны при $p < 0.05$ (ANOVA).

Отсутствие конечной части кривой погибших животных 8-й группы связано с их более ранней гибелью по сравнению с животными 9-й группы, получавшими пептид.

Таблица 4.2 Связь гибели животных со степенью снижения показателя микроциркуляции (ПМ) в стенке ТК в течение первой минуты после моделирования кишечной непроходимости (метод отношения шансов)

№ групп	Модели	Диапазон снижения ПМ (%) после моделирования патологии	Средний ПМ групп	Диапазон летальности (%)	Средне-групповая летальность, %
3 6 7	Лиг 1Арт, ПересК+ЭЭА РезК+ЭЭА	22-45	37	0-10	6.7
V=0,284, p=0,002					
2 4 5	ЛигК, Лиг 3 Арт, Лиг 1Арт+ПересК	46-75	56	57-100	89
V=0,267, p=0,016					
8	ЛигК+РезК+ЭЭА		53	-	57
V=0,245, p=0,027					
9	ЛигК+РезК+ЭЭА+ Пептид		47	-	34
V=0,193, P=0,038					

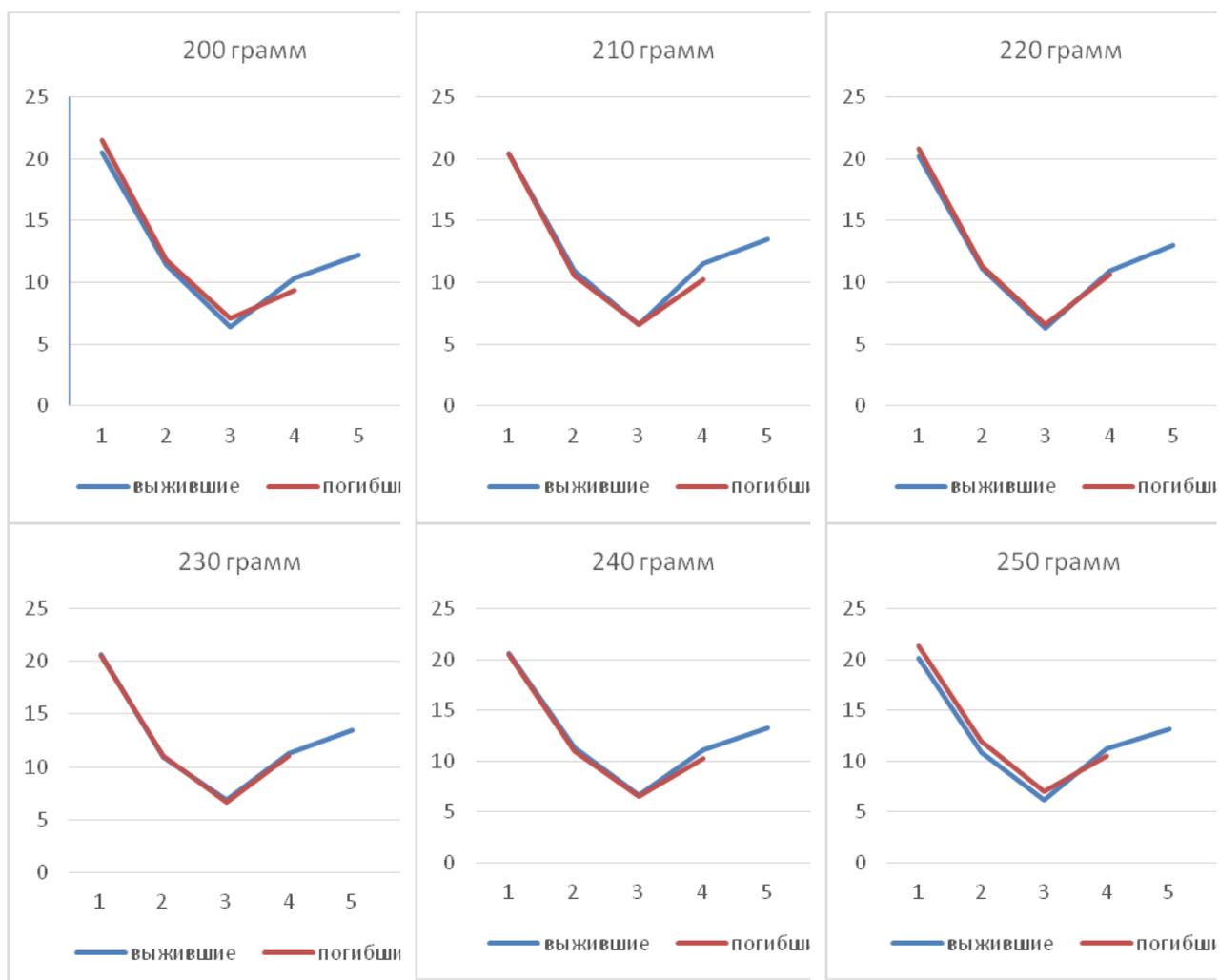
Примечание: Лиг – лигатура; ЛигК – лигатура кишечника; Арт – артерия брыжейки; ПересК – пересечение кишки; ПересК – перекрут кишки; РезК – резекция кишки; ЭЭА – энтеро-энтероанастомоз.

Полученные результаты позволяют констатировать наличие лечебного эффекта пептида-171, который, будучи стимулятором лимфотока, оказывает влияние на кровообращение, иммунитет, водно-электролитный обмен, центральную нервную систему и др. системы организма, что способствует восстановлению гомеостаза при экстремальном состоянии, каким является ОКН.

Следовательно, определяющим фактором, обуславливающим увеличение выживаемости животных, является позитивное влияние местной аппликации пептида-171 на область брыжейки поврежденного фрагмента кишки, улучшение и восстановление микроциркуляции. В этой связи можно заключить, что стимуляция лимфотока способна восстанавливать нарушенную микроциркуляцию не только в лимфатических, но и в кровеносных микрососудах [7].

При анализе зависимости динамики ПМ в стенке ТК для каждой возрастной группы у крыс 8-й и 9-й групп при КН также ориентировались на вес животных в группах. Мы установили, что в целом динамика ПМ носила однонаправленный характер для всех изученных возрастных групп (рис. 4.1), и не было установлено статистических межгрупповых различий в зависимости от веса животных. Проследив отдельно динамику ПМ у выживших и погибших животных в различных весовых группах, мы также не обнаружили статистической значимости между ними.

Система кровообращения на уровне микрососудов, в частности, капиллярного кровообращения не определяла адаптационные возможности стенки кишки, поскольку капиллярная перфузия (по показателю ПМ) от момента перевязки кишки лигатурой до наложения ЭЭА и введения пептида характеризовалась прогрессивным снижением. Первый подъем ПМ после создания анастомоза был обусловлен иссечением некротизированных тканей вокруг лигатуры на относительно здоровом участке, где ПМ закономерно был выше.



**Рисунок 4.1 – Динамика ПМ у выживших и погибших животных 8-й группы с различным весом при повреждении кишки.
(Пояснение в тексте).**

Устранение поврежденных тканей кишки в области наложения лигатуры механически удалило источник интоксикации органа и целостного организма, восстановило пассаж кишечника, что снизило смертность животных со 100% до 70%. Уровень смертности удалось снизить до 30% и увеличить ПМ только после введения пептида и стимуляции лимфатического дренажа при активации лимфотока в области расположения ЭЭА. ПМ на этом фоне неуклонно увеличивался к 7-му дню после операции. Животные, пережившие этот срок, в дальнейшем не погибали.

4.2 Биомикроскопическое изучение реакции кровеносных и лимфатических сосудов при ТКН в контроле и при введении пептида

Биомикроскопия сосудистого русла позволяет получать прямые данные относительно состояния структурных (диаметр, длина, форма, количество и др.) и функциональных (скорость кровотока, внутрисосудистое давление, гематокрит, проницаемость стенки, текучесть крови, адгезивные свойства клеток крови, их способность к агрегации и дезагрегации и др.) показателей, характеризующих способность нормального функционирования органа, ткани, клеток. Комплексное исследование микроциркуляции стенки ТК при КН косвенным (ЛДФ) и прямым биомикроскопическим методами позволяет обнаружить дополнительную информацию, связанную с патогенезом заболевания и объективно оценить возможности повышения эффективности предлагаемого лечения.

4.2.1 Реакция элементов венозного русла брыжейки ТК при КН в контроле и при введении пептида

Состояние венозного русла раньше артериального реагирует на возникающие расстройства кровообращения, особенно на уровне микроциркуляции. Признаками замедления скорости кровотока в венах являются увеличение краевого стояния лейкоцитов, увеличение адгезии лейкоцитов к стенке вены, хорошо различимое замедление скорости кровотока, переходящее в стаз. В артериолах адгезия клеток крови к стенке сосуда возникает значительно позже на фоне выраженных нарушений гемодинамики и микроциркуляции. Важным показателем состояния вен и венул является их кровенаполнение и скорость кровотока. Застой крови сопровождается увеличением диаметра венозного сосуда. Увеличение скорости и уменьшение диаметра ранее полнокровной вены свидетельствует о восстановлении и улучшении венозного кровообращения.

В таблице 4.3 представлены данные биомикроскопии венозных сосудов брыжейки ТК крыс 8-й контрольной группы и 9-й опытной группы. В обеих группах КН развивалась после наложения лигатуры на кишку. Через сутки удаляли поврежденный фрагмент кишки с лигатурой и накладывали ЭЭА. Поверхность анастомоза у животных орошали 1,0 мл изотонического раствора хлорида натрия. Животным 9-й группы в раствор добавляли лимфостимулирующий пептид (в концентрации 40,0 мкг/кг веса животного).

Таблица 4.3 Диаметр мелких вен брыжейки ТК выживших крыс в контроле и на 7-е сутки после резекции поврежденного лигатурой фрагмента кишки и создания межкишечного анастомоза у животных 8-й и 9-й групп

Группа животных	Количество животных и вен (ед)	Диаметр вен M±m (мм)			
		Контроль (а)	%	На 7-е сутки опыта (б)	%
8	27	1,78±0,06	100	1,52±0,04 P _{a-б} <0,001	85
9	41	1,99±0,04 P ₈₋₉ <0,01	100	1,50±0,06 P ₈₋₉ >0,1 P _{a-б} <0,001	75

Примечание: контроль – исходный диаметр мелких вен до наложения лигатуры; одномерный дисперсионный анализа (ANOVA), критерий Даннета.

В таблице 4.3 представлены данные биомикроскопии венозных сосудов брыжейки ТК крыс 8-й контрольной группы и 9-й опытной группы. В обеих

группах ОКН развивалась после наложения лигатуры на кишку. Через сутки удаляли поврежденный фрагмент кишки с лигатурой и накладывали ЭЭА. Поверхность анастомоза у животных орошали 1,0 мл изотонического раствора хлорида натрия. Животным 9-й группы в раствор добавляли лимфостимулирующий пептид (в концентрации 40,0 мкг/кг веса животного). В таблицу 4.3 вошли результаты только выживших животных. В связи с различными исходными данными размера диаметра венозных сосудов у выживших крыс в контроле и в опытной группе ($P_{8-9} < 0.01$) анализ изменения диаметра сосудов через 7 суток после операции наложения ЭЭА необходимо было выразить в процентах по сравнению с исходными данными и далее сравнивать полученные значения между контрольной и опытной группами. В 8-й группе диаметр вен снизился на 15%, в 9-й группе – на 25%. Несмотря на недостоверные различия между диаметрами сосудов 8-й и 9-й групп на 7-е сутки ($P_{8-9} > 0.1$), они имели высокую степень достоверности по сравнению с их исходным диаметром ($P_{a-6} < 0.001$).

Поскольку к 7-м суткам после проведения оперативного вмешательства и наложения межкишечного анастомоза у выживших животных в целом микроциркуляторные нарушения компенсируются, закономерно то, что нами не были получены статистически значимые различия диаметра венозных микрососудов брыжейки между животными 8-й и 9-й групп. В то же время доказательным значением обладают именно различия при сравнении с исходом, поскольку, будучи зарегистрированными у тех же самых животных до хирургической коррекции, они позволяют судить о степени эффективности воздействия при остро формирующейся хирургической патологии органа.

Таким образом, обнаружено снижение полнокровия и застоя в венах и мелких венах. В большей степени застой и полнокровие снижались у животных, получавших лимфостимулирующий пептид (на 10% и более). Опиоидные пептиды – аналоги энкефалинов быстро разрушаются в организме различными протеазами на аминокислоты, в связи с чем их

растворяют непосредственно перед введением в организм. Фармакологический эффект этих веществ длится около 5 минут. Однако известно, что их эффект обладает и отсроченным действием.

В наших экспериментах небольшая доза пептида-171 (40 мкг/кг веса животного) оказывала регулирующее венотоническое действие на сосудистую венозную сеть брыжейки, сохраняющееся на протяжении 7-ми суток, препятствуя развитию венозного полнокровия и застойных явлений, которые вызывают нарушения микроциркуляции в венозном и позже в артериальном русле в послеоперационном периоде. Рассуждая о возможных механизмах формирования венотонического эффекта опиоидного пептида, можно предположить, что он может быть как следствием прямого активирующего влияния пептида на дельта-опиатные рецепторы ГМК сосудистой венозной стенки, так и обусловлен опосредованной активацией подслизистых и брыжеечных нервных образований симпатической нервной системы, оказывающих длительное активирующее влияние на циркулярно ориентированные гладкомышечные структуры венул.

4.2.2 Реакция лимфатических микрососудов брыжейки ТК крысы при КН в контроле и при введении пептида

Лимфатические сосуды брыжейки ТК крысы функционируют периодически. Как правило, активация моторики ЛМ возникает после приема пищи, в связи с чем в экспериментах используют депривированных от корма животных. Биомикроскопия ЛМ возможна только при использовании наркоза, который способствует торможению моторики стенки и клапанов ЛМ. ЛМ обладают различной активностью в зависимости от их топографии в брыжейке. Наиболее активные ЛМ расположены в толще жировой ткани брыжейки, где они долго сокращаются. Меньшей активностью обладают ЛМ пограничной зоны брыжейки с жировой тканью. ЛМ прозрачной части брыжейки редко сокращаются в течение короткого периода времени. Лимфатические капилляры и посткапилляры не способны сокращаться,

поскольку лишены гладкомышечных клеток в своей стенке. Через отдельные петли брыжейки в ее прозрачной центральной части проходят ЛМ, окруженные жировой тканью. Такие ЛМ с диаметром до 300 мкм содержат гладкомышечные клетки в стенке и способны сокращаться. В связи с изложенным нам было необходимо стандартизировать ЛМ, с которыми планировалось проводить исследование. В наших экспериментах с целью оценки функциональной активности использовали ЛМ, расположенные на границе прозрачной части брыжейки с жировой тканью у животных, в течение 12-ти часов депривированных от пищи, с диаметром ЛМ больше 50-80 мкм, обладающих сократительной активностью.

В таблице 4.4 представлены результаты биомикроскопического изучения в динамике сократительной активности ЛМ брыжейки ТК крыс, выживших после моделирования у них ОКН (8-я контрольная группа животных и 9-я – опытная).

В контроле до операции функционировали не все ЛМ, а примерно половина сосудов. В 9-й группе, несмотря на идентичность методических подходов к моделированию патологии с 8-й группой, активных сосудов было в 2,4 раза меньше, чем неактивных. Неактивные сосуды – не сокращающиеся ЛМ.

После оперативного вмешательства через 24 часа после наложения лигатуры на кишку, иссечения пораженного фрагмента кишки с лигатурой и создания ЭЭА, только в 9-й группе орошали операционное поле раствором с лимфостимулирующим пептидом-171 (в концентрации 40,0 мкг/кг веса). Рану зашивали. На 7-е сутки после операции при повторной биомикроскопии регистрировали сократительную активность ЛМ. Все ЛМ 8-й и 9-й групп функционировали. Частота исходно активных ЛМ 9-й группы была на 28% выше по сравнению с аналогичной подгруппой 8-й группы. Частота сокращения стенки ЛМ исходно не активных подгрупп была одинаковой. Однако вклад в увеличение лимфотока животных 9-й группы, получавших

пептид, был больше в связи с активацией в два раза большего числа ЛМ ранее не функционировавших (29 к 14 ЛМ). Оценивать суммарный результат «разных» ЛМ 8-й и 9-й групп нельзя, так как исходное количество не активных ЛМ 9-й группы, как указывалось выше, было в два раза больше, чем в 8-й группе, а частота сокращения на 7-е сутки – одинаковой.

Таблица 4.4 Частота сокращения стенки лимфатических микрососудов брыжейки ТК выживших крыс при КН в контроле и на 7-е сутки после резекции поврежденного лигатурой фрагмента кишки и создания межкишечного анастомоза у животных 8-й и 9-й групп

Группа	Лимфатические микрососуды (M±m)				
	Подгруппа	Количество		Частота сокращения (ед/мин)	
		ед.	%	контроль	7-е сутки опыта
8	активные	15	52	1.0 ± 0.01	2.47 ± 0.21*
	не активные	14	48	0	1.50 ± 0.17*
	разные	29	100	0.52 ± 0.11	2.00 ± 0.14*
9	активные	12	29	1.08 ± 0.03	3.17 ± 0.13*,**
	не активные	29	71	0	1.55 ± 0.12*
	разные	41	100	0.32 ± 0.13	2.02 ± 0.19*

Примечание: Контроль – исходное состояние до операции; *— различия с контролем статистически достоверны при $p < 0,05$; ** – различия между подгруппами статистически достоверны при $p < 0,05$ (одномерный

дисперсионный анализ (ANOVA), парный критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони).

В заключении можно констатировать увеличение сократительной активности ЛМ брыжейки ТК крыс на 28% в ответ на применение лимфостимулирующего пептида, который не утратил своей активности на протяжении 7-ми суток.

Таким образом, анализ результатов исследования микроциркуляции, структурно-функционального состояния венозного и лимфатического бассейнов брыжейки, вовлеченных в формирование острого патологического процесса отделов ТК, а также установленные местные эффекты опиоидного пептида-171, позволяют в определенной степени пролить свет на местные регуляторные механизмы, направленное воздействие на которые способно эффективно повышать адаптационные возможности организма при формировании острой кишечной непроходимости. Так, мы установили, что развитие ОКН сопровождается редукцией микроциркуляции, застойными явлениями в венулах, снижением активности лимфодренажа за счет подавления активности лимфатических микрососудов. Орошение брыжейки пораженного отдела кишки раствором пептида-171 в концентрации 40 мкг/мл приводит к формированию немедленного и отсроченного эффектов, характеризующихся активацией микроциркуляции в отделах кишки, локализованных проксимальнее места повреждения, повышением тонуса венул и активацией ЛМ. Установленный эффект сохраняется до 7-ми суток после формирования острой патологии и, на основании результатов вычисления отношения шансов, обуславливает повышение выживаемости крыс с обтурационной КН и последующими резекцией пораженного отдела кишки и созданием энтеро-энтероанастомоза.

ГЛАВА 5

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ЛИМФОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ПЕПТИДА В ВОССТАНОВЛЕНИИ СТРУКТУРЫ КИШЕЧНОЙ СТЕНКИ ПОСЛЕ ЕЕ РЕЗЕКЦИИ И НАЛОЖЕНИЯ МЕЖКИШЕЧНОГО АНАСТОМОЗА ПО ПОВОДУ ТОНКОКИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ

Морфологическое исследование было проведено на 67-ми белых беспородных крысах-самцах массой 200-260 г. Проксимальный отрезок ТК крысы на 7-е сутки после хирургического устранения обтурационной тонкокишечной непроходимости исследовали в контроле (8-я группа) и при использовании пептида (9-я группа животных).

В таблице 5.1 представлены результаты патоморфологического изучения отрезка ТК крысы на 7-е сутки после хирургического устранения обтурационной тонкокишечной непроходимости.

Исследование контрольных животных показало, что, несмотря на устранение обтурационной непроходимости в тонкой кишке, сохраняется расширение просвета кишки с умеренным уплощением кишечных ворсин и укорочением крипт (рис. 5.1). Ворсины, теряя высокую конусообразную форму, становятся короче, с плоской поверхностью по верхушкам. Выстилка кишечных ворсин представлена цилиндрическим всасывающим эпителием с вакуолизированной просветленной цитоплазмой, истонченной или плохо различимой щеточной каемкой, истонченным слоем гликокаликса и многочисленными бокаловидными клетками с признаками выделения секрета в просвет кишки (РАС-реакция) (рис. 5.2). Собственная пластинка слизистой оболочки кишечных ворсин и криптальных отделов отечна с разобщением гистиоцитарных и лимфоидных клеток. Субэпителиальные капилляры неразличимы. Центральный капилляр и венулы криптальных отделов расширены и полнокровны.

Таблица 5.1 Влияние пептида на восстановление структуры тонкокишечного анастомоза после резекции фрагмента ТК крысы

Группа показателей	Исследуемые показатели	На 7-е сутки после резекции кишки и создания межкишечного анастомоза	
		Без пептида (8-я группа)	На фоне пептида-171 (9-я группа)
1	2	3	4
1	Просвет кишки		
	Диаметр	+++	+
	Наличие секрета	++	Н
2	Кишечные ворсины		
	Высота цилиндрического эпителия	--	Н
	Число бокаловидных клеток	+++	Н
	Отек энтероцитов	+++	Н
	Толщина щеточной каемки	---	Н
	Толщина гликокаликса	---	Н
	Собственная пластинка слизистой оболочки	+++	Н

Таблица 5.1 Продолжение			
	Крипты	+++	Н
1	2	3	4
2	Разобшение гистиоцитов и лимфоидных клеток	+++	Н
3	Капилляры (диаметр / полнокровие)		
	Субэпителиальные	Не определяются	Н
	Центральные	+++ / +++	Н
	Мышечной оболочки	+++ / +++	+ / +
4	Венулы (диаметр / полнокровие)		
	Крипт	+++ / +++	++ / ++
	Подслизистого слоя	+++ / +++	++ / ++
5	Лимфатические сосуды		
	Диаметр	+++	Н
	Эозинофильные массы	++	+
	Лимфоциты	+	Н
6	Мышечная оболочка		
	Отек	+++	+

Таблица 5.1 Продолжение			
	Разобшение мышечного слоя	+++	+
1	2	3	4
6	Просветление цитоплазмы	+++	0
	Миоцитоллиз	+	0
	Воспаление	+	0
7	Жировая клетчатка		
	Полнокровие сосудов	+++	++
	Отек интерстиция	+++	+

Примечание: +++/- - - значительное увеличение/уменьшение; +/- - умеренное увеличение/уменьшение; +/- - незначительное увеличение/уменьшение у небольшого числа животных, Н – норма, 0 – отсутствие признака.

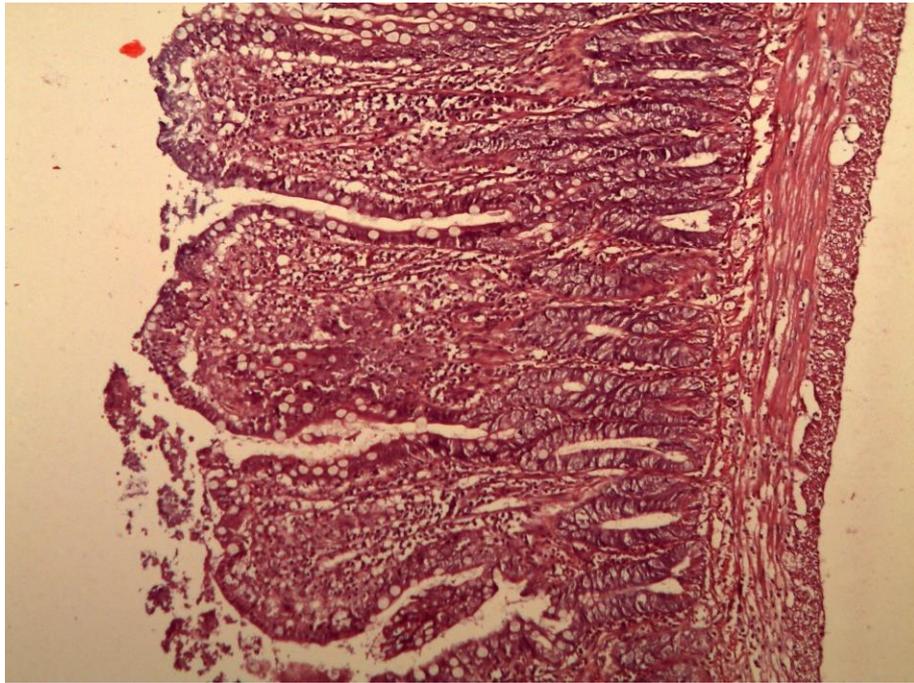


Рисунок 5.1 – Истончение стенки ТК крысы с укорочением и уплощением кишечных ворсин на 7-е сутки после резекции и создания кишечного анастомоза. Окраска гематоксилином и эозином.

Увеличение x100.

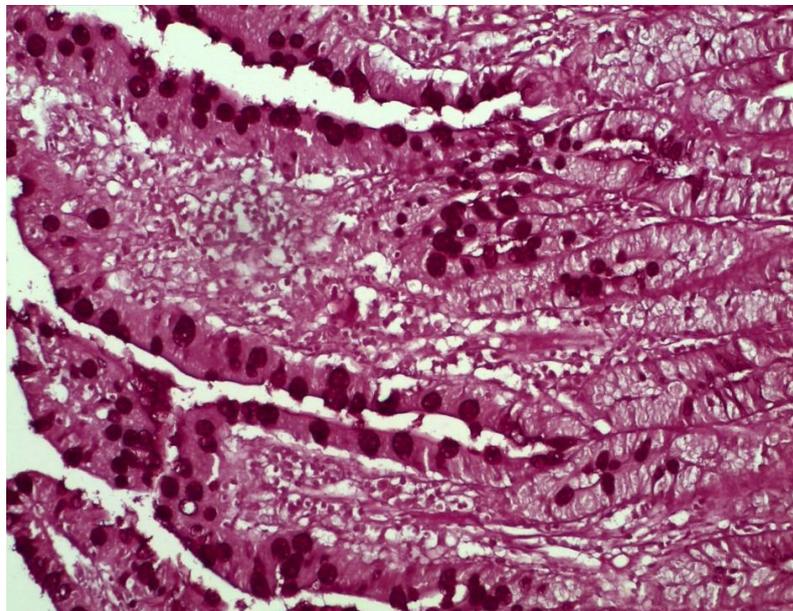


Рисунок 5.2 – Поверхностный эпителий кишечных ворсин крысы на 7-е сутки после создания анастомоза. Всасывающие эпителиоциты с истонченным слоем гликокаликса и многочисленными бокаловидными клетками. РАС-реакция. Увеличение x200.

В подслизистой основе имеются многочисленные полнокровные вены, расширенные лимфатические сосуды без видимого содержимого в просвете (рис. 5.3).

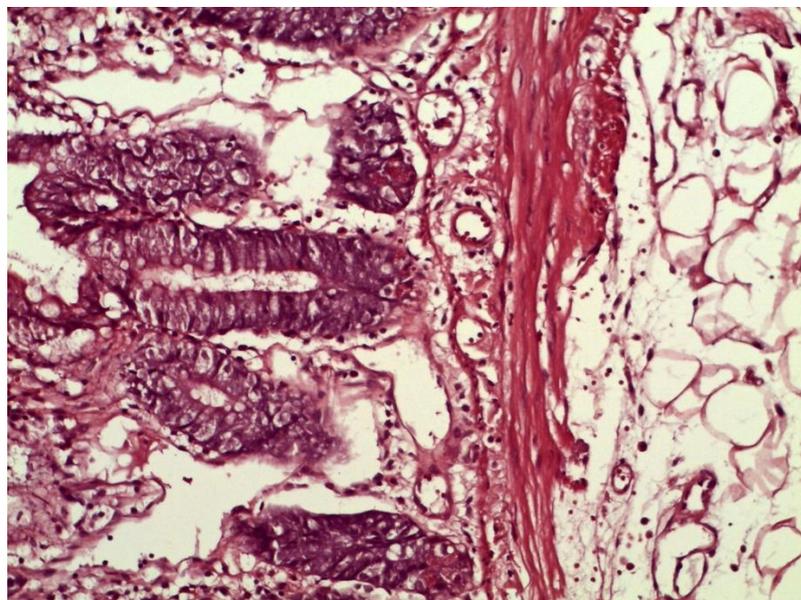


Рисунок 5.3 – Отек собственной пластинки слизистой оболочки ТК крысы на 7-е сутки после резекции и создания анастомоза. Дилатация просвета лимфатических капилляров. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x200.

Четко прослеживается отек мышечных слоев с полнокровием капилляров внутреннего мышечного слоя, перикапиллярным отеком и разобщением мышечных волокон, что наиболее заметно на поперечных срезах наружного мышечного слоя. На отдельных участках мышечного слоя выражено просветление цитоплазмы мышечных клеток с явлениями миоцитолита и реактивным воспалением (рис. 5.4). В жировой клетчатке брыжеечного края кишки также сохраняются выраженные признаки острого сосудистого полнокровия, интерстициального отека с расширением лимфатических сосудов без визуализации содержимого в их просвете или наличием эозинофильных масс с единичными лимфоцитами в лимфе.

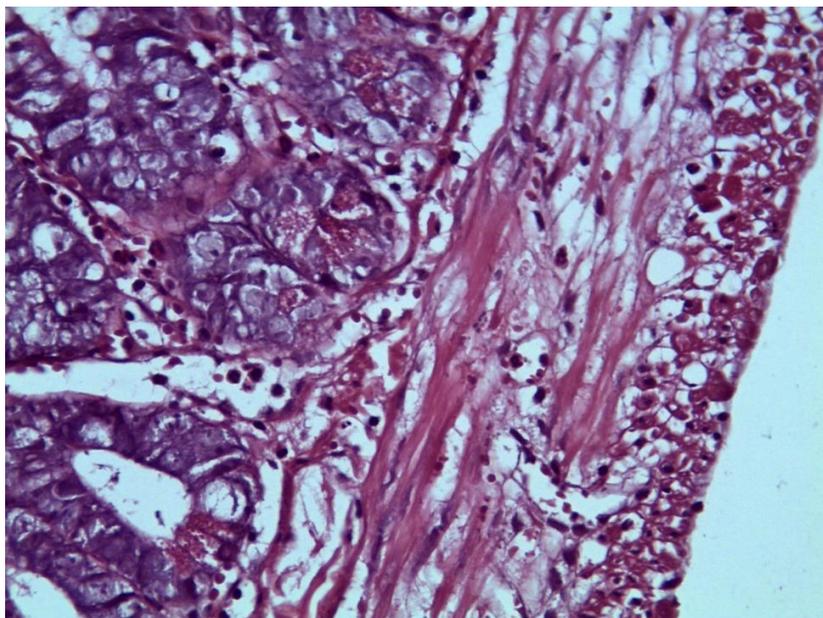


Рисунок 5.4 – Отек мышечных слоев ТК крысы на 7-е сутки после резекции и создания кишечного анастомоза.

Разобщение гладкомышечных клеток с очаговым миоцитоллизом, реактивным воспалением и полнокровием межмышечных капилляров. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x200.

Стенка лимфатических микрососудов представлена только эндотелиоцитами с различными внутрисосудистыми клапанами в отдельных сосудах (рис. 5.5).

Таким образом, на 7-е сутки после устранения кишечной непроходимости и выживания животных морфологически остаются признаки острых сосудистых изменений в микроциркуляторном русле кровеносных и лимфатических сосудов, кишечной стенки, а также интерстициальный отек всех слоев стенки кишки с нарушением дренажной функции лимфатических сосудов. Структурные изменения всасывающего эпителия мышечных ворсин с истончением щеточной каемки клеток и гиперфункцией слизистых (бокаловидных) клеток указывают на возможное замедление всасывательной функции кишечного эпителия и пристеночного пищеварения. Отек мышечных слоев стенки кишки с очаговыми повреждениями миоцитов

(миоцитолитический) обуславливают нарушения сократительной способности, приводящие к дилатации просвета кишки.

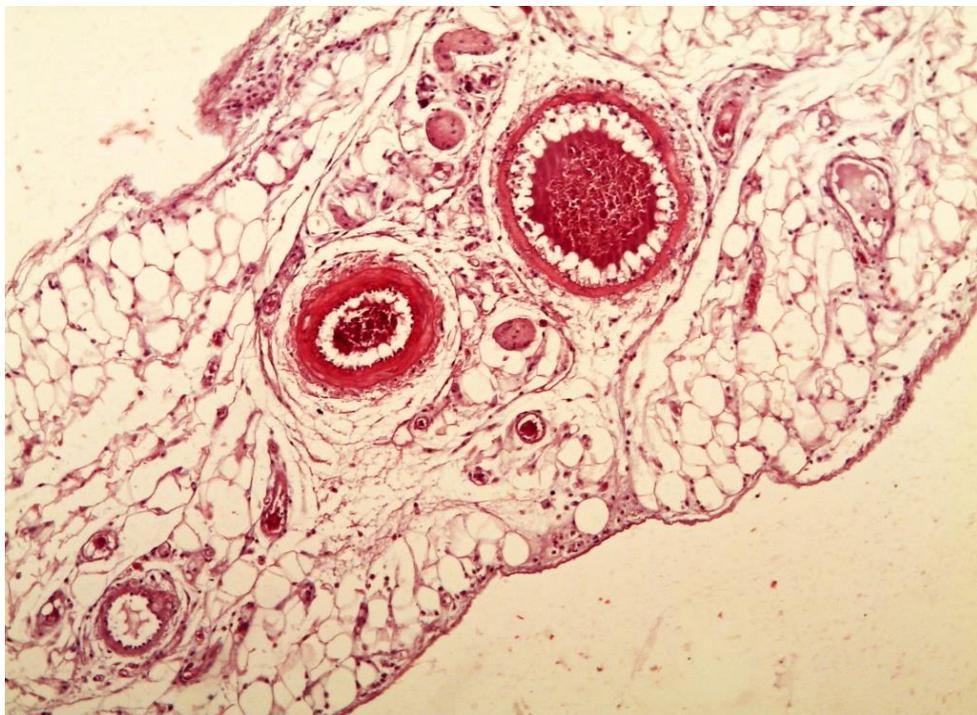


Рисунок 5.5 – Отек жировой ткани брыжеечного края ТК крысы на 7-е сутки после резекции и создания анастомоза.

Острое полнокровие кровеносных микрососудов и расширение просвета лимфатических капилляров. Окраска гематоксилином и эозином.

Увеличение x200.

Морфологическое изучение проксимального отрезка кишки на 7-е сутки после устранения обтурационной кишечной непроходимости и использования лимфостимулирующего пептида (9-я группа) показало, что только у части животных сохраняется умеренное расширение просвета кишки. У большей части животных просвет кишки не расширен. Высокие конусообразной формы кишечные ворсины равномерно распределены по всему периметру кишки, выстланы высокоцилиндрическим всасывающим

эпителием с равномерно распределенными бокаловидными клетками (рис. 5.6).

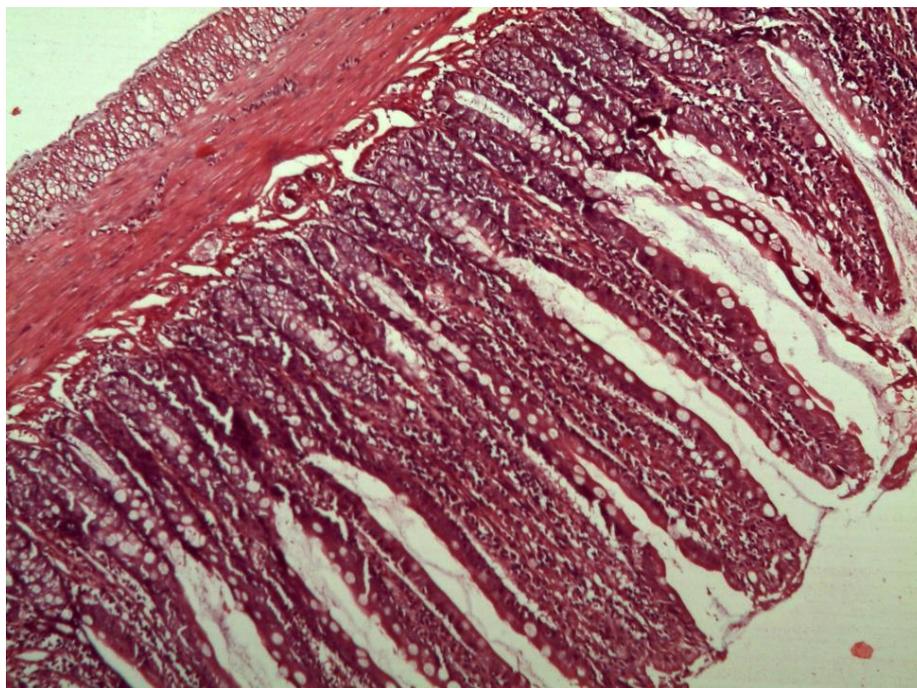


Рисунок 5.6 – Влияние лимфостимулирующего пептида на восстановление ворсин ТК крысы на 7-е сутки после резекции и создания анастомоза. Равномерное расположение высоких конусовидной формы кишечных ворсин ТК, выстланные всасывающим эпителием с равномерно распределенными бокаловидными клетками. Окраска гематоксилином и эозином.

Увеличение x200.

У всасывающих эпителиоцитов кишечных ворсин отсутствовали признаки внутриклеточного отека. Они имели высокую четкую щеточную каемку (РАС-реакция) и четкий слой гликокаликса. Бокаловидные клетки, нагруженные секретом, не имели признаков его выделения в просвет кишки (рис. 5.7). Собственная пластинка слизистой оболочки в кишечных ворсинках и в криптальной зоне имеет равномерно распределенные клеточные элементы с преобладанием лимфоцитов. В криптальных отделах слизистой оболочки и подслизистой основы сохраняются признаки очагового

полнокровия венул и четко различимые лимфатические микрососуды с наличием в просвете эозинофильного содержимого в лимфе.

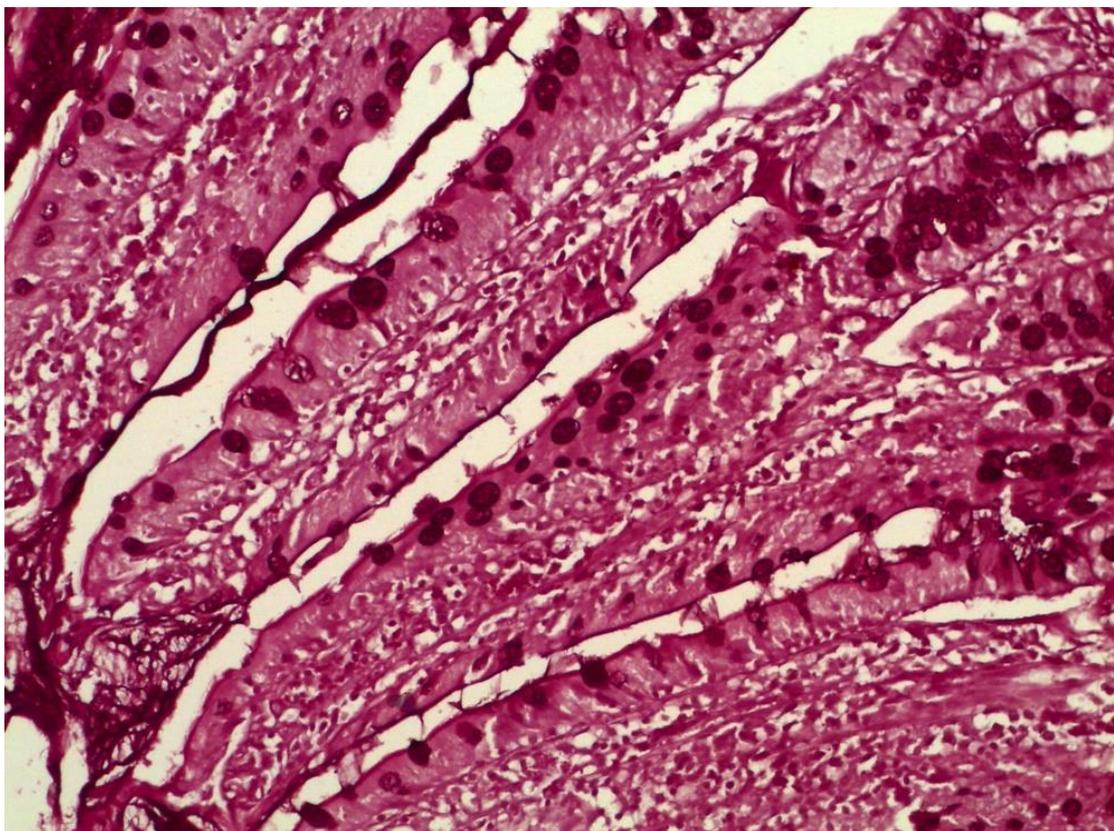


Рисунок 5.7 – Влияние лимфостимулирующего пептида-171 в концентрации 40 мкг/кг на восстановление гликокаликса всасывающего эпителия кишечных ворсин на 7-е сутки после резекции и создания кишечного анастомоза. Отсутствие отека собственной пластинки слизистой оболочки. РАС-реакция. Увеличение x200.

На поперечных срезах ТК четко различимы мышечные слои: широкий внутренний с регулярно расположенными гладкомышечными клетками, разобщенными единичными полнокровными капиллярами, и миоциты наружного слоя без признаков межклеточного отека с хорошо различимыми комплексами межмышечных ганглиозных клеток (рис. 5.8). В жировой ткани брыжеечного края кишки имеются умеренно полнокровные венулы и артериолы с хорошо различимыми разными по диаметру лимфатическими

капиллярами, содержащими лимфу с примесью лимфоцитов в нерасширенном просвете (рис. 5.9).

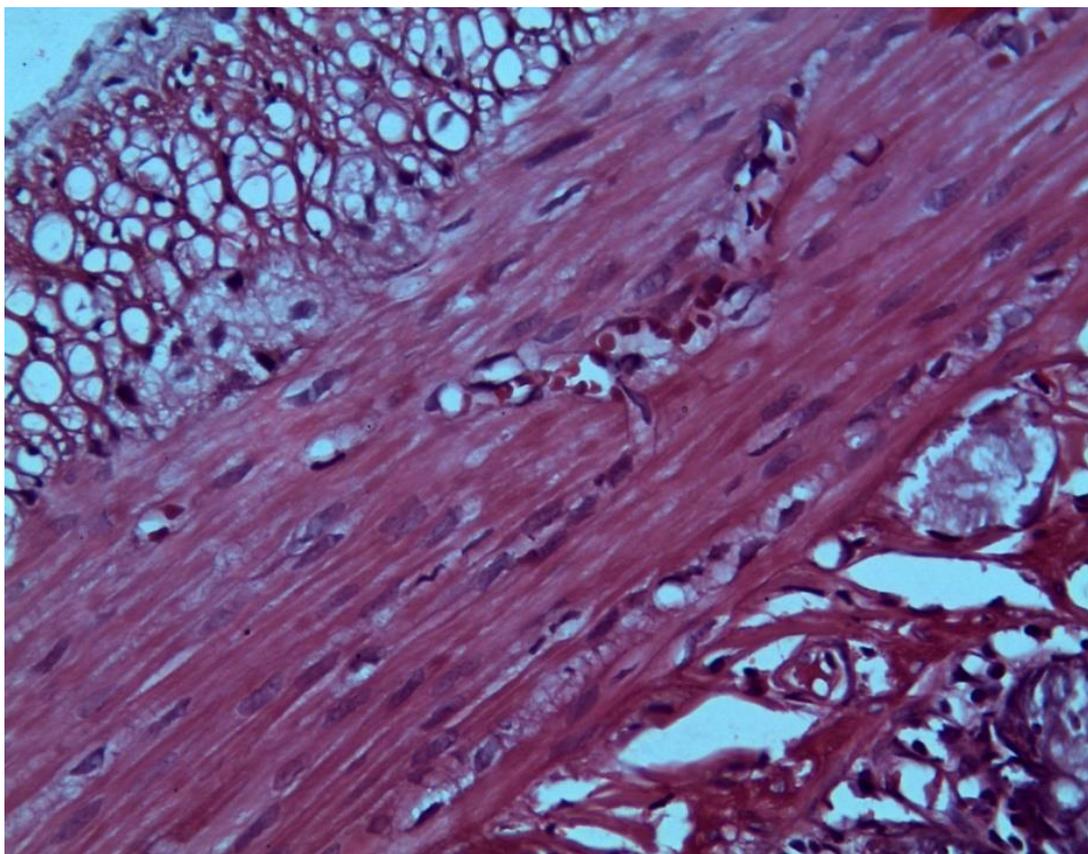


Рисунок 5.8 – Влияние лимфостимулирующего пептида-171 при местном применении в концентрации 40 мкг/кг на восстановление внутреннего мышечного слоя кишки крысы на 7-е сутки после резекции и создания анастомоза. Четкая структура гладкомышечных клеток внутреннего мышечного слоя ТК с полнокровием капилляров и различными лимфатическими микрососудами в подслизистой основе.

Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x400.

Таким образом, в опытной группе на 7-е сутки после устранения обтурационной кишечной непроходимости и применения лимфостимулирующего пептида морфологически четко прослеживается (табл. 8) восстановление нарушенного кровообращения и лимфообращения в стенке ТК с восстановлением лимфодренажа, регресс интерстициального отека, структурных повреждений всасывающего эпителия и

гладкомышечных клеток мышечных слоев, ответственных за сократительную функцию и моторику кишечника.

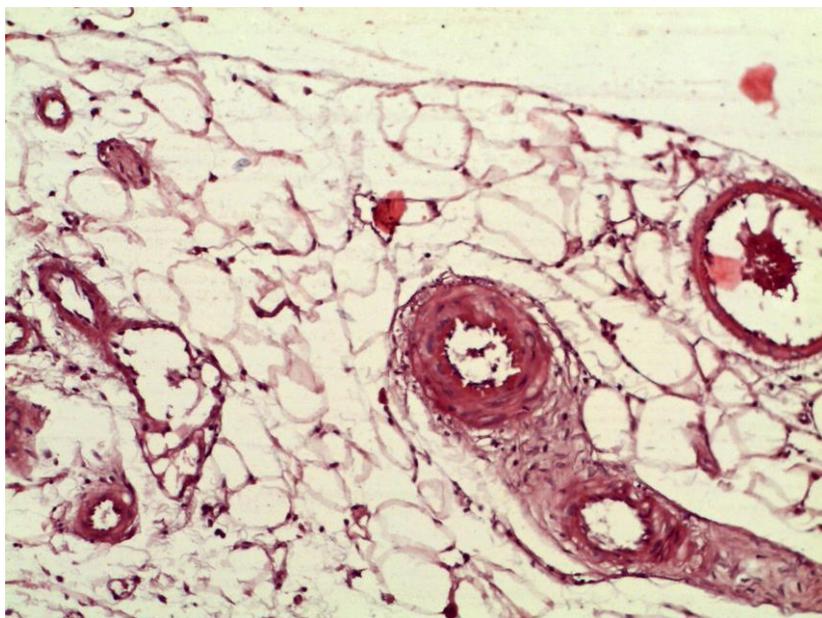


Рисунок 5.9 – Влияние лимфостимулирующего пептида на восстановление структуры жировой ткани брыжеечного края кишки крысы на 7-е сутки после резекции и создания анастомоза.

Умеренное полнокровие венул, лимфатические микрососуды без дилатации просвета. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x200.

Использование лимфостимулирующего пептида при полостных операциях на кишечнике позволяет существенно ускорить восстановление структуры и функции органа благодаря улучшению микроциркуляции, реализующей трофическое обеспечение стенки кишки, и снизить послеоперационную летальность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как известно, кишечная непроходимость является серьезным осложнением различных заболеваний органов брюшной полости и сердечно-сосудистой системы. Выделяют большое количество предрасполагающих факторов КН, которые могут быть врожденными (удлинение участков кишки, аномалии развития) и приобретенными. Наиболее частыми приобретенными факторами являются: спаечный процесс после воспалительных заболеваний брюшной полости или перенесенной операции, различного рода опухоли, грыжи передней брюшной стенки и др. [4]. Следует отметить, что с увеличением продолжительности жизни населения растет число заболеваний кишечника, сопровождающихся развитием острой кишечной непроходимости.

По данным научной литературы, летальность при острой кишечной непроходимости остается высокой и зависит в первую очередь от времени с момента начала заболевания и от вида КН. При декомпенсированной КН прогноз, как правило, неблагоприятный. Несмотря на существование различных причин КН универсальным звеном патогенеза является нарушение микроциркуляции стенки кишки, приводящее [11] к некрозу. Необратимые нарушения микроциркуляции стенки кишки возникают с 12 часов от момента начала заболевания и прогрессируют со временем. В этот период начинают накапливаться продукты эндогенной интоксикации. Развивается гиповолемия, что также ухудшает процессы микроциркуляции.

В случае механической КН основным методом лечения является хирургический, который заключается в устранении причины, вызвавшей КН, при необходимости резекцию нежизнеспособного участка кишечника с последующим восстановлением пассажа кишечного содержимого [5]. Наложение межкишечного анастомоза в условиях КН сопровождается высокой частотой его несостоятельности (несмотря на проводимую коррекцию водно-электролитных нарушений) и развитием вторичного

перитонита. Главная причина несостоятельности межкишечного анастомоза при КН – нарушения микроциркуляции в стенке кишки [6]. В связи с этим возникло предположение о возможности улучшения прогноза операции с помощью методов, улучшающих микроциркуляцию [7]. Несмотря на применяемые способы активации кровотока и улучшения реологических свойств крови процент осложнений и летальность остаются на высоком уровне [8].

На протяжении последних 35 лет в ФГБНУ «НИИ Общей патологии и патофизиологии» проводились экспериментальные исследования, показавшие возможность восстановления микрогемодициркуляции с помощью стимуляции лимфотока в микрососудах. В.К. Хугаевой в 1988 г. обнаружен новый вид регуляции лимфатических микрососудов – опиодергическая. Использование опиодных пептидов прямого действия при ишемии мозга, воспалении кожи и кардиогенном отеке легких [1, 2, 3] дали положительные результаты. Лимфостимуляторы прямого действия активируют сокращение стенки и клапана лимфатического микрососуда [2, 9]. При этом происходит активное дренирование лимфы в лимфатические узлы, что способствует дезинтоксикации. Микроциркуляторная сеть кишечной стенки богата лимфатическими сосудами. Их плотность обусловлена всасыванием питательных веществ из просвета кишечника [10]. Поэтому возникло предположение о возможности улучшения прогноза операции с помощью методов, улучшающих микроциркуляцию.

В этой связи нами была сформулирована цель настоящего исследования: экспериментальное обоснование адаптационной роли активатора микролимфоциркуляции (опиодного пептида-171 прямого действия) в комплексном хирургическом лечении острой кишечной непроходимости.

Эксперименты выполнены на белых беспородных крысах массой 90-260 г (48 самок, 268 самцов, всего 316 особей), полученных в виварии ФГБНУ «НИИОПП». За 12 часов до воспроизведения острой кишечной

непроходимости животных депривировали от пищи при сохранении свободного доступа к питьевой воде.

Каждая группа животных включала не менее шести голов; но при этом, во избежание необоснованно высоких затрат лабораторных животных, их максимальное количество в группе не превышало 10 особей. Вместе с тем, поскольку животные групп 8 и 9 выводились из эксперимента в разные сроки, фрагменты брыжейки и кишечной стенки были необходимы для проведения морфологических исследований и микроциркуляции, общая численность групп составила соответственно 63 и 67 животных (с соблюдением вышеописанного принципа необходимости и достаточности).

Все инвазивные манипуляции, хирургические вмешательства, сопровождающиеся возникновением болевых ощущений, осуществляли под наркозом. Анестезиологическое пособие выполняли путем внутримышечного введения 8% раствора хлоралгидрата из расчета 0,6 гр/кг массы животного.

В качестве регулятора микроциркуляции, воздействующего на эндогенные системы опиоидергического контроля функций микрососудистого русла, использовали опиоидный пептид, агонист дельта-опиатных рецепторов, аналог лейэнкефалина и даларгина, синтезированный в лаборатории синтеза пептидов ФГБУ «НМИЦ Кардиологии» Минздрава России (структурная формула пептида: Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Glu, лабораторный шифр учреждения-разработчика – пептид-171). Пептид использовали местно интраоперационно, в виде аппликации на поверхность брыжейки и стенки ТК, содержащих лимфатические микрососуды, в концентрации 40,0 мкг/кг веса в 1,0 мл изотонического 0,9% раствора хлорида натрия.

В работе использовали различные модели ОКН у крыс с целью выявления наиболее тяжелых нарушений микроциркуляции и их последствий, которые сопровождались самой низкой выживаемостью животных. Избранные модели соответствовали наиболее часто встречаемым

в клинической практике формам поражения ТК (тромбоз сосудов брыжейки, дивертикулы кишки, спаечный процесс после травмы, сдавление просвета опухолью и др.), требующих обязательного и своевременного оперативного вмешательства в течение первых 24 часов после появления симптомов КН и перитонита.

В работе были использованы две группы контроля: первой внутрибрюшинно после проведения лапаротомии вводили пептид, растворенный в изотоническом растворе хлорида натрия в концентрации 40,0 мкг/кг веса в объеме 1 мл раствора (в качестве растворителя использовали изотонический 0,9% раствор хлорида натрия). Животные второй контрольной группы получали плацебо в виде пропорционального объема физиологического раствора, вводимого интраперитонеально. У животных первой группы после наркотизации проводили срединную лапаротомию с последующим ушиванием раны. Во второй группе дополнительно накладывали лигатуру на участок ТК, расположенный на расстоянии 5-7 см проксимальнее илеоцекального перехода. У животных третьей группы лигатуру накладывали на одну сегментарную брыжеечную артерию. Животным четвертой группы лигировали три артерии брыжейки. У животных третьей группы лигатуру накладывали на одну сегментарную брыжеечную артерию. Животным четвертой группы лигировали три артерии брыжейки. В пятой группе животных лигатура на одной артерии брыжейки сочеталась с перекрутом кишки. Имело место комплексное сочетание нарушения кровообращения на небольшом участке стенки ТК и проходимости ТК. В шестой группе интактную кишку пересекали с последующим созданием энтеро-энтероанастомоза (ЭЭА). В седьмой группе животных производили резекцию фрагмента неповрежденной кишки на протяжении 6-8 см с последующим наложением ЭЭА. Участок резекции кишки в других опытах соответствовал месту наложения лигатуры. В восьмой группе после лапаротомии накладывали лигатуру на стенку ТК с последующим ушиванием операционного отверстия.

Через 24 часа производили повторную лапаротомию под наркозом, резекцию поврежденного лигатурой участка кишки на расстоянии 3-4 см от лигатуры в проксимальном и дистальном направлениях. Девятая группа подвергали манипуляциям, аналогичным восьмой группе. Отличие заключалось в орошении поверхности анастомоза и прилежащих тканей лимфостимулирующим пептидом-171 (в концентрации 40 мкг/мл в 1 мл изотонического 0,9% раствора хлорида натрия) непосредственно перед ушиванием операционной раны.

В первой группе без наложения лигатуры на кишку не наблюдали гибели животных, что свидетельствовало, в первую очередь, о грамотной хирургической технике выполнения лапаротомии и удовлетворительных санитарно-гигиенических условиях проведения манипуляции и содержания крыс. Продолжительность жизни крыс групп 2-9 зависела от тяжести повреждения, площади нарушенного кровоснабжения стенки кишки, способности восстановления проходимости кишечного содержимого через 24 часа после моделирования ОКН и наложения ЭЭА. Полное прекращение пассажа в кишке при наложении лигатуры, перекрута кишки и нарушения кровоснабжения в стенке ТК после перевязки трех брыжеечных артерий вызывали гибель у 100% животных (группы № 2, 4, 5). При анализе времени гибели обращает на себя внимание то, что наиболее тяжелым повреждением, вызывающим гибель в течение первых суток, является механическая перевязка кишки. Окклюзия 1 брыжеечной артерии в сочетании со странгуляционным компонентом вызывала гибель крыс в среднем на 2,1 сутки после операции, что не имело статистической значимости при сравнении с животными 2-й группы. Субтотальная ишемия/некроз кишки, вызванные перевязкой 3 брыжеечных артерий, также сопровождался гибелью животных, однако в среднем время жизни крыс увеличивалось до 3,7 суток. Незначительное снижение кровоснабжения стенки ТК при перевязке одной брыжеечной артерии вызывало гибель 10% животных.

Поскольку модель с лигатурой стенки кишки в течение суток оказалась самой тяжелой среди моделей с минимальной выживаемостью животных, которым создавали межкишечный анастомоз, она была избрана в качестве контроля сравнения с предполагаемым более эффективным способом лечения КН. Все последующие результаты, связанные с применением пептида (группа № 9), сравнивали с данными группы № 8. Наибольший показатель выживаемости – 66% – был получен в группе № 9 за счет локального одноразового использования пептида-171 в концентрации 40,0 мкг/кг веса при завершении операции. Позитивный эффект локального воздействия синтетического пептида подчеркивается также и тем, что в процессе операции не использовали антибиотики и другие противомикробные и противовоспалительные лекарственные средства. Имел значение еще один факт улучшения прогноза выживаемости: удаление поврежденных тканей кишки около лигатуры способствует увеличению выживаемости с 0% до 43%. Следовательно, дополнительное устранение продуктов распада, создающих повышенный локальный уровень интоксикации вокруг лигатуры, устраняемый механически, эффективен.

Для определения возрастной зависимости между тяжестью воспроизведенной КН и выживаемостью животных в рамках настоящей работы в исследование брали крыс, находящихся в четырех возрастных группах: инфантильной, препубертатной, пубертатной и ранней половозрелой, обоих полов (по шесть крыс каждого пола в каждой группе). При анализе полученных результатов мы установили, что наиболее чувствительными к патологическому воздействию острой тонкокишечной непроходимости вне зависимости от половой принадлежности являются животные в инфантильный период жизни. Очевидно, подобные результаты являются следствием особенностей формирования ЖКТ в данный период, а также особенностей вскармливания крыс в указанном возрасте. Локальное воздействие пептида не оказывает модулирующего действия на последствия вмешательства по поводу КН.

В препубертатном возрасте установили мощное корригирующее влияние местного использования раствора пептида-171, позволившего достичь 100% и 83% выживаемости в группах самцов и самок соответственно. Возможно, полученные результаты могут быть связаны с формированием и созреванием эндогенной системы пептидергической регуляции функций ЖКТ у животных и, в частности, системы опиатный пептидов, что согласуется с имеющимися в научной литературе данными о данной системе. В пубертатном периоде самцы и самки по-разному переживали моделирование КН: так, в группе самок выживаемость превышала таковую в группе самцов. При этом нами отмечено положительное однонаправленное воздействие аппликации пептида-171 в обеих подгруппах. В половозрелом периоде местное применение пептида-171 у самок сопровождалось выживанием всех крыс, включенных в опытную группу, выживаемость в группе самцов была ниже – 83%, однако половые различия не достигали статистической значимости.

Поскольку половозрелый период у крыс также протекает стадийно, для изучения выживаемости животных с КН, в том числе при локальном воздействии пептидом-171, мы решили стратифицировать крыс в соответствии с их весом. Данный подход, с нашей точки зрения, вполне обоснован тем, что при прочих равных условиях одинаковый доступ к корму и воде, сопоставимый двигательный режим, сопровождаются устойчивой прибавкой веса крыс, являющейся в данном случае временной функцией. Динамика выживаемости животных, получавших пептид, резко отличается от результатов контрольной группы высоким уровнем выживаемости в каждой возрастной группе (в среднем по всем подгруппам больше на 32%). Более того, пептид максимально увеличивал выживаемость самых мелких животных (увеличение в 2,4 раза в первой подгруппе с массой 180-200 г). Минимальная выживаемость совпала так же, как и в контроле, с подгруппой массой 240 г. Однако предшествующая весовая подгруппа с массой 220-240 г отличалась 100% выживаемостью при использовании пептида. В группах

самок наблюдали некоторые отличительные особенности: наибольшая выживаемость животных регистрировалась в группах, соответствующих весу 180-200 и 220-240 г. У животных с этим же весом отмечали и максимальную эффективность местного использования опиоидного пептида с точки зрения его влияния на выживаемость крыс-самок. Возможным объяснением подобных различий между подгруппами самцов и самок может быть связь с фертильной функцией, обуславливающей расширение нормы реакции самок, в том числе и на повреждающие внешние воздействия [7].

Описанная возрастная динамика выживаемости имеет анатомо-физиологическое основание. Хорошо известно об интенсивном развитии лимфатической системы у новорожденных млекопитающих и человека. Ребенок при рождении имеет 2000 лимфатических узлов, взрослый человек – только 200. Естественная деградация лимфатической системы происходит одновременно с интенсивным развитием кровеносной системы. Увеличение числа и объема кровеносных микрососудов вызывает снижение гематокрита в микрососудах [7,8]. Поскольку максимальная плотность лимфатических микрососудов отмечается в раннем возрасте, исследованные крысы с минимальным возрастом имели максимальную плотность лимфатических сосудов, что способствовало большей эффективности лимфостимулирующего пептида при активации большого числа ЛМ.

Одним из важнейших процессов, участвующих в поддержании гомеостаза кишечной стенки, сохранении ее структурно-функциональной целостности является состояние микроциркуляции. Формирование острой кишечной непроходимости сопровождается первичными или вторичными микроциркуляторными нарушениями, во многом определяющими прогноз и исходы острой хирургической патологии. Все это делает оценку состояния микроциркуляторного бассейна не просто важной, но и необходимой как для суждения о глубине и тяжести повреждения органа, так и для прогнозирования течения заболевания.

На основе обобщения результатов измерения ПМ в первую минуту после повреждения ТК в зависимости от модели КН с последующим сравнительным анализом полученных результатов при КН по критериям степени снижения ПМ с частотой смертности этих животных позволил разделить все виды экспериментальной КН на три варианта взаимной зависимости. Применяв метод отношения шансов, мы установили, что первый вариант (группы 3, 6, 7) отличался низкой смертностью, не превышающей 10% при минимальном снижении ПМ в начале КН. Второй вариант реакции микрососудов почти в два раза превышал снижение ПМ, а летальность животных в группах 2, 4, 5, 8 росла в 5-10 раз по сравнению с первым групповым вариантом. Третий вариант, включавший только одну, 9-ю группу, животные которой получали местное воздействие пептидом-171 с лимфостимулирующей активностью, занимала промежуточное место между первым и вторым вариантами реакции как по снижению ПМ, так и по показателю смертности животных. При этом динамика ПМ во всех группах до момента введения пептида 9-й группе была одинаковой. Таким образом, определяющим фактором, обуславливающим увеличение выживаемости животных, является позитивное влияние местной аппликации пептида-171 на область брыжейки поврежденного фрагмента кишки, улучшение и восстановление микроциркуляции. В этой связи можно заключить, что стимуляция лимфотока способна восстанавливать нарушенную микроциркуляцию не только в лимфатических, но и в кровеносных микрососудах. Причем нами не было установлено возрастно-весовых различий по данному показателю.

При проведении биомикроскопии брыжейки и поврежденных отделов ТК нами было обнаружено снижение полнокровия и застоя в венулах и мелких венах. В большей степени застой и полнокровие снижались у животных, получавших лимфостимулирующий пептид (на 10% и более). В наших экспериментах небольшая доза пептида-171 (40 мкг/мл) оказывала регулирующее венотоническое действие на сосудистую венозную сеть

брыжейки, сохраняющееся на протяжении 7-ми суток, препятствуя развитию венозного полнокровия и застойных явлений, которые вызывают нарушения микроциркуляции в венозном и позже в артериальном русле в послеоперационном периоде. Рассуждая о возможных механизмах формирования венотонического эффекта опиоидного пептида, можно предположить, что он может быть как следствием прямого активирующего влияния пептида на дельта-опиатные рецепторы ГМК сосудистой венозной стенки, так и обусловлен опосредованной активацией подслизистых и брыжеечных нервных образований симпатической нервной системы, оказывающих длительное активирующее влияние на циркулярно ориентированные гладкомышечные структуры венул. Кроме того, нами также было установлено, что локальная аппликация опиатного пептида приводит к повышению количества и активности лимфатических сосудов брыжейки при сравнении с животными группы № 8, не получавшими пептид.

Для оценки влияния стимуляции эндогенной пептидергической системы сосудистых и нервных элементов брыжейки поврежденного отдела кишечника на восстановление структуры и функций межкишечного анастомоза использовали микроскопическое исследование. На 7-е сутки после устранения кишечной непроходимости морфологически остаются признаки острых сосудистых изменений в микроциркуляторном русле кровеносных и лимфатических сосудов, кишечной стенки, а также интерстициальный отек всех слоев стенки кишки с нарушением дренажной функции лимфатических сосудов. Структурные изменения всасывающего эпителия мышечных ворсин с истончением щеточной каемки клеток и гиперфункцией слизистых (бокаловидных) клеток указывают на возможное замедление всасывательной функции кишечного эпителия и пристеночного пищеварения. Отек мышечных слоев стенки кишки с очаговыми повреждениями миоцитов (миоцитоллизис) обуславливают нарушение сократительной способности, приводящие к дилатации просвета кишки. В опытной (9-й) группе на 7-е сутки после устранения обтурационной

кишечной непроходимости и применения лимфостимулирующего пептида морфологически четко прослеживается восстановление нарушенного кровообращения и лимфообращения в стенке ТК с восстановлением лимфодренажа, регресс интерстициального отека, структурных повреждений всасывающего эпителия и гладкомышечных клеток мышечных слоев, ответственных за сократительную функцию и моторику кишечника.

ИТОГИ ВЫПОЛНЕНИЯ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования выживаемости животных разных возрастно-половых групп с различными формами острой кишечной непроходимости микроциркуляции, структурно-функционального состояния венозного и лимфатического бассейнов брыжейки, вовлеченных в формирование острого патологического процесса отделов ТК, а также установленные местные эффекты опиоидного пептида-171, позволили пролить свет на местные регуляторные механизмы, направленное воздействие на которые способно эффективно повышать адаптационные возможности организма при формировании острой кишечной непроходимости. Так, мы установили, что развитие ОКН сопровождается ростом экспериментальной летальности, редукцией микроциркуляции, застойными явлениями в венулах, снижением активности лимфодренажа за счет подавления активности лимфатических микрососудов. Перфузия брыжейки пораженного отдела кишки раствором пептида-171 в концентрации 40 мкг/кг приводит к формированию немедленного и отсроченного эффектов, характеризующихся активацией микроциркуляции в отделах кишки, локализованных проксимальнее места повреждения, повышением тонуса венул и активацией ЛМ. Установленный эффект сохраняется до 7-ми суток после формирования острой патологии и, на основании результатов вычисления отношения шансов, обуславливает повышение выживаемости крыс с обтурационной ОКН и последующими резекцией пораженного отдела кишки и созданием энтеро-энтероанастомоза.

Использование лимфостимулирующего пептида при полостных операциях на кишечнике позволяет существенно ускорить восстановление структуры и функции органа благодаря улучшению микроциркуляции, реализующей трофическое обеспечение стенки кишки, и снизить послеоперационную летальность.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные нами на стыке двух специальностей результаты открывают широкие горизонты для последующих исследований. Изучение роли пептидергической регуляции структурно-функциональной организации кишечника в аспекте формирования острой хирургической патологии, с нашей точки зрения, должно развиваться в двух ключевых направлениях. Первое может быть посвящено более глубокому изучению молекулярно-биологических механизмов вовлечения пептидергической сигнализации в регуляцию сосудистого тонуса, осуществления трофической, адаптационной и регенеративной функций на уровне кишечника. Второе – прикладное направление – должно быть связано с областью практического применения необезболивающих эффектов стимуляции и/или ингибирования периферических опиатных рецепторов. Как показывают полученные нами результаты, однократное топическое воздействие синтетическим агонистом позволило существенно улучшить результаты хирургического лечения острой патологии, значительно снизить летальность, по сути – определить исход оперативного вмешательства. Перспективным здесь может быть создание новых молекул, а также лекарственных форм на основе существующих, расширение показаний и противопоказаний для их использования в рамках комплексного лечения в абдоминальной хирургии

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Перевязка тонкой кишки с последующей резекцией поврежденного участка и наложением межкишечного анастомоза может быть использована как соответствующая условиям реальной клинической практики экспериментальная модель острой хирургической патологии для исследования местных и системных патологических процессов, обусловленных формированием КН.

2. Регистрация микроциркуляторных нарушений в участке кишки, расположенным проксимальнее места ее обтурации, методом лазерной доплеровской флоуметрии в сочетании с учетом экспериментальной летальности может быть использована в качестве метода оценки эффективности методов хирургического лечения КН при доклинической разработке новых оперативных подходов лечения данного заболевания.

3. Местные эффекты активации и подавления опиоидной пептидергической системы регуляции функций кишечника могут быть использованы для патофизиологического обоснования возможного применения агонистов и антагонистов системы в комплексном лечении острой кишечной непроходимости.

ВЫВОДЫ

1. Анализ зависимости выживаемости крыс при ТКН от тяжести воспроизводимой патологии (количество перевязанных брыжеечных артерий, комплексное воздействие на сосуды и кишку), наличия последующего оперативного вмешательства (резекция поврежденных тканей с наложением энтероэнтеро анастомоза) и возраста (пола) животных позволил разработать оптимальную экспериментальную модель острой кишечной непроходимости с самой высокой (57%), но не абсолютной летальностью животных. Наибольшей выживаемостью обладали животные наименьшего возраста (массы).

2. Исследование микроциркуляции в стенке ТК методом лазерной доплеровской флоуметрии позволило установить наличие однонаправленной динамики показателя микроциркуляции (ПМ) при ТКН вне зависимости от возраста и массы животных. Степень снижения ПМ на первой минуте после перевязки ТК позволяет прогнозировать последующую летальность животных: незначительное снижение ПМ на 22–45% вызывает гибель не более 10% крыс (M=6.7%); снижение ПМ на 46–75% вызывает гибель 70–100% крыс (M=89%).

3. Биомикроскопия стенки ТК у выживших животных с КН на 7-й день после операции (8-я группа, контроль) позволила выявить нарушения микроциркуляции в мелких венах и венулах (замедление скорости кровотока, венозное полнокровие, расширение венул), а также расширение лимфатических микрососудов (ЛМ). Однократное орошение операционного поля в области наложения межкишечного анастомоза небольшой дозой лимфостимулятора прямого действия пептидной природы (40,0 мкг/кг в 1,0 мл) способствовало на 7-е сутки после операции восстановлению микроциркуляции в кровеносных и лимфатических сосудах, снижению полнокровия и диаметра венул на 25% (в контроле на 15%), активации всех

исследованных ЛМ, увеличению на 28% их сократительной активности по сравнению с контролем.

4. При морфологическом изучении стенки ТК у выживших животных с КН на 7-е сутки после операции (8-я группа, контроль) остаются признаки острых сосудистых изменений в микроциркуляторном русле кровеносных и лимфатических сосудов кишечной стенки, интерстициальный отек, нарушение структуры всех слоев стенки кишки, дренажной функции лимфатических сосудов, дилатации просвета кишки. Применение пептида по результатам морфологического исследования на 7-е сутки после операции свидетельствуют не только об улучшении, но и о восстановлении нарушенного кровообращения и лимфообращения в стенке ТК, восстановлении лимфодренажа, регресса интерстициального отека, структурных повреждений всасывающего эпителия и гладкомышечных клеток мышечных слоев, ответственных за сократительную функцию и моторику кишечника.

5. Использование лимфостимулирующего пептида при ТКН по данным биомикроскопии, ЛДФ, морфологического исследования свидетельствует о его высокой эффективности, которая увеличивает выживаемость на 23% по сравнению с контролем (летальность 57%). У молодых животных, обладающих хорошо развитой лимфатической системой, пептид увеличивает выживаемость в среднем на 42%.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

КН – кишечная непроходимость

ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия

ЛПС – липополисахариды

ЛМ – лимфатические микрососуды

МА – молекулы адгезии

МЦ – микроциркуляция

ОКН – острая кишечная непроходимость

ОП – опиоидные пептиды

ОР – опиоидные рецепторы

ОТКН – острая тонкокишечная непроходимость

ПМ – показатель микроциркуляции

СА – сократительная активность

ТК – тонкая кишка

ТКН – тонкокишечная непроходимость

ЭМ – эндоморфин

ЭЭА – энтеро-энтероанастомоз

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хасанов, А.Г. Хирургическая тактика при острой обтурационной кишечной непроходимости / А.Г. Хасанов, И.Ф. Суфияров, И.Х. Ахметов // Клиническая и экспериментальная хирургия. Электронный научно-практический журнал. – 2011. – № 2. – С.64-72.
2. Морфофункциональная оценка ТК при механической непроходимости кишечника / Ю.М. Галеев, Ю.Б. Лишманов, К.А. Апарцин и др. // Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. – 2008. – Т.18. – № 5. – С.45-53
3. Воробей, А.В. Оценка факторов, влияющих на результаты резекций ТК, у больных с тонкокишечной непроходимостью / А.В. Воробей, А.Ч. Шулейко, Г.Я. Хулуп // Новости хирургии. – 2008. – Т.16. – № 2. – С.22-33.
4. Меньков, А.В. Острая кишечная непроходимость неопухолевого генеза: современное состояние проблемы / А.В. Меньков, С.В. Гаврилов // Современные технологии в медицине. – 2013. – Т.5. – № 3. – С. 109-115.
5. Гринев, М.В. Клинические эквиваленты патогенетически обусловленных нарушений микроциркуляторного русла при критических состояниях в неотложной хирургии / М.В. Гринев, К.М. Гринев // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2009. – Т.8. 4(32). – С. 35-40.
6. История и перспективы развития классификационных подходов при кишечной непроходимости/ Е.Е. Ачкасов, М.Г. Негребов, Л.В. Александров и др. // Сборник научных трудов по материалам международной заочной научно-практической конференции актуальные направления научных исследований XXI века: теория и практика. – 2013. – № 1. – С.12-15.
7. Опиоидергическая регуляция микролимфоциркуляции в норме и при ишемии / Хугаева Валентина Каргоевна: Дис.... д-ра мед.наук 14.03.03. – Москва, 1993 г. – 309 с.
8. Коррекция нарушений микроциркуляции при остром отеке легкого методом стимуляции лимфотока с помощью опиоидного пептида / Султанов Делюс Вилевич: Дис.... кан. мед. наук 14.03.03. – Москва, 2015 г. – 133 с.

9. Седов, В.М. Микроциркуляторный кровоток в кишечной стенке при острой кишечной непроходимости / В.М. Седов, Д.А. Смирнов // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2002. – Т.1. – № 2. – С.50-56.
10. Острая спаечная кишечная непроходимость. Диагностика и лечение / Андрейцев Илья Леонидович: дис... кан. мед. наук 14.00.27. – Москва, 2005 г. – 257 с.
11. Пути улучшения результатов лечения острой спаечной тонкокишечной непроходимости / Ларичев Сергей Евгеньевич: автореферат... доктора медицинских наук. – 2013. – 47 с.
12. Абдоминальная хирургия: Нац. Руководство, краткое изд. / под ред. И.И. Затевахина, А.И. Кириенко, В.А. Кубышкина. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 912 с.
13. Клинические рекомендации. Колопроктология / под ред. Ю.А. Шельгина. – М.: ГЭОТАР – Медиа. – 2015 – 528 с.: ил.
14. Петров, В.П. Кишечная непроходимость / В.П. Петров, И.А. Ерюхин // М.: Медицина. – 1989. – 448 с.
15. Colon cancer surgery in patients operated on an emergency basis. / Ramos RF, Dos-Reis LCS, Teixeira BEB et al. // Rev Col Bras Cir. 2017 Sep-Oct; 44(5). P. 465-470.
16. Современные подходы к профилактике спаечного процесса в брюшной полости / Н.И. Анюшинова, И.А. Шурыгина, М.Г. Шурыгин и др. // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – № 6. – С.16-20.
17. Сравнительный анализ влияния антиоксидантов на течение спаечного процесса в брюшной полости в условиях эксперимента / А.Н. Бадасян, А.А. Сысолятин, М.А. Штарберг и др. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2011. – № 41. – С.65-68.
18. Mucha, P. Jr. Small intestinal obstruction / P. Jr Mucha // Surg Clin North Am. – 1987. – 67(3). P. 597-620.

19. Silva, A.C. Small Bowel Obstruction: What to Look For / A.C. Silva, M. Pimenta, L.S. Guimaraes // *RadioGraphics*. – 2009. – Vol. 29, N 2. – P. 423–439.
20. Доброквашин, С.В. Результаты лечения и пути профилактики гнойно-септических осложнений у больных острой тонкокишечной непроходимостью / С.В. Доброквашин, Д.Е. Волков, А.Г. Измайлов // *Практическая медицина*. – 2013. – №2 (67). – С. 35-37.
21. Милюков, В.Е. Патогенез метаболических нарушений при динамической кишечной непроходимости (обзор литературы) / В.Е. Милюков, М.Р. Сапин // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* – 2006. – Т. 16, № 6. – С. 70-72.
22. Ляхова, А.В. Пути профилактики послеоперационного спайкообразования брюшной полости / А.В. Ляхова // *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. – 2010. – Т.3. № 1. – С. 72-81.
23. Obstructing colonic cancer: failure and survival patterns over a ten-year follow-up after one-stage curative surgery / P.G. Carraro, M. Segala, B.M. Cesana, et al. // *Dis Colon Rectum*. – 2001. – 44 (2). – P. 243-50.
24. High tie versus low tie of the inferior mesenteric artery in colorectal cancer: a RCT is needed / Cirocchi R., Trastulli S., Farinella E., et al. // *Surg Oncol*. – 2012. – 21(3) P. 111-23.
25. Safety and efficacy of endoscopic colonic stenting as a bridge to surgery in the management of intestinal obstruction due to left colon and rectal cancer: a systematic review and meta-analysis / Cirocchi R., Farinella E., Trastulli S., et al. // *Surg Oncol*. – 2013. – 22(1). – P. 14-21.
26. Clinical studies of strangulating small bowel obstruction / K. Takeuchi, Y. Tsuzuki, T. Ando et al. // *Am. Surg*. – 2004. – Vol. 70, Issue 1. – P. 40-44.
27. Эволюция подходов к классификационным критериям кишечной непроходимости / М.Г. Негребов, Е.Е. Ачкасов, Л.В. Александров и др. / *Хирургическая практика*. – 2013. – № 1. – С. 24-29.
28. Defunctioning Ileostomy Is a Key Risk Factor for Small Bowel Obstruction After Colorectal Cancer Resection. / K. Eto , M. Kosuge , M. Ohkuma, R. Noaki et al. // *Anticancer Res*. – 2018. Mar. 38(3). – P. 1789-1795.

29. Evaluation and management of small-bowel obstruction: an Eastern Association for the Surgery of Trauma practice management guideline / A.A. Maung, D.C. Johnson, G.L. Piper et al. // *Trauma Acute Care Surg.* – 2012. – 73.(5)Suppl 4. – P. 362-9.
30. Хунафин, С.Н. Актуальные вопросы диагностики и лечения больных с острой непроходимостью кишечника / С.Н. Хунафин, И.Х. Гаттаров., Д.Р. Ахмеров // *Международный журнал экспериментального образования.* – 2012. – № 5. – С. 148-149.
31. Moran, B.J. Adhesion-related small bowel obstruction / B.J Moran // *Colorectal Dis.* – 2007. – 9 (Suppl 2). – P. 39-44.
32. Ермолов, А.С. Состояние неотложной помощи при острых хирургических заболеваниях органов брюшной полости в лечебно-профилактических учреждениях города Москвы и меры по ее совершенствованию / А.С. Ермолов // *Хирург.* – 2011. – 8. – с. 4-10.
33. Кришталь, Н.В. Механизмы нарушений метаболизма углеводов при изменениях кислотно-щелочного состояния / Н.В. Кришталь, Э.Г. Гареева // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 1993. – Т. 116. – № 9. – С. 248-249.
34. Adhesive postoperative small bowel obstruction: incidence and risk factors of recurrence after surgical treatment: a multicenter prospective study / J.J. Duron., N.J. Silva, S.T. du Montcel et al. – *Ann Surg.* – 2006. – 244. – P. 750-757.
35. Miller, G. Etiology of small bowel obstruction / Miller G., Boman J., Shrier I., Gordon P.H. // *Am J Surg.* Miller G., Boman J., Shrier I., Gordon P.H. 2000. Miller G., Boman J., Shrier I., Gordon P.H. 180(1). Miller G., Boman J., Shrier I., Gordon P.H. P. 33-36.
36. Bowel Obstruction and Ventral Hernia After Laparoscopic Versus Open Surgery for Rectal Cancer in A Randomized Trial (COLOR II). / Petersson J, Koedam TW, Bonjer HJ et al. // *Ann Surg.* – 2018. May 9.
37. Comparison of common risk stratification indices to predict outcomes among stage IV cancer patients with bowel obstruction undergoing surgery. / Bateni SB, Bold RJ, Meyers FJ. et al. // *J Surg Oncol.* – 2018 Mar. – 117(3). – P. 479-487.

38. Ашрафов, Р.А. Гистологические и гистохимические изменения ТК при перитоните / Р.А. Ашрафов, А.Э Лычкова // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 4. – С. 22-24.
39. Галеев, Ю.М. Методы исследования распространения бактериальных клеток / Ю.М. Галеев, М.В.Попов, О.В Салато // *Сибирский медицинский журнал*. – 2011. – № 3. – С.18-21.
40. Кочнев, О.С. Экстренная хирургия желудочно-кишечного тракта / О.С. Кочнев // *Издательство Казанского университета*. – 1984. – 288 с.
41. Рыбачков, В.В. Клинические аспекты острой кишечной непроходимости. Актуальные вопросы неотложной хирургии (клиника, диагностика и лечение острой кишечной непроходимости, закрытая травма живота) / Рыбачков В.В., Майоров М.И., Моканов О.А. // *Современные проблемы науки и образования*. – 2011. – № 5. – С. 35-37.
42. Guidelines for management of small bowel obstruction / Diaz J.J. Jr, Bokhari F., Mowery N.T., Acosta J.A., Block E.F., Bromberg W.J., Collier B.R., Cullinane D.C., Dwyer K.M., Griffen M.M., Mayberry J.C., Jerome R. // *J Trauma*. – 2008. – 64(6). – P. 1651-64.
43. Савельев, В.С. Руководство по неотложной хирургии органов брюшной полости / В.С. Савельев // 2006. – 218 с., ил.
44. Гостищев, В.К. Перитонит / Гостищев В.К., Сажин В.П., Авдовенко А.Л. // *М.: ГЭОТАР-Медиа*. – 2002. – 238 с.
45. Профилактика и лечение гепаторенального синдрома при острой кишечной непроходимости / Дибиров М.Д., Костюченко М.В., Юанов А.А. и др. // *Хирургия*. – 2010. № 8. – С. 33-37.
46. Van Goor, H. Consequences and complications of peritoneal adhesions / Van Goor, H // *Colorectal Dis*. – 2007. – 9(Suppl 2). – P. 25-34.
47. Case of Jejunal Ectopic Pancreatic Cancer with Small Bowel Obstruction. / Yogi N, Kaiho T, Yanagisawa S, Kataoka M et al. // *Gan To Kagaku Ryoho* – 2017. Nov;44(12). – P. 1829-1831.
48. Бахтин, В.А. Профилактика и лечение острой послеоперационной печеночной недостаточности при резекции цирротически измененной печени

- / Бахтин В.А., Янченко В.А., Кучеров А.А. // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 3. – С. 61-70.
49. Гальперин, Э.И. Раннее восстановление функции и усиление регенерации печени и некоторых других органов (экспериментальное исследование / Гальперин Э.И. // Анналы хирургической гепатологии. – 2006. – Т.11. – № 2. – С.26-33.
50. Думанский, Ю.В. Симпозиум «Острая печеночная недостаточность» / Думанский Ю.В., Кабанова Н.В., Верхулецкий И.Е. // Медицина неотложных состояний. – 2012. – №6 (45). – С. 85-95.
51. Прогнозирование летальности при острой печеночной недостаточности / Еремеева Л.Ф., Бердников А.П., Мусаева Т.С и др. / Анестезиология и реаниматология. – 2013. – № 6. – С. 14-16.
52. Николаев, А.Ю. Острая почечно-печеночная недостаточность: этиология, патогенез и заместительная терапия / Николаев А.Ю. // Эффективная фармакотерапия. – 2013 – № 46. – С. 22-24.
53. Плеханов, А.Н. Современные подходы к диагностике и лечению печеночной недостаточности / Плеханов А.Н., Товаршинов А.И. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2016. – Т.1. – №4. – С.150-159.
54. Некоторые вопросы диагностики странгуляционной непроходимости / Медоев В.В., Тотиков В.З., Тотиков З.В. и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – №3 (138). – С. 90-92.
55. Чернов, В.Н. Комплексная коррекция макрофагальной печеночной недостаточности и эндотоксикоза при распространенном перитоните / Чернов В.Н., Ефанов С.Ю. // Известия Южного федерального университета. Технические науки. – 2009. Чернов В.Н., Ефанов С.Ю. Т. 98. – № 9. – С. 190-195.
56. Чернов, В.Н. К вопросу о патогенезе абдоминального сепсиса / Чернов В.Н., Мареев Д.В. // Медицинский вестник северного кавказа. – 2010. – № 4. – С. 20-23.

57. Чернов В.Н. Очаги внедрения инфекции и печеночная недостаточность при распространенной абдоминальной инфекции // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – № 3. – С. 135-138.
58. Клиническая эффективность внутрибрюшной имплантации противоспаечного средства «МЕЗОГЕЛЬ» / Суковатых Б.С., Бежин А.И., Липатов В.А. и др. // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. 17. – №. 3. – С.16-18.
59. Острая кишечная непроходимость опухолевой природы / Клинические рекомендации. Ассоциация колопроктологов России. Ассоциация онкологов России. Российское общество хирургов. – Москва. – 2014. – 29 с.
60. Obstructing carcinomas of the colon / Serpell J.W., McDermott F.T., Katrivessis H, et al. // Br J Surg. – 1989. – 76(9) P. 965-969.
61. Umpleby, H.C. Survival in acute obstructing colorectal carcinoma / Umpleby H.C., Williamson R.C. // Dis Colon Rectum. – 1984. – 27(5). – P. 299-304.
62. Palliative management for patients with subacute obstruction and stage IV unresectable rectosigmoid cancer: colostomy versus endoscopic stenting: final results of a prospective randomized trial / Fiori E., Lamazza A., Schillaci A., et al. // Am J Surg. – 2012. – 204(3). – P. 321-6.
63. Choice of intravenous antibiotic prophylaxis for colorectal surgery does matter / Deierhoi R.J., Dawes L.G., Vick C., et al. // J Am Coll Surg. – 2013. – 217 (5). P. 763-769.
64. Effects of age after laparoscopic right colectomy for cancer: Are there any specific outcomes? / Denet C, Fuks D, Cocco F et al. // Dig Liver Dis. – 2017. – May;49(5). – P. 562-567.
65. Effects of age after laparoscopic right colectomy for cancer: Are there any specific outcomes? / Denet C, Fuks D, Cocco F et al. // Dig Liver Dis. – 2017 May;49(5). – P. 562-567.
66. Park J., Charles H.W. Intra-abdominal abscess drainage: interval to surgery / Park J., Charles H.W. / Semin Intervent Radiol. – 2012. – 29(4). – P. 311-3.
67. Venous thromboembolism prophylaxis and treatment in patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update / Lyman

G.H., Khorana A.A., Kuderer N.M., et al. // *J Clin Oncol.* – 2013. – 31(17). – P. 2189-2204.

68. Hartmann's procedure for obstructive carcinoma of the left colon and rectum: a comparative study with one-stage surgery / Duran Gimenez-Rico H., Abril Vega C., Herreros Rodriguez J., et al. // *Clin Transl Oncol.* – 2005. – 7(7). – P. 306-313.

69. Мартынюк, В.В. Рак толстой кишки: Заболеваемость, смертность, факторы риска, скрининг // *Практическая онкология* /под ред. С.А. Тюляндина, В.М. Моисеенко. С.-Пб.: Центр ТОММ. – 2004. – № 1. – С. 151-161.

70. Analysis of 230 cases of emergent surgery for obstructing colon cancer-lessons learned / Aslar A.K., Ozdemir S., Mahmoudi H., et al. // *J Gastrointest Surg.* – 2011. – 15(1). – P.110-9.

71. The management of malignant large bowel obstruction: ACPGBI position statement / Finan P.J., Campbell S., Verma R., et al. // *Colorectal Dis.* – 2007. – 9(4). – P. 1-17.

72. Laparoscopic Hartmann's procedure for fecal peritonitis resulting from perforation of the left-sided colon in elderly and severely ill patients / Uematsu D., Akiyama G., Magishi A., et al. // *Tech Coloproctol.* – 2012. – 16(3). – P. 243-6.

73. Population-based audit of colorectal cancer management in two UK health regions. Colorectal Cancer Working Group, Royal College of Surgeons of England Clinical Epidemiology and Audit Unit / Mella J., Biffin A., Radcliffe A.G., et al. // *Br J Surg.* — 1997. — 84(12). P. 1731-1736.

74. Мидленко, В.И. Применение ретроплевральной блокады в лечении острой спаечной кишечной непроходимости / Мидленко В.И., Кожевников В.В. // *Мидленко В.И., Кожевников В.В. / Медицинский альманах.* – 2011. – № 2. – С. 91-93.

75. Салато, О.В. Исследование транслокаций бактерий при механической непроходимости кишечника / Салато О.В. // *Бюллетень восточно-сибирского научного центра СО РАМН.* – 2008. – №4 (62). – С.76-79.

76. Мурадов, А.М. Фармакологическая коррекция свободнорадикальных нарушений и эндотоксикоза у больных с острой странгуляционной кишечной

непроходимостью в послеоперационном периоде / Мурадов А.М., Абдулмажитзода А., Абдуллоев Ф.М. // Научно-медицинский журнал «Вестник Авиценны». – 2012. – № 4. – С.62-65.

77. Загайнов, Е.А. Анализ причин послеоперационной летальности при острой кишечной непроходимости / Загайнов Е.А // Мат. Научн.-практ. конф. посвящ. 75-летию Респ. больницы. — Марийская респ. больница: Сб. научн. тр. – Йошкар-Ола. – 1994. – С.76-78.

78. Small intestinal obstruction due to the metastasis of intrahepatic cholangiocarcinoma: A case report. / Akiyama S, Nagahori M, Oooka S et al. // *Medicine (Baltimore)*. – 2018. — Mar;97(12). – P. 0190.

79. Биленко, М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения лечения) / Биленко М.В. // — М.: Медицина. – 1989. – 368 с.

80. Давыдов, Ю.А. Инфаркт кишечника и хроническая мезентериальная ишемия / Давыдов Ю.А// М.: Медицина. — 1997. – 208 с.

81. Роль внутрибрюшного давления в ургентной хирургии / Зубрицкий В.Ф., Забелин М.В., Крюков А.А. и др. // Материалы межд. науч.-практ. конф., посвящ. 300-летию ГКВГ им. Н.Н. Бурденко: Ведущий многопрофильный госпиталь страны: основные функции, достижения и направления развития. – М. – 2006. – С. 49

82. Синдром внутрибрюшной гипертензии у больных с деструктивными формами панкреатита / Зубрицкий В.Ф., Осипов И.С., Михопулос Т.А. и др. // *Хирургия*. – 2007. – № 1 – С. 29-32.

83. Особенности формирования энтеро-энтероанастомоза в условиях перитонита / Зубрицкий В.Ф., Осипов И.С., Шадриева Е.В. и др // *Хирургия*. – 2009. — № 12. – С. 25-28.

84. Кирячков, Ю.Ю. Системный регионарный транспорт кислорода: значение, возможности диагностики, интенсивная терапия / Кирячков Ю.Ю., Хмелевский Я.М. // *Вестник интенсивной терапии*. – 1999. — № 3. – С. 42-47.

85. Покровский, А.В. Острая мезентериальная непроходимость / Покровский А.В., Юдин В.И. // Клиническая ангиология: руководство. Т. 2. М.: Медицина. – 2004. – С. 626-645.
86. Савин, Ю.Н. Является ли внутрибрюшная гипертензия причиной полиорганной недостаточности при деструктивном панкреатите? / Савин Ю.Н., Зубрицкий В.Ф., Осипов И.С // Воен.-мед. журн. – 2006. – № 11 – С. 26-30.
87. Савельев, В.С. Острые нарушения мезентериального кровообращения. Инфаркт кишечника / Савельев В.С., Спиридонов В.И., Болдин Б.В // Руководство по неотложной хирургии. М.: Триада Х. – 2005. – С. 281-302.
88. Савельев, В.С. Хирургическое лечение перитонита. Инфекции в хирургии / Савельев В.С., Филимонов М.И., Ерюхин И.А // 2007. – № 2. – С. 7-10.
89. Синдром внутривисцеральной гипертензии в хирургической клинике / Тимербулатов В.М., Фаязов Р.Р., Тимербулатов Ш.В., Авзалетдинов А.М. // Вестник Российской АМН. – 2009. – № 2 – С. 10-12.
90. Хрипун А.И., Шурыгин С.Н., Миронков А.Б. и др. Программированные релапаротомии в лечении острой окклюзии верхней брыжеечной артерии. Хирургия. 2009. — № 12. — С. 34-37.
91. Чернов В.Н., Велик Б.М. Патогенез, клиническое течение и лечение острой непроходимости кишечника /Материалы IX Всероссийского съезда хирургов. — Волгоград, 2000. — С. 232-233.
92. Bower, T.C. Acute and chronic arterial mesenteric ischemia / Bower T.C // Hallet Jr.I.Wed. Comprehensive vascular and endovascular surgery. – Mosby. – 2004. — P. 285-292.
93. Diebel, L.N. Effect of increased intraabdominal pressure on mesenteric arterial and intestinal mucosal blood flow / Diebel L.N., Dulchavsky S.A., Wilson R.F. // J. Trauma. – 1992. – № 1. – P. 45-49.
94. Kaminsky, O. Does a second-look operation improve survival in patients with peritonitis due to acute mesenteric ischemia? A five-year retrospective experience /

- Kaminsky O., Yampolski I., Aranovich D. // *World.J.Surg.* – 2005 – vol. 29. — № 5. – P. 645-648.
95. Ko, Y.T. Small bowell obstruction sohographic evelytion / Ko Y.T., Jim J.H., Lee D.H. // *Radiology.* – 1993. – vol. 188. – № 3. – P. 649-653.
96. Kougiyas, P. Determinants of mortality and treatment outcome following surdical interventions for acute mesenteric ischemia / Kougiyas P., Lau D., El Sayed H.F. // *J.Vasc.Surg.* – 2007. – vol. 46. — № 3. – P. 467-474.
97. Kruse, J.A. Significance of blood lactate levels in critically ill patients with liver disease / Kruse J.A., Zaidi S.A., Carlson R.W. // *Am.J.Med.* – 1987. – vol. 83 – P. 77-82.
98. Yanar, H. Planned second-look laparoscopy in the management of acute mesenteric ischemia / Yanar H., Taviloglu K., Ertekin C. // *World.J. Gastroenterol.* – 2007. – vol. 13. — № 24. – P. 3350-3353.
99. Waxman, K. Sequential perioperative lactate determinations / Waxman K., Nolan L.S., Shoemaker W.C. // *Crit.Care.Med.* – 1982. – vol. 30. – P. 96-99.
100. Белова, Я.В. Механизмы развития патологических процессов в печени / Белова Я.В., Алтуфьев Ю.В. // *Естественные науки.* – 2009. — № 3. — С. 114-120.
101. Qalbani, A. Multidetector row CT of small bowel obstruction / Qalbani A., Paushter D., Dachman A.H. // *Radiol Clin North Am.* – 2007. – 45(3). – P. 499–512.
102. Zollner, C. Opioids / Zollner C, Stein C. // *Handb Exp Pharmacol.* – 2007. – 177. — P. 31–63.
103. Wood, J.D. Function of opioids in the enteric nervous system / Wood JD, Galligan JJ. // *Neurogastroenterol Motil.* – 2004. — 16(Suppl 2). — P. 17–28.
104. The opioid system in the gastrointestinal tract / Sternini C, Patierno S, Selmer IS, Kirchgessner A. // *Neurogastroenterol Motil.* – 2004. — 16(Suppl 2). – P. 3-16.
105. The involvement of the mu-opioid receptor in gastrointestinal pathophysiology: therapeutic opportunities for antagonism at this receptor /

- DeHaven-Hudkins DL, DeHaven RN, Little PJ, Techner LM. // *Pharmacol. Ther.* – 2008. – 117. – P. 162-87.
106. Localization and regulation of fluorescently labeled delta opioid receptor, expressed in enteric neurons of mice / Poole DP, Pelayo JC, Scherrer G, Evans CJ, Kieffer BL, Bunnett NW // *Gastro-enterology.* – 2011. – 141. — P. 982–91.
107. Systemic kappa opioid receptor agonists in the treatment of chronic pruritus: a literature review / Phan NQ, Lotts T, Antal A, Bernhard JD, Stander S. // *Acta DermVenereol.* – 2012. – 92. – P. 555-60.
108. Kurz, A. Opioid-induced bowel dysfunction: pathophysiology and potential new therapies / Kurz A, Sessler DI. // *Drugs.* – 2003. – 63. – P. 649-671.
109. Holzer, P. Opioids and opioid receptors in the enteric nervous system: from a problem in opioid analgesia to a possible new prokinetic therapy in humans / Holzer, P. // *Neurosci Lett.* – 2004. – 361. – P. 192–195.
110. Donnerer, J. Stimulus-evoked opioid inhibition in guinea-pig longitudinal muscle-myenteric plexus strip is modulated by NMDA receptors. / Donnerer J, Liebmann I. // *Neurosci Lett.* – 2007. – 419. – P. 74-7.
111. N-methyl-D-aspartate receptors mediate endogenous opioid release in enteric neurons after abdominal surgery / Patierno S, Zellalem W, Ho A, Parsons CG, Lloyd KC, Tonini M, et al. // *Gastroenterology.* – 2005. – 128. – P. 2009-2019.
112. Donnerer, J. Evidence for opioid-induced release of glutamate in guinea pig longitudinal muscle-myenteric plexus strip / Donnerer J, Liebmann I. // *Neurosci Lett.* – 2009. – 462. – P. 118-20.
113. Morphine leads to contraction of the ileal circular muscle via inhibition of the nitrenergic pathway in mice / Iwata H, Tsuchiya S, Nakamura T, Yano S. // *Eur J Pharmacol.* – 2007. – 574. – P. 66-70.
114. De, L.A. Insights into opioid action in the intestinal tract / De LA, Coupar IM. // *Pharmacol. Ther.* – 1996. — 69(2). – P. 103-15.
115. Opioid-induced bowel dysfunction: pathophysiology and management / Brock C, Olesen SS, Olesen AE, Frokjaer JB, Andresen T, Drewes AM // *Drugs.* — 2012. – 72. — P. 1847-1865.

116. Barrett, K.E. New insights into the pathogenesis of intestinal dysfunction: secretory diarrhea and cystic fibrosis / Barrett KE. // *World J Gastroenterol.* – 2000. – 6. — P. 470-474.
117. Barrett, K.E. Chloride secretion by the intestinal epithelium: molecular basis and regulatory aspects / Barrett KE, Keely SJ. // *Annu Rev Physiol.* — 2000. – 62. – P. 535-72.
118. Tonic GABAA receptor conductance in medial subnucleus of the tractus solitarius neurons is inhibited by activation of mu- opioid receptors / Herman MA, Gillis RA, Vicini S, Dretchen KL, Sahibzada N. // *J Neurophysiol.* – 2012. – 107. – P. 1022-1031.
119. Micro-Opioid receptor stimulation in the medial subnucleus of the tractus solitarius inhibits gastric tone and motility by reducing local GABA activity / Herman MA, Alayan A, Sahibzada N, Bayer B, Verbalis J, Dretchen KL, et al. // *Am J PhysiolGastrointestLiverPhysiol.* — 2010. – 299. – P. 494-506.
120. Holzer, P. Opioid receptors in the gastrointestinal tract / Holzer P. // *RegulPept.* — 2009. – 155. – P. 11-17.
121. Kromer, W. Endogenous and exogenous opioids in the control of gastrointestinal motility and secretion / Kromer W. // *Pharmacol Rev.* – 1988. – 40. – P. 121-62.
122. Panchal, S. J. Opioid-induced bowel dysfunction: prevalence, pathophysiology and burden / Panchal SJ, Muller-Schwefe P, Wurzelmann JI. // *Int J ClinPract.* – 2007. – 61. – P. 1181-1187.
123. Collins, S. The putative role of endogenous and exogenous opiates in inflammatory bowel disease. / Collins S, Verma-Gandhu M. // *Gut.* – 2006. – 55. –P. 756-7.
124. Met-enkephalins in patients with inflammatory bowel diseases / Owczarek D, Cibor D, Mach T, Ciesla A, Pierzchala-Koziec K, Salapa K, et al. // *Adv Med Sci.* — 2011. – 56. – P. 158-64.
125. The central versus peripheral antinociceptive effects of mu-opioid receptor agonists in the new model of rat visceral pain / Al-Khrasani M, Lacko E, Riba P, Kiraly K, Sobor M, Timar J, et al. // *BrainResBull.* – 2012. – 87. –P. 238-43.

126. Xu, G.Y. Electroacupuncture attenuates visceral hyperalgesia and inhibits the enhanced excitability of colon specific sensory neurons in a rat model of irritable bowel syndrome / Xu GY, Winston JH, Chen JD. // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2009. – 21. – P. 1302-1325.
127. Zadina, J.E. A potent and selective endogenous agonist for the mu-opiate receptor. / Zadina JE, Hackler L, Ge LJ, Kastin AJ. // *Nature.* – 1997. — 386. – P. 499-502.
128. Endomorphin-1 and -2, endogenous ligands for the mu-opioid receptor, inhibit striated and smooth muscle contraction in the rat oesophagus / Storr M, Geisler F, Neuhuber WL, Schusdziarra V, Allescher HD. // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2000. – 12. – P. 441–8.
129. Relationship between muscarinic autoinhibition and the inhibitory effect of morphine on acetylcholine release from myenteric plexus of guinea pig ileum / Nishiwaki H, Saitoh N, Nishio H, Takeuchi T, Hata F. // *Jpn J Pharmacol.* – 1998. – 77. – P. 77.
130. Inhibitory effect of endomorphin-1 and -2 on acetylcholine release from myenteric plexus of guinea pig ileum / Nishiwaki H, Saitoh N, Nishio H, Takeuchi T, Hata F. // *Jpn J Pharmacol.* – 1998. — 78. – P. 83–6.
131. In vitro characterization of the effects of endomorphin 1 and 2, endogenous ligands for mu-opioid receptors, on mouse colonic motility / Yu Y, Cui Y, Wang X, Lai LH, Wang CL, Fan YZ, et al. // *Biochem Pharmacol.* – 2007. – 73. – P. 1384–1393.
132. Azuma, Y. Endomorphin-2 modulates productions of TNF-alpha, IL-1beta, IL-10, and IL-12, and alters functions related to innate immune of macrophages. / Azuma Y, Ohura K. // *Inflammation.* – 2002. – 26. – P. 223–32.
133. Development of opioid peptide analogs for pain relief / Janecka A, Perlikowska R, Gach K, Wyrebska A, Fichna J. // *Curr Pharm Des.* – 2010. – 16. – P. 1126-1135.
134. Synthesis and biological evaluation of an orally active glycosylated endomorphin-1 / Varamini P., Mansfeld FM, Blanchfield JT, Wyse BD, Smith MT, Toth I. // *J Med Chem.* — 2012. – 55. – P. 5859-67.

135. Orally administered soymorphins, soy-derived opioid peptides, sup-press feeding and intestinal transit via gut mu(1)-receptor coupled to 5-HT(1A), D(2), and GABA(B) systems / Kaneko K, Iwasaki M, Yoshikawa M, Ohinata K. // *Am J Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* – 2010. – 299. – P. 799-805.
136. Chiba, H. Opioid antagonist peptides derived from kappa-casein / Chiba H, Tani F, Yoshikawa M. // *J Dairy Res.* – 1989. – 56. — P. 363-6.
137. Patten, G.S. Effects of casoxin 4 on morphine inhibition of small animal intestinal contractility and gut transit in the mouse / Patten GS, Head RJ, Abeywardena MY // *ClinExpGastroenterol.* – 2011. – P. 23-31.
138. Laugsand, E.A. Management of opioid- induced nausea and vomiting in cancer patients: systematic review and evidence-based recommendations / Laugsand EA, Kaasa S, Klepstad P. // *Palliat. Med.* – 2011. – 25. — P. 442-453.
139. Chen, W. Opiate-induced constipation related to activation of small intestine opioid mu2-receptors / Chen W, Chung HH, Cheng JT. // *World J Gastroenterol.* – 2012. – 18. – P. 1391-1396.
140. Kolls, J.K. Cytokine-mediated regulation of anti- microbial proteins / Kolls JK, McCray PB Jr, Chan YR // *NatRevImmunol.* – 2008. – 8. – P. 829-835.
141. Gallo, R.L. Epithelial antimicrobial defence of the skin and intestine / Gallo RL, Hooper LV. // *Nat Rev Immunol.* — 2012. — 12. – P. 503-516.
142. Selsted, M.E. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response / Selsted ME, Ouellette AJ. // *NatImmunol.* – 2005. – 6. – P. 551-557.
143. Zanetti, M. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity / Zanetti M. // *J Leukoc. Biol.* – 2004. — 75. – P. 39-48.
144. Functions of s100 proteins / Donato R, Cannon BR, Sorci G, Riuuzzi F, Hsu K, Weber DJ, et al. // *Curr.Mol. Med.* – 2013. – 13. – P. 24-57.
145. Bresnick, A.R. 100 proteins in cancer / Bresnick AR, Weber DJ, Zimmer DB. // *Nat Rev Cancer.* – 2015. – 15. – P. 96-109.
146. Rosenberg, H.F. Rnase a ribonucleases and host defense: an evolving story / Rosenberg HF. // *J Leukoc.Biol.* – 2008. – 83. – P. 1079-1087.
147. Antimicrobial RNAses in cutaneous defense / Simanski M, Koten B, Schroder JM, Glaser R, Harder J. // *J Innate Immun.* – 2012. — 4. – P. 241-7.

148. Santaolalla, R. Innate immunity in the small intestine / Santaolalla R, Abreu MT. // *Curr Opin Gastroenterol.* – 2012. – 28. – P. 124-9.
149. Royet, J. Peptidoglycan recognition proteins: modulators of the microbiome and inflammation / Royet J, Gupta D, Dziarski R. // *Nat. Rev. Immunol.* — 2011. – 11. – P. 837-51.
150. Zasloff, M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms / Zasloff M. // *Nature.* – 2002. – 415. – P. 389-95.
151. Wang, G. Human antimicrobial peptides and proteins / Wang G. // *Pharmaceuticals (Basel).* – 2014. – 7. – P. 545-94.
152. Identification and functional characterization of three chicken cathelicidins with potent antimicrobial activity / Xiao Y, Cai Y, Bommineni YR, Fernando SC, Prakash O, Gilliland SE, et al. // *J Biol.Chem.* – 2006. — 281. – P. 2858-2867.
153. Chicken cathelicidin-b1, an antimicrobial guardian at the mucosal m cell gateway / Goitsuka R, Chen CL, Benyon L, Asano Y, Kitamura D, Cooper MD. // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* — 2007. — 104. – P. 15063-15068.
154. Structure- activity relationships of fowlicidin-1, a cathelicidin antimicrobial peptide in chicken/ XiaoY, DaiH, BommineniYR, SoulagesJL, GongYX, PrakashO, et al. // *FEBS J.* – 2006. – 273. – P. 2581-2593.
155. Fowlicidin-3 is an alpha-helical cationic host defense peptide with potent antibacterial and lipopolysaccharide-neutralizing activities / Bommineni YR, Dai H, Gong YX, Soulages JL, Fernando SC, Desilva U, et al. // *FEBS J.* – 2007. – 274. – P. 418-448.
156. The central kink region of fowlicidin-2, an alpha-helical host defense peptide, is critically involved in bacterial killing and endotoxin neutralization / Xiao Y, Herrera AI, Bommineni YR, Soulages JL, Prakash O, Zhang G. // *J InnateImmun.* – 2009. — 1. – P. 268-280.
157. Van Dijk, A. Avian defensins / Van Dijk A, Veldhuizen EJ, Haagsman HP. // *Vet Immunol Immunopathol.* – 2008. –124. – P. 1-18.
158. Cuperus, T. Avian host defense pep- tides. / Cuperus T, Coorens M, Van Dijk A, Haagsman HP. // *Dev. Comp. Immunol.* – 2013. – 41. – P. 352-369.

159. Zhang, G. Avian antimicrobial host defense peptides: from biology to therapeutic applications / Zhang G, Sunkara LT. // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2014. – 7. – P. 220-247.
160. Brogden, K.A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? / Brogden KA. // *Nat.Rev.Microbiol.* – 2005. – 3. – P. 238-520.
161. Peschel, A. The co-evolution of host cationic antimicrobial peptides and microbial resistance / Peschel A, Sahl HG. // *Nat.Rev.Microbiol.* – 2006. — 4. – P. 529-356.
162. Antibacterial activity of human defensins on anaerobic intestinal bacterial species: a major role of hbd-3 / Nuding S., Zabel L.T., Enders C., Porter E., Fellermann K., Wehkamp J., et al. // *Microbes. Infect.* – 2009. – 11. – P. 384-93.
163. Hilchie, A.L. Immune modulation by multifaceted cationic host defense (antimicrobial) peptides / Hilchie AL, Wuerth K, Hancock RE. // *Nat. Chem. Biol.* — 2013. – 9. – P. 761-768.
164. Mansour SC, Pena OM, Hancock RE. Host defense peptides: front-line immunomodulators / Mansour SC, Pena OM, Hancock RE. // *Trends. Immunol.* – 2014. – 35. – P. 443-50.
165. The synthetic peptides bovine enteric beta-defensin (ebd), bovine neutrophil beta-defensin (bnbd) 9 and bnbd 3 are chemotactic for immature bovine dendritic cells / Mackenzie-Dyck S, Attah-Poku S, Juillard V, Babiuk LA, Van DrunenLittel-Van Den Hurk S. // *VetImmunol. Immunopathol.* – 2011. – 143. – P. 87-107.
166. Pr-39, a proline/ arginine-rich antimicrobial peptide, exerts cardioprotective effects in myo- cardiac ischemia-reperfusion / Ikeda Y, Young LH, Scalia R, Ross CR, Lefer AM. // *Cardiovasc. Res.* – 2001. – 49. – P. 69-77.
167. Pr-39, a proline-rich antibacterial peptide that inhibits phagocyte nadph oxidase activity by binding to src homology 3 domains of p47 phox / Shi J, Ross CR, Leto TL, Blecha F. // *Proc.Natl.Acad.Sci. U S A.* – 1996. – 93. — P. 6014-6018.
168. Syndecans, cell surface heparan sulfate proteoglycans, are induced by a proline-rich antimicrobial peptide from wounds / Gallo RL, Ono M, Povsic T, Page

- C, Eriksson E, Klagsbrun M, et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 1994. – 91. – P. 11035-11040.
169. Pr39, a peptide regulator of angiogenesis / Li J, Post M, Volk R, Gao Y, Li M, Metais C, et al. // *Nat. Med.* – 2000. – 6. – P. 49-55.
170. Porcine cathelicidins efficiently complex and deliver nucleic acids to plasmacytoid dendritic cells and can thereby mediate bacteria-induced ifn-alpha responses / Baumann A, Demoulin T, Python S, Summerfield A. // *J Immunol.* — 2014. — 193. – P. 364-71.
171. Corfield, A.P. Mucins: a biologically relevant glycan barrier in mucosal protection / A.P. Corfield *BiochimBiophys Acta.* – 2015. — 1850. – P. 236-52.
172. Mucins in the mucosal barrier to infection / Linden SK, Sutton P, Karlsson NG, Korolik V, McGuckin MA. *Mucosal Immunol.* – 2008. – 1. – P. 183-197.
173. Rose, M.C. Respiratory tract mucin genes and mucin glyco- proteins in health and disease / Rose MC, Voynow JA. // *Physiol. Rev.* – 2006. – 86. – P. 245-78.
174. Etzold, S. Structural insights into bacterial recognition of intestinal mucins / Etzold S, Juge N. // *Curr.Opin. Struct. Biol.* – 2014. – 28. – P. 23-31.
175. Hollingsworth, M.A. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface / Hollingsworth MA, Swanson BJ. // *Nat Rev Cancer.* – 2004. – 4. – P. 45-60.
176. Genome wide analysis of the bovine mucin genes and their gastrointestinal transcription profile / Hoorens PR, Rinaldi M, Li RW, Goddeeris B, Claerebout E, Vercruyse J, et al. // *BMC Genomics.* — 2011. — 12. – 140. – P. 55.
177. Expression of mucins in the mucosal surface of small intestines in 1 week-old pigs / Kim C.H., Oh Y., Ha Y., Ahn Q., Kim S.H., Cho K.D., et al. // *J Vet Med Sci.* – 2010. – 72. – P. 245-247.
178. Expression of mucins on the mucosal surface of lungs of 4-week-old pigs / Kim CH, Lee K, Han K, Oh Y, Kim D, Seo HW, et al. // *Vet. Res. Commun.* — 2011. — 35. – P. 255-260.
179. Lang, T. An inventory of mucin genes in the chicken genome shows that the mucin domain of Muc13 is encoded by multiple exons and that ovomucin is part of

a locus of related gel-forming mucins / Lang T, Hansson GC, Samuelsson T. // *BMC Genomics*. — 2006. — 7. — P. 197.

180. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that Muc2 is critical for colonic protection / Van Der Sluis M, De Koning BA, De Bruijn AC, Velcich A, Meijerink JP, Van Goudoever JB, et al. // *Gastroenterology*. — 2006. — 131. — P. 117-29.

181. Muc2 protects against lethal infectious colitis by disassociating pathogenic and commensal bacteria from the colonic mucosa / Bergstrom KS, Kisooson-Singh V, Gibson DL, Ma C, Montero M, Sham HP, et al. // *PLoS Pathog*. — 2010. — 6. — P. 1000-1102.

182. Muc1 cell surface mucin is a critical element of the mucosal barrier to infection / McAuley JL, Linden SK, Png CW, King RM, Pennington HL, Gendler SJ, et al. // *J Clin Invest*. — 2007. — 117. — P. 2313-2324.

183. Muc1 mucin limits both *Helicobacter pylori* colonization of the murine gastric mucosa and associated gastritis / McGuckin MA, Every AL, Skene CD, Linden SK, Chionh YT, Swierczak A, et al. // *Gastroenterology*. — 2007. — 133. — P. 1210-1218.

184. The mucin muc2 limits pathogen burdens and epithelial barrier dysfunction during *Salmonella enterica* serovar typhimurium colitis / Zarepour M, Bhullar K, Montero M, Ma C, Huang T, Velcich A, et al. // *Infect Immun*. — 2013. — 81. — P. 3672-3683.

185. Increased susceptibility to colitis and colorectal tumors in mice lacking core 3-derived O-glycans / An G, Wei B, Xia B, McDaniel JM, Ju T, Cummings RD, et al. // *J Exp. Med*. — 2007. — 204. — P. 1417-1429.

186. Abnormalities in mucin gene expression in Crohn's disease / Buisine MP, Desreumaux P, Debailleul V, Gambiez L, Geboes K, Ectors N, et al. // *Inflamm Bowel Dis*. — 1999. — 5. — P. 24-32.

187. Mucins in the gastrointestinal tract in health and disease / Corfield AP, Carroll D, Myerscough N, Probert CS. // *Front Biosci*. — 2001. — 6. — P. 1321-1357.

188. Peterson, L.W. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis / Peterson LW, Artis D. // *Nat Rev. Immunol.* — 2014. — 14. — P. 141-153.
189. Turner, J.R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease / Turner JR. // *Nat.Rev.Immunol.* — 2009. — 9. — P. 799-809.
190. Groschwitz, K.R. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis / Groschwitz KR, Hogan SP. // *J Allergy. Clin. Immunol.* — 2009. — 124. — P. 3-20.
191. Suzuki, T. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions / Suzuki T. // *Cell Mol. Life Sci.* — 2013. — 70. — P. 631-59.
192. Gunzel, D. Claudins and the modulation of tight junction permeability / Gunzel D, Yu AS. // *Physiol. Rev.* — 2013. — 93. — P. 525-69.
193. Furuse M, Hirase T, Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Tsukita S, et al. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol*(1993) 123:1777–88. doi:10.1083/jcb.123.6.1777.
194. Cummins PM. Occludin: one protein, many forms. *Mol Cell Biol*(2012) 32:242–50. doi:10.1128/MCB.06029-11.
195. Luissint, A.C. JAM-related proteins in mucosal homeostasis and inflammation / Luissint AC, Nusrat A, Parkos CA. // *Semin. Immunopathol.* — 2014. — 36. — P. 211-226.
196. Expression of tricellulin in epithelial cells and non-epithelial cells / Kojima T, Ninomiya T, Konno T, Kohno T, Taniguchi M, Sawada N. // *Histol. Histopathol.* — 2013. — 28. — P. 1383-1392.
197. Herve, J.C. Influence of the scaffolding protein zonula occludens (ZO) on membrane channels / Herve JC, Derangeon M, Sarrouilhe D, Bourmeyster N. // *Biochim.Biophys.Acta.* — 2014. — 1838. — P. 595-604.
198. Citi, S. Cingulin, paracingulin, and plekha7: signaling and cytoskeletal adaptors at the apical junctional complex / Citi S, Pulimeno P, Paschoud S. // *Ann N Y Acad.Sci.* — 2012. — 1257. — P. 125-132.

199. Crystal structure of a claudin provides insight into the architecture of tight junctions / Suzuki H, Nishizawa T, Tani K, Yamazaki Y, Tamura A, Ishitani R, et al. // *Science*. — 2014. — 344. — P. 304-307.
200. Model for the architecture of claudin-based paracellular ion channels through tight junctions / Suzuki H, Tani K, Tamura A, Tsukita S, Fujiyoshi Y. // *J Mol.Biol.* — 2015. — 427. — P. 291-297.
201. Cunningham, K. E. Myosin light chain kinase: pulling the strings of epithelial tight junction function / Cunningham KE, Turner JR. // *Ann N Y Acad.Sci.* — 2012. — 1258. — P. 34-42.
202. Clostridium perfringens enterotoxin fragment removes specific claudins from tight junction strands: evidence for direct involvement of claudins in tight junction barrier. / Sonoda N, Furuse M, Sasaki H, Yonemura S, Katahira J, Horiguchi Y, et al. // *J Cell Biol.* — 1999. — 147. — P. 195-204.
203. Early weaning increases intestinal permeability, alters expression of cytokine and tight junction proteins, and activates mitogen-activated protein kinases in pigs / Hu CH, Xiao K, Luan ZS, Song J. // *J Anim. Sci.* — 2013. — 91. — P. 1094-1101.
204. Antoni, L. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease / Antoni L, Nuding S, Wehkamp J, Stange EF. // *World J Gastroenterol.* — 2014. — 20. — P. 1165-1179.
205. Reduced paneth cell alpha-defensins in ileal crohn's disease / Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, Nuding S, Weichenthal M, Petras RE, et al. // *Proc Natl Acad Sci USA* . — 2005. — 102. — P. 18129-18134.
206. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation is required for maintenance of innate antimicrobial immunity in the colon / Peyrin-Biroulet L, Beisner J, Wang G, Nuding S, Oommen ST, Kelly D, et al. // *Proc.Natl.Acad.Sci. USA.* — 2010. — 107. — P. 8772-8777.
207. Human beta-defensin 2 but not beta-defensin 1 is expressed preferentially in colonic mucosa of inflammatory bowel disease / Wehkamp J, Fellermann K, Herrlinger KR, Baxmann S, Schmidt K, Schwind B, et al. // *Eur J Gastroenterol Hepatol.* — 2002. — 14. — P. 745-52.

208. Inducible and constitutive beta-defensins are differentially expressed in Crohn's disease and ulcerative colitis / Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, Mueller O, Herrlinger KR, Fellermann K, et al. // *Inflamm Bowel Dis.* — 2003. — 9. — P. 215-223.
209. Beta- defensin-3 and -4 in intestinal epithelial cells display increased mRNA expression in ulcerative colitis / Fahlgren A, Hammarstrom S, Danielsson A, Hammarstrom ML. // *Clin.Exp. Immunol.* — 2004. — 137. — P. 379-385.
210. Heterogeneous expression of human cathelicidin hCAP18/LL-37 in inflammatory bowel diseases / Schaubert J, Rieger D, Weiler F, Wehkamp J, Eck M, Fellermann K, et al. // *Eur. J Gastroenterol Hepatol.* — 2006. — 18. — P. 615-621.
211. Nod2 (card15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression / Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, Schwab M, Schaffeler E, Schlee M, et al. // *Gut.* — 2004. — 53. — P. 1658-6164.
212. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract / Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, Henegariu O, Inohara N, Nunez G, et al. // *Science.* — 2005. — 307. — P. 731-734.
213. Co-regulation and interdependence of the mammalian epidermal permeability and antimicrobial barriers / Aberg KM, Man MQ, Gallo RL, Ganz T, Crumrine D, Brown BE, et al. // *J Invest. De.* — 2015. — 37. — P. 236-240.
214. Choi, K.Y. Cationic host defence peptides: multifaceted role in immune modulation and inflammation / Choi KY, Chow LN, Mookherjee N. // *J Innate Immun.* — 2012. — 4. — P. 361-70.
215. Erridge, C. Endogenous ligands of TLR2 and TLR4: agonists or assistants? / Erridge C. // *J Leukoc. Biol.* — 2010. — 87. — P. 989-999.
216. PKCdelta-iPLA2-PGE2- PPARgamma signaling cascade mediates TNF-alpha induced claudin 1 expression in human lung carcinoma cells / Iitaka D, Moodley S, Shimizu H, Bai XH, Liu M. // *Cell Signal.* — 2015. — 27. — P. 568-77.
217. The human cathelicidin LL-37 induces muc5ac mucin production by airway epithelial cells via TACE- TGF-alpha-EGFR pathway / Zhang Y, Zhu M, Yang Z, Pan X, Jiang Y, Sun C, et al. // *Exp. Lung. Res.* — 2014. — 40. — P. 333-42.

218. The human cathelicidin LL-37 host defense peptide upregulates tight junction-related proteins and increases human epidermal keratinocyte barrier function / Akiyama T, Niyonsaba F, Kiatsurayanon C, Nguyen TT, Ushio H, Fujimura T, et al. // *J Innate Immun.* — 2014. — 6. — P. 739-53.
219. PKC phosphorylates JAM-A at Ser285 to promote cell contact maturation and tight junction formation / Iden S, Misselwitz S, Peddibhotla SS, Tuncay H, Rehder D, Gerke V, et al. // *J Cell Biol.* — 2012. — 196. — P. 623-639.
220. aPKC kinase activity is required for the asymmetric differentiation of the pre-mature junctional complex during epithelial cell polarization / Suzuki A, Ishiyama C, Hashiba K, Shimizu M, Ebnet K, Ohno S // *J CellSci.* — 2002. — 115. — P. 3565-3573.
221. Beurel, E. Innate and adaptive immune responses regulated by glycogen synthase kinase-3 (GSK3) / Beurel E, Michalek SM, Jope RS. // *Trends Immunol.* — 2010. — 31. — P. 24-31.
222. Severson, E.A. Glycogen synthase kinase 3 (GSK-3) influences epithelial barrier function by regulating occludin, claudin-1 and e-cadherin expression / Severson EA, Kwon M, Hilgarth RS, Parkos CA, Nusrat A. // *Biochem Biophys Res Commun.* — 2010. — 397. — P. 592-597.
223. Gonzalez-Mariscal, L. Crosstalk of tight junction components with signaling pathways / Gonzalez-Mariscal L, Tapia R, Chamorro D. // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2008. — 1778. — P. 729-756.
224. PI3K signaling is required for prostaglandin-induced mucosal recovery in ischemia-injured porcine ileum / Little D, Dean RA, Young KM, McKane SA, Martin LD, Jones SL, et al. // *Am J Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* — 2003. — 284. — P. 46-56.
225. Woo, P.L. Requirement for ras and phosphatidylinositol 3-kinase signaling uncouples the glucocorticoid-induced junctional organization and transepithelial electrical resistance in mammary tumor cells / Woo PL, Ching D, Guan Y, Firestone GL. // *J. Biol. Chem.* — 1999. — 274. — P. 32818-32828.
226. Selberherr A, Niederle MB, Niederle B. / Selberherr A, Niederle MB, Niederle B. // *Visc Med.* — 2017 Oct. — 33(5). — P. 340-343.

227. Trompetas, V. / Trompetas V. // Ann R Coll Surg Engl. – 2008 Apr. — 90(3). – P. 181-186.
228. Хугаева В.К. Влияние даларгина на микрогемо- и микролимфоциркуляцию. Бюл. exper. био. и мед. 1988; 105(3): с. 300- 302.
229. Хугаева В.К. Нарушение мозгового кровотока при ишемии и его коррекция с помощью лей-энкефалина. Бюл. exper. био. и мед. 1991; 112(8): с. 117-120.
230. Хугаева В.К. Нарушения лимфообращения. Кардиология. 1996; 8: с. 64-70.
231. Хугаева В.К. Опиоидергическая регуляция микролимфоциркуляции в норме и при ишемии: Дис. ... д-ра мед. наук. М.: 1993; 309.
232. Хугаева В.К. Сократительная активность лимфатических микрососудов и роль опиоидных пептидов в ее регуляции. Физиол. ж. им. И.М.Сеченова. 1992; 78(12): с. 109-118.
233. Хугаева В.К. Участие агонистов и антагонистов опиатных рецепторов в регуляции сократительной активности лимфатических микрососудов брыжейки кишечника крысы. Бюл. exper. био. и мед. 1990; 109(2): с. 137-140.
234. Хугаева В.К., Беспалова Ж.Д. Различное влияние аналога лей-энкефалина на динамику мозгового кровотока при ишемии мозга разной степени тяжести. Бюлл. exper. биол. и мед. 1998; 126(11): с. 516-519.
235. Хугаева В.К., Стан Е.Я. Влияние ингибитора желудочной секреции из казеина на микролимфоциркуляцию в брыжейке тонкой кишки и моторику кишечника крысы. Бюлл. exper. биол. и мед. 1991; 111(4): с. 341-343.
236. Хугаева В.К., Сучков В.В. Влияние энкефалина на микроциркуляторное русло. Бюл. ВКНЦ АМН СССР. 1980; 1: 92-96.
237. ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» (Межгосударственный стандарт, соответствующий «Guidelines for accommodation and care of animals. Species-specific provisions for laboratory rodents and rabbits»), введенного в действие 01.07.2016 г.

238. Гуськова, Т.А. Токсикология лекарственных средств / Т.А. Гуськова. — Москва, 2008. — 196 с.
239. Сергиенко, В.И. Методические рекомендации по статистической обработке результатов доклинических исследований лекарственных средств / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева, Е.И. Маевский / Руководство по доклиническому изучению лекарственных средств. Под руд. А.Н. Миронова. — М.: Гриф и Ко, 2012. — С. 889-994.