

УРОВЕНЬ ПРОКАЛЬЦИТОНИНА, ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ-АЛЬФА И ЛИПОПОЛИСАХАРИД-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ ОСТРОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ В ДИНАМИКЕ ЕЁ РАЗВИТИЯ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Д.Е. АМАНОВА, Л.Л. АХМАЛТДИНОВА, Ж.М. КОЙШИБАЕВ, Д.К. КАЛИЕВА,
Л.М. КОЙШИБАЕВА, П.А. ИВАЧЁВ

Медицинский университет Караганды, Караганда, Казахстан

Аманова Д.Е. – <https://orcid.org/0000-0001-6293-7833>; SPIN 4372-3449
Ахмалтдинова Л.Л. – <https://orcid.org/0000-0001-5602-6136>; SPIN 9212-3265
Койшибаев Ж.М. – <https://orcid.org/0000-0002-1426-4379>; SPIN 9212-3265
Калиева Д.К. – <https://orcid.org/0000-0001-9265-7103>; SPIN 9212-3265
Койшибаева Л.М. – <https://orcid.org/0000-0002-3651-0147>
Ивачев П.А. – <https://orcid.org/0000-0001-6293-7833>

Citation/

Библиографиялық сілтеме/
Библиографическая ссылка:

Amanova D.Y., Akhmaltdinova L.L., Koyshibayev Zh.M., Kaliyeva D.K., Koyshibayeva L.M., Ivachyov P.A. Procalcitonin level, tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide-binding protein in the serum of experimental animals with various types of acute intestinal obstruction in the dynamics of its development: an experimental study. West Kazakhstan Medical Journal 2019 June; 61(2):91–97.

Аманова Д.Е., Ахмалтдинова Л.Л., Койшибаев Ж.М., Калиева Д.К., Койшибаева Л.М., Ивачёв П.А. Жедел ішек өтімсіздігі даму барысында эксперименталды жануарлардың қан сарысуындағы прокальцитонин, альфа ісік некрозы факторы және белок-байланыстырушы липополисахарид деңгейі: эксперименталды зерттеу қарқынды дамыған мұнай өндіру аудандарындағы тұрғындар денсаулығының негізгі көрсеткіштері. West Kazakhstan Medical Journal 2019 June; 61(2):91–97.

Аманова Д.Е., Ахмалтдинова Л.Л., Койшибаев Ж.М., Калиева Д.К., Койшибаева Л.М., Ивачёв П.А. Уровень прокальцитонина, фактора некроза опухоли-альфа и липополисахарид-связывающего белка в сыворотке крови экспериментальных животных при различных видах острой кишечной непроходимости в динамике её развития: экспериментальное исследование. West Kazakhstan Medical Journal 2019 June; 61(2):91–97.

Procalcitonin level, tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide-binding protein in the serum of experimental animals with various types of acute intestinal obstruction in the dynamics of its development: an experimental study

D.Y. Amanova, L.L. Akhmaltdinova, Zh.M. Koyshibayev, D.K. Kaliyeva, L.M. Koyshibayeva, P.A. Ivachyov
Karaganda Medical University, Karaganda, Kazakhstan

The relevance of studying microbial translocation markers in acute intestinal obstruction (AIO) is due to the difficulties of diagnosis, high mortality rates with AIO, reaching 50% of all cases.

Purpose: to study bacterial translocation biomarkers level in the dynamics of two types of intestinal obstruction.

Methods. The experiment on 60 white male rats included 2 experimental groups with a model of obstructive and strangulated intestinal obstruction and sham control group. In the experiment, the level of PCT, LBP, TNF- α biomarkers in the serum was determined by ELISA.

Results: Statistically significant differences ($p < 0.05$) of the PCT level were found in the experimental and control groups, the maximum PCT values were detected in the subgroups after 3 days of obturation and after 6 hours of reperfusion in the group with strangulation. The level of LBP rises by the third day of obstructive AIO and after 6 hours of strangulation revascularization. The level of TNF- α did not show significant differences in the groups. The LBP and PCT are the most valuable markers of microbial translocation, while TNF- α is a marker of the acute phase of inflammation.

Conclusion: The study of bacterial translocation biomarkers in acute intestinal obstruction of obstructive and strangulated genesis showed that procalcitonin and lipopolysaccharide-binding protein are the most informative markers for the diagnosis of systemic inflammatory complications of a bacterial nature arising from experimental intestinal obstruction. At the same time, tumor necrosis factor-alpha is an early marker of the inflammatory reaction and is more informative in the first hours of the dynamics of one or another type of obstruction. The indiscriminate sensitivity of TNF- α to the nature and severity of the pathological reaction makes it less specific in the diagnosis of microbial translocation in acute intestinal obstruction.

Keywords: *intestinal obstruction, bacterial translocation, biomarkers, procalcitonin, lipopolysaccharide-binding protein, tumor necrosis factor alpha, sepsis.*

Жедел ішек өтімсіздігі даму барысында эксперименталды жануарлардың қан сарысуындағы прокальцитонин, альфа ісік некрозы факторы және белок-байланыстырушы липополисахарид деңгейі. Эксперименталды зерттеу



Аманова Д.Е.
e-mail: amanovaD@qmu.kz

Received/
Келіп түсті/
Поступила:
15.06.2019

Accepted/
Басылымға қабылданды/
Принята к публикации:
26.06.2019

ISSN 1814-5620 (Print)
© 2019 The Authors
Published by West Kazakhstan Marat Ospanov
Medical University

Д.Е. Аманова, Л.Л. Ахмалтдинова, Ж.М. Койшибаев, Д.К. Калиева,
Л.М. Койшибаева, П.А. Ивачёв
Қарағанды медицина университеті, Қарағанды, Қазақстан

Жедел ішектің өтімсіздігіне (ЖІӨ) арналған микробтық транслокация маркерлерін зерттеудің өзектілігі диагноз қою қиындықтарына, ЖІӨ-мен өлімнің жоғары деңгейіне байланысты, барлық жағдайлардың 50% -ына жетеді.

Мақсаты: ішек тосқауылдарының екі түрінің динамикасында бактериялық транслокациялық биомаркерлер деңгейін зерттеу.

Әдістер: 60 ақ ер егеуқұйрығына эксперименталды зерттеу жүргізілді, оның құрамында обструктивтік және ішектің кедергі үлгісі бар 2 эксперименталды топ, шама бақылау тобы бар. Экспериментке сарысудағы PCT, LBP, TNF- α биомаркерлері деңгейі ИФА арқылы анықталды.

Нәтижелері: PCT деңгейіндегі статистикалық маңызды айырмашылықтар ($p < 0,05$) эксперименттік және бақылау топтарында анықталды, 3 күн бойы кіші топтарда кедергі және 6 сағаттық реперфузиядан кейін странгуляциямен ауыратын PCT көрсеткіштері анықталды. LBP деңгейі обтурациялық ОКН 3-ші күніне дейін көтеріледі, 6 сағаттық странгуляциялық ревазуляризация. TNF- α деңгейі топтарда елеулі айырмашылықтар жоқ: LBP және PCT - микробтық транслокацияның ең бағалы маркерлері, ал TNF- α - қабынудың өткір фазасы.

Қорытындылар. Жіті ішектің обструктивті және тітіркенген генезісінде бактериялық транслокацияның биомаркерлерін зерттеу прокальцитонин және липополисахаридті байланыстыратын протеин эксперименталды ішек тосқауылынан туындайтын бактериялық табиғаттың жүйелі қабыну асқинуларын диагностикалау үшін ең ақпараттандыратын маркер болып табылатынын көрсетті. Сонымен қатар, TNF- α қабыну реакциясының ерте маркері болып табылады және бір немесе басқа кедергі түрінің динамикасының алғашқы сағаттарында көбірек ақпарат береді. TNF- α -ның патологиялық реакцияның табиғатына және ауырлығына қатысты сезімталдығы өткір ішектің кедергісінде микробтық транслокация диагнозын анықтайды.

Негізгі сөздер: ішек өтімсіздігі, бактериалды транслокация, биомаркерлер, прокальцитонин, липополисахарид байланыстыратын протеин, некроздың ісік факторы альфа, сепсис.

Уровень прокальцитонина, фактора некроза опухоли-альфа и липополисахарид-связывающего белка в сыворотке крови экспериментальных животных при различных видах острой кишечной непроходимости в динамике её развития: экспериментальное исследование
Д.Е. Аманова, Л.Л. Ахмалтдинова, Ж.М. Койшибаев, Д.К. Калиева,
Л.М. Койшибаева, П.А. Ивачёв
НАО «Медицинский университет Караганды», Караганда, Казахстан

Введение. Актуальность изучения маркеров микробной транслокации при острой кишечной непроходимости (ОКН) обусловлена трудностями диагностики, высокими цифрами летальности при ОКН, достигающими 50% всех случаев.

Цель исследования. Изучить уровень биомаркеров бактериальной транслокации в динамике двух видов кишечной непроходимости.

Методы. Экспериментальное исследование проведено на 60 белых крысах-самцах, включало в себя 2 опытные группы с моделью обтурационной и странгуляционной кишечной непроходимости, контрольную группу sham. В эксперименте произведено определение уровня биомаркеров PCT, LBP, TNF- α в сыворотке крови методикой ИФА.

Результаты. Статистически значимые различия ($p < 0,05$) уровня PCT выявлены в экспериментальных и контрольной группах, максимальные значения PCT выявляются в подгруппах после 3 суток обтурации и через 6 часов реперфузии в группе со странгуляцией. Уровень LBP повышается к третьим суткам обтурационной ОКН и через 6 часов ревазуляризации странгуляции. Уровень TNF- α значимых различий в группах не показал. LBP и PCT являются наиболее ценными маркерами микробной транслокации, в то время как TNF- α является маркером острой фазы воспаления.

Выводы. Изучение биомаркеров бактериальной транслокации при острой кишечной непроходимости обтурационного и странгуляционного генеза показало, что прокальцитонин и липополисахарид-связывающий белок являются наиболее информативными маркерами для диагностики системных воспалительных осложнений бактериальной природы, возникающих при экспериментальной кишечной непроходимости. При этом фактор некроза

опухоли-альфа является ранним маркером воспалительной реакции и более информативен в первые часы динамики того или иного вида непроходимости. Неизбирательная чувствительность TNF- α к характеру и тяжести патологической реакции делает малоспецифичным в диагностике микробной транслокации при острой кишечной непроходимости.

Ключевые слова: кишечная непроходимость, бактериальная транслокация, биомаркеры, прокальцитонин, липополисахарид-связывающий белок, фактор некроза опухоли альфа, сепсис.

Введение

Острая кишечная непроходимость (ОКН), являясь одной из наиболее актуальных проблем неотложной хирургии, не потеряла своей значимости, и остроты до настоящего времени. Частота острой кишечной непроходимости не имеет тенденции к снижению и составляет в экстренной хирургии 9,4-27,1% всех хирургических заболеваний. Летальность при ОКН остается высокой и варьирует от 8-24% до 15-50%. Причины летальных исходов у 33,3-50% больных, оперированных по поводу ОКН, эндотоксикоз, несвоевременная диагностика, атипичное течение заболевания, погрешности терапии, отсутствие эффективных схем лечения, послеоперационная летальность при запущенных формах кишечной непроходимости достигает 17,7-71% [1, 2]. В основе патогенеза послеоперационных осложнений при ОКН лежат явления эндотоксикоза и бактериальной эндотоксинемии, приводящие к тяжелым септическим осложнениям. Немалую роль в патофизиологии и развитии клинической картины ОКН играет изменение реологии регионарного микроциркуляторного русла кишки, которое в большей степени проявляется со снижением артериального кровотока и трудностями венозного оттока при компрессии сосудов брыжейки при странгуляционной непроходимости, или интрамуральных сосудов, как при обтурационной форме ОКН. Закономерно, что нарушения микроциркуляции запускают каскад реакций, приводящих к гипоксии нервного аппарата кишечной стенки и снижению активного метаболизма, процессы свободнорадикального окисления, повреждающие и повышающие проницаемость стенки кишки, приводят к транслокации внутрипросветной флоры в органы и ткани, а при длительно существующем процессе, и в системный кровоток [3].

По данным некоторых исследований определено, что процесс взаимодействия бактериального агента и макроорганизма является достаточно сложным и характеризуется разнообразностью иммунного ответа на антигенную инвазию, проявления которого определяют характер патологии [4, 5, 6]. На современном этапе в диагностике иммунного ответа на транслокацию бактериальных организмов при различных видах кишечной непроходимости широко применяется определение цитокинового ответа (фактора некроза опухоли-альфа (TNF- α), интерлейкинов, факторов некроза опухоли и т.д.), значений прокальцитонина (PCT) и липополисахарид-связывающего протеина (LBP) [7]. Маркерная диагностика явления транслокации позво-

ляет глубже понять природу явления транслокации, расширить знания о патогенезе микробной трансмиграции в динамике развития того или иного вида кишечной непроходимости и прогнозе возникновения фатальных осложнений.

Цель исследования

Определить уровень биомаркеров бактериальной транслокации (PCT, LBP, ФНО) при обтурационной и странгуляционной кишечной непроходимости в динамике их развития.

Методы

Экспериментальное исследование проведено на 60 половозрелых белых крысах-самцах, с исходным весом 225-235 г, сопоставимых по возрасту. Условия содержания животных включали в себя уровень температуры 18-21 $^{\circ}$ C, при соблюдении суточных биоритмов «день-ночь», при доступе к пище и воде в режиме ‘ad libitum’.

Животные поделены на 2 экспериментальные группы по типу модели ОКН: крысы с моделью обтурационной кишечной непроходимости (Группа 1) включает в себя 32 особи, поделенные на подгруппы по срокам наблюдения: 1 сутки (13 крыс), 3 сутки (10 крыс), 5 сутки (9 крыс). Опытная группа 2 с моделью странгуляционной ОКН с восстановлением мезентериального кровотока включала в себя 2 подгруппы: со сроком ОКН/реперфузии 60 мин/2 часа (7 крыс) и 60 мин/6 часов (10 животных). Контрольная группа включала в себя 10 крыс с операцией SHAM – лапаротомия без формирования модели. Животные контрольной группы также разделены на подгруппы, соответствующие срокам наблюдения опытных групп по две крысы в каждой из подгрупп.

Данное исследование одобрено Комитетом по биоэтике КГМУ протокол №4 от 25.09.2017 г. Все инвазивные вмешательства выполнены под анестезией с соблюдением этических правил проведения эксперимента на животных, согласно европейской конвенции о защите позвоночных животных. Выведение животных из эксперимента осуществлялось путем обескровливания в состоянии наркоза, в соответствии с рекомендациями “AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition” [8].

Экспериментальные животные списаны и утилизированы в соответствии с приказом Министерства сельского хозяйства РК от 30.04.2015 г. № 7-1/393 «Правила

отбора проб перемещаемых (перевозимых) объектов и биологического материала». Все оперативные вмешательства и манипуляции проводились под общим обезболиванием и введением раствора калипсола в/м в дозировке 0,5 мг/г массы тела животного. Модель обтурационной острой кишечной непроходимости (ООКН) создавалась по авторской методике [9]: производилось аподактильное клипирование участка тонкой кишки на 1,5-2 см проксимальнее илеоцекального угла. Модель странгуляционной острой кишечной непроходимости (СОКН) также воспроизводилась по собственной методике путём последовательного клипирования приводящего и отводящего отдела тонкой кишки на 4,5 см выше илеоцекального угла и питающей брыжейки с сосудами [10]. Восстановление кровотока при СОКН (имитация хирургического лечения) моделировалось путем снятия всех клипс с петли кишечника и брыжейки. Предложенные модели обладают преимущественными характеристиками перед другими известными моделями, ввиду аподактильной оперативной техники, соблюдения условий стерильности, малотравматичны и воспроизводимы.

Забор крови для изучения уровня динамики биомаркеров в сыворотке крови животным произведен забор 4-5 мл крови из сердца в стерильные вакуумные контейнеры. Пункция сердца под общим обезболиванием проводилась по разработанным стандартам операционных процедур шприцом 5 мл с иглой в точке на 1 мм выше проекции верхушечного толчка, отступая 1,5 мм от левого края грудины с соблюдением рутинных правил асептики и антисептики. Аспирация крови производилась вакуумным методом. Данный метод также является и методом выведения животного эксперимента (эвтаназией). Для получения сыворотки использовался метод центрифугирования.

Измерение уровня изучаемых биомаркеров проводилось на ИФА-роботизированной системе Evolis (Biograd). В исследовании использованы крысиные наборы ИФА: липополисахарид-связывающего протеина (LBP) (ELISA Cloud-clone чувствительность 0,137 нг/мл), прокальцитонин (PCT) (ELISA Cloud-clone, чувствительность 6,1 пг/мл), TNF- α (Rat TNF- α Platinum ELISA, чувствительность 11 пг/мл).

Статистический анализ данных проведен с применением программы IBM SPSS Statistics 20.0 с определением для показателя изучаемых маркеров среднего (M), стандартного отклонения (SD), 95% доверительного интервала (CI). Проверка статистической гипотезы осуществлялась непараметрическими критериями Манна-Уитни для независимых выборок опыт-контроль, Краскелла-Уоллиса для k-независимых выборок для определения уровня значимости для каждого показателя в подгруппах. Различия считали значимыми при уровне $p \leq 0,05$. Проверка статистической гипотезы осуществлялась непараметрическими критериями Mann-Whitney с поправкой Bonferroni для независимых выборок опыт-контроль и Kruskal-Wallis для k-независимых выборок для определения

уровня значимости для каждого показателя в подгруппах ОКН. Различия считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты

Средний уровень PCT в группе крыс обтурационной непроходимостью во всех подгруппах в 2 раза выше, чем в группе странгуляционной непроходимости – 17,68 пг/мл \pm 33 и 8,7 \pm 21,47 пг/мл соответственно. В контрольной группе SHAM PCT не обнаружен. При этом уровень данного биомаркера в группе обтурационной ОКН варьировался от максимального среднего показателя в 1 сутки – 29,24 \pm 36,06 пг/мл с постепенным снижением к 3 суткам: на данном сроке зарегистрирован минимальный уровень PCT 7,02 \pm 22,2 пг/мл. Однако в динамике развития процесса уровень PCT снова повышается до 12,83 \pm 36,59 пг/мл. В группе странгуляционной непроходимости увеличение уровня PCT в сыворотке крови растёт с возрастанием реперфузионного периода. В подгруппе животных с 6-часовым периодом показатель PCT в 3 раза выше, чем при длительности восстановления мезентериального кровотока в течение 2 часов и равен 12,05 \pm 31,74 пг/мл.

При выявлении значимости статистических различий уровень PCT в подгруппе с ООКН в 1 сутки при сравнении с группой контроля различия значимы ($p=0,005$), в подгруппе 3 и 5 суток статистически значимых различий с группой контроля нет ($p>0,05$). В то же время статистически значимые различия выявлены при сравнении результатов подгрупп ($p=0,041$). В подгруппах крыс с моделью странгуляционной непроходимости значимые различия в сравнении с группой контроля выявлены только при длительности реперфузии 6 часов ($p=0,039$). При сравнительном анализе значений в подгруппах значимых различий нет ($p>0,05$).

Показатели LBP при моделировании у крыс обтурационной непроходимости в среднем зарегистрирован на уровне 885,8 \pm 419,8 нг/мл, что в целом незначительно выше среднего уровня данного белка при странгуляционной непроходимости (835,3 \pm 318,2 нг/мл). В группе контроля уровень биомаркера LBP равен 553,6 \pm 197,8 нг/мл, что в 1,5 раза ниже, чем в опытных группах. В группе с обтурационной ОКН максимальный уровень LBP наблюдается на 3 сутки и равен 1100,5 \pm 373,8 нг/мл, тогда как в 1 и 3 сутки уровень биомаркера колеблется незначительно от 873,5 \pm 309,6 нг/мл до 864,7 \pm 439,6 нг/мл. Статистически значимые различия с контрольной группой выявляются только на 3 сутки непроходимости ($p=0,02$), в подгруппах животных со сроком обтурации 1 и 5 суток значимых различий с группой sham не выявлено.

В экспериментальной группе с моделью странгуляционной непроходимости средний показатель LBP зарегистрирован на уровне 835,3 \pm 318,2 нг/мл, тем самым показывая значение в 1,5 раза выше, чем в контрольной группе. Динамика данного биомарке-

ра сыворотки крови показывает тенденцию к росту с удлинением периода реперфузии – в подгруппе со сроком реваскуляризации 6 часов уровень LBP в 1,34 раза выше, чем при значении данного цикла равным 2 часам, в тоже время значимых различий данного показателя в подгруппах не выявлено ($p=0,53$).

Показатели LBP при моделировании у крыс обтурационной непроходимости в среднем зарегистрирован на уровне $885,8 \pm 419,78$ нг/мл, что в целом незначительно выше среднего уровня данного белка при странгуляционной непроходимости ($835,27 \pm 318,24$ нг/мл). В группе контроля уровень биомаркера LBP равен $553,63 \pm 197,81$ нг/мл, что в 1,5 раза ниже, чем в опытных группах. В группе с обтурационной ОКН максимальный уровень LBP наблюдается на 3 сутки и равен – $1100,485 \pm 373,78$ нг/мл, тогда как в 1 и 3 сутки уровень биомаркера колеблется незначительно от $873,53 \pm 309,57$ нг/мл до $864,71 \pm 439,63$ нг/мл. Статистически значимые различия с контрольной группой выявляются только на 3 сутки непроходимости ($p=0,02$), в подгруппах животных со сроком обтурации 1 и 5 суток значимых различий с группой sham не выявлено ($p>0,05$).

В экспериментальной группе с моделью странгуляционной непроходимости средний показатель LBP зарегистрирован на уровне $835,27 \pm 318,24$ нг/мл, тем самым показывая значение в 1,5 раза выше, чем в контрольной группе. Динамика данного биомаркера сыворотки крови показывает рост с удлинением периода реперфузии – в подгруппе со сроком реваскуляризации 6 часов уровень LBP в 1,34 раза выше, чем при значении данного цикла равном 2 часам. Статистически значимые различия в экспериментальной и контрольной группах выявлены в подгруппе с циклом реперфузии 6 часов ($p=0,037$), в подгруппе 2 часов реперфузии брыжеечной циркуляции статистически значимых различий с группой sham нет. При сравнении результатов в подгруппах значимые различия не выявлены ($p>0,05$).

При определении значений TNF- α средний уровень данного маркера в группе с обтурационной кишечной непроходимостью равен $8,04 \pm 13,29$ пг/мл, что в 2,75 раза ниже, чем уровень изучаемого белка в контрольной группе ($22,93 \pm 33,43$ пг/мл). В подгруппах животных с моделью ООКН уровень значений TNF- α планомерно снижается в динамике сроков непроходимости от $10,14 \pm 13,78$ пг/мл в 1 сутки до почти полного отсутствия к 5 суткам обтурационной ОКН ($0,39 \pm 1,23$ пг/мл), регрессируя более чем в 9 раз. При сравнении результатов TNF- α в экспериментальных подгруппах с группой контроля значимые различия выявлены в подгруппе крыс на 3 сутки развития обтурационной ОКН ($p=0,023$), также различия уровня цитокинового биомаркера статистически значимы между подгруппами ООКН ($p=0,01$).

Уровень среднего значения TNF- α в группе крыс с моделью СОКН достигает $21,79 \pm 20,50$ пг/мл, не выявляя значимых различий с группой sham

($28,86 \pm 24,20$ пг/мл) ($p>0,05$). В подгруппах животных со странгуляционной моделью ОКН максимальный уровень зафиксирован через 2 часа реперфузии мезентериального кровотока ($20,36 \pm 17,31$ пг/мл) со снижением в 1,74 раза в подгруппе с периодом реваскуляризации 6 часов до $11,7 \pm 6,37$ пг/мл. Статистически значимых различий в подгруппах странгуляционной ОКН не выявлено ($p>0,05$). Сравнение уровня биомаркеров в экспериментальных и контрольной группах отражено в таблице 1.

Обсуждение результатов

Результаты проведенного исследования уровня прокальцитонина показали, что на фоне изолированной лапаротомии, без развития кишечной непроходимости, данный маркер в сыворотке крови экспериментальных животных отсутствует, появляясь и принимая участие в реализации и диагностике синдрома системной воспалительной реакции (SIRS). Данное свойство делает прокальцитонин с одной стороны, одним из достоверных и актуальных маркеров генерализованных осложнений при острой кишечной непроходимости, и с другой стороны, прогностически значимым индикатором распространенных воспалительных реакций. При этом при обтурационной кишечной непроходимости системный иммунный ответ организма формируется уже в 1 сутки патологического процесса, а при странгуляционном виде непроходимости кишечника возрастает с длительностью периода восстановления кровотока в брыжейке. Данный процесс, возникающий при увеличении срока реперфузии, является закономерным и объясняется временем поступления РСТ в кровь через 6-12 часов после генерализации процесса, накоплением метаболитов гипоксии в стенке кишечника при ишемии и длительностью их поступления в системный кровоток с генерацией факторов системного воспалительного ответа [11]. Также, достоверно известно, что РСТ является маркером лишь для бактериальной инфекции, не синтезируясь при грибковых и вирусных антигенах, что делает его специфичным диагностическим белком бактериальной транслокации [12].

Изучение показателей LBP указывает на то, что транслокация внутрипросветной кишечной микрофлоры в системный кровоток с продукцией эндотоксина бактериальной стенки максимально выражена на 3 сутки обтурационной кишечной непроходимости, в разгар системных воспалительных реакций и генерализации процесса. Являясь маркером бактериемии, LBP не позволяет четко дифференцировать SIRS и септический процесс. Также, перманентное присутствие данного протеина в крови в небольших концентрациях и чувствительность к незначительным механическим повреждениям и нарушениям целостности тканей, что доказано в нашем исследовании умеренными уровнями концентрации данного маркера в крови крыс контрольной группы с

Таблица 1. Сравнение уровня биомаркеров в экспериментальных и контрольной группах.

Маркеры	Sham	Обтурационная ОКН							Странгуляционная ОКН			
		1 сут	3 сут	5 сут	k	H**	p	1ч/2ч	1ч/6ч	z**	p	
PCT	N	9	13	10	9				7	10		
	M	0,00	29,24	7,02	12,83				4,00	12,05		
	SD	0,00	36,06	22,20	36,59	3	6,38	0,041	6,96	27,52	-0,46	0,65
	z*		-2,789	1,23	-1,455				-1,66	-2,06		
	p		0,005	0,343	0,146				0,098	0,039		
LBP	N	9	13	10	9				7	10		
	M	553,6	1100,5	864,7	599,1				806,3	855,5		
	SD	197,8	373,8	439,6	296,5	3	8,52	0,014	358,4	305,5	-0,64	0,53
	z*		-3,105	-1,512	-0,132				-1,32	-2,083		
	p		0,002	0,131	0,895				0,19	0,037		
TNF	N	9	13	10	9				7	10		
	M	22,93	5,40	0,39	20,37				11,7	28,86		
	SD	33,43	9,22	1,23	17,31	3	9,13	0,010	6,37	24,20	-1,57	0,12
	z*		-1,613	-2,276	-0,456				-0,54	-1,038		
	p		0,107	0,023	0,648				0,59	0,299		

* - сравнение каждой экспериментальной группы с контрольной группой;

** - сравнение в подгруппах ОКН, k-количество степеней свободы

лапаротомией, не позволяют считать данный протеин прогностически значимым в диагностике системных осложнений ОКН.

При странгуляционной кишечной непроходимости отмечена тенденция к росту уровня LBP, и PCT с увеличением времени реперфузии. Отсутствие кровотока не позволяет бактериальным инфектам проникать из изолированной кишечной среды в кровеносное русло, однако при восстановлении перфузии кишечной стенки и продолжающейся ревазуляризации концентрации данного биомаркера возрастают. Также продукты окисления, скапливающиеся в пристеночном эпителии кишечной стенки, являются триггерами для запуска системного воспалительного ответа с циркуляцией иммунно-воспалительных комплексов и запуском каскада цитокиновых реакций [13].

Определение уровня TNF-α показало, что среднее значение данного биомаркера при обтурационной кишечной непроходимости ниже таковых в контрольной группе с моделированием лапаротомии. По данным некоторых авторов, полученный результат указывает на «острофазную» природу данного маркера, больше реагирующем в первые часы патологического процесса до 24 часов [14]. Синтез данного цитокина в низких концентрациях указывает на возникновение иммунно-воспалительной реакции в ответ на механическое повреждение тканей. Динамическое снижение уровня TNF-α с увеличением срока непроходимости указывает на взаимосвязь уровня бактериального антигена с повышением факторов агрессии и риска осложнений. Также не

исключается истощение «пула» провоспалительных белков ввиду массивного поступления эндотоксина с развитием заболевания, снижение иммунного ответа, как закономерный исход генерализации процесса и вовлечение систем органов [15]. Также не исключается истощение «пула» провоспалительных белков ввиду массивного поступления эндотоксина с развитием заболевания, снижение иммунного ответа, как закономерный исход генерализации процесса и вовлечение систем органов.

Картина показателей TNF-α при странгуляционном типе непроходимости также не отражает значимых различий с группой контроля sham, однако более высокие концентрации в ранние часы ревазуляризации, как и в случае с обтурационной ОКН, позволяют отнести данный биомаркер к наиболее «ранним» диагностическим индикаторам SIRS и возможной бактериальной транслокации. Стоит отметить, что TNF-α малоспецифичен в отношении дифференцировки природы инфекционного агента, а повышение его концентрации достоверно не указывает на наличие процессов миграции кишечной флоры в системный кровоток, однако, может иметь прогностическое значение в развитии системных осложнений ОКН.

Заключение

Изучение биомаркеров бактериальной транслокации при острой кишечной непроходимости обтурационного и странгуляционного генеза показало, что прокальцитонин и липополисахарид-связывающий

белок являются наиболее информативными маркерами для диагностики системных воспалительных осложнений бактериальной природы, возникающих при экспериментальной кишечной непроходимости. При этом фактор некроза опухоли-альфа является ранним маркером воспалительной реакции и более информа-

тивен в первые часы динамики того или иного вида непроходимости. Незбирательная чувствительность TNF- α к характеру и тяжести патологической реакции делает малоспецифичным в диагностике микробной транслокации при острой кишечной непроходимости.

Информация о возможном конфликте интересов и источниках финансирования исследования: данное исследование финансировано МОН РК по гранту НИР. Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов.

Список литературы / References:

1. Maung AA, Johnson DC, Piper GL, et al. Evaluation and management of small-bowel obstruction: an Eastern Association for the Surgery of Trauma practice management guideline. *Journal Trauma Acute Care Surgery*. 2012;73(5):362–369. Available from: DOI: 10.1097/TA.0b013e31827019de.
2. Qalbani A, Paushter D, Dachman AH. Multidetector row CT of small bowel obstruction. *Radiol Clin North Am*. 2007;45(3): 499–512. Available from: doi: 10.1016/j.rcl.2007.04.006.
3. Коваленко АА, Хугаева ВК, Пахомов ДВ, Караханян КМ. Изучение микроциркуляторного русла брыжейки и стенки тонкой кишки при комплексном хирургическом лечении острой кишечной непроходимости с использованием синтетического пептида. *Health and Education Millennium*. 2018;20(12). *Kovalenko AA, Hugaeva VK, Pahomov DV, Karahanjan KM. The study of the microvasculature of the mesentery and the wall of the small intestine with the complex surgical treatment of acute intestinal obstruction using a synthetic peptide. Health and Education Millennium*. 2018;20(12). [In Russian]
4. Руднов ВА, Кулабухов ВВ. Сепсис и терагностика на пути к персонализированной медицине. *Вестник анестезиологии и реаниматологии* 2015;12(6):60–67. *Rudnov VA, Kulabuhov VV. Sepsis and teragnosis on the way to personalized medicine. Vestnik anesteziologii i reanimatologii*. 2015;12(6): 60-67. [In Russian]
5. Iskander KN, Osuchowski MF, Stearns-Kurosawa DJ, et al. Sepsis: multiple abnormalities, heterogeneous responses and evolving understanding. *Physiol Rev* 2013;93(3):1247–1288. Available from: DOI: 10.1152/physrev.00037.2012.
6. Kwan A, Hubank M, Rashid A, et al. Transcriptional instability during evolving sepsis may limit biomarker based risk stratification. *PLoS One*. 2013;8(3):e60501. Available from: DOI: 10.1371/journal.pone.0060501.
7. Аманова ДЕ, Койшибаев ЖМ, Ахмалтдинова ЛЛ, Матюшко ДН, Тургунов ЕМ. Динамика липополисахарид-связывающего белка и прокальцитонина при экспериментальной кишечной непроходимости. *Медицинский Вестник Северного Кавказа*. 2019;14(1):145–148. *Amanova DY, Koyshebaev ZhM, Akhmaltdinova LL, Matyushko DN, Turgunov EM. Dynamics of lipopolysaccharide-binding protein and procalcitonin in experimental intestinal obstruction. Medical Bulletin of the North Caucasus* 2019;14(1):145–148. [In Russian]
8. American Veterinary Medical Association, AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition. 2013. URL: <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf> [Accessed 21th May 2019].
9. Тургунов ЕМ, Телеуов МК, Койшибаев ЖМ, Аманова ДЕ, Жумакаев АМ. Моделирование острой кишечной непроходимости в эксперименте. Свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права № 278 от 15.02.2017. Астана: Национальный институт интеллектуальной собственности Республики Казахстан; 2017. *Turgunov YM, Teleuov MK, Koyshebaev ZhM, Amanova DY, Zhumakaev AM. Modeling acute intestinal obstruction in the experiment. Certificate on the state registration of the rights for subject of copyright No.278 of 15.02.2017. Astana: National Institute of intellectual property of the Republic of Kazakhstan; 2017. [In Russian]*
10. Тургунов ЕМ, Аманова ДЕ, Калиева ДК, Ивачёв ПА, Коробейников ТС. Метод моделирования странгуляционной кишечной непроходимости у крыс (произведение науки). Свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права №2302 от 16.07.2018. Астана: Национальный институт интеллектуальной собственности Республики Казахстан; 2018. *Turgunov YM, Amanova DY, Kaliyeva DK, Ivachyov PA, Korobeinikov TS. Method of modeling strangulation intestinal obstruction in rats (a work of science). Certificate on the state registration of the rights for subject of copyright No.2302 of 16.07.2018. Astana: National Institute of intellectual property of the Republic of Kazakhstan; 2018. [In Russian]*
11. Wacker C, Prkno A, Brunkhorst F, Schlattmann P. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(5):426–35. Available from: DOI: 10.1016/S1473-3099(12)70323-7.
12. Andriolo BNG, Andriolo RB, Salomão R, Atallah AN. Effectiveness and safety of procalcitonin evaluation for reducing mortality in adults with sepsis, severe sepsis or septic shock. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017;1: CD010959. Available from: DOI: 10.1002/14651858.CD010959.pub2.
13. Schultz K, Klug C. Characterization of and lipopolysaccharide binding to the E. coli LptC protein dimer. *Protein Science*. 2018;27(2):381–389. Available from: DOI: 10.1002/pro.3322.
14. Гилева ИП, Малкова ЕМ, Непомнящих ТС, Виноградов ИВ, Лебедев ЛР, Кочнева ГВ, Гражданцева АА, Рябчикова ЕИ, Щелкунов СН. Изучение действия TNF-связывающего белка вируса натуральной оспы на развитие ЛПС-индуцированного эндотоксического шока. *Цитокины и воспаление*. 2006;1. *Gileva IP, Malkova EM, Nepomnyashih TS, Vinogradov IV, Lebedev LR, Kochneva GV, Grazhdanceva AA, Rjabchikova EI, Shhelkunov SN. Study of the effect of the smallpox virus TNF-binding protein on the development of LPS-induced endotoxic shock. Cytokines and inflammation*. 2006;1. [In Russian]
15. Indulekha K, Surendar J, Mohan V. High sensitivity C-reactive protein, tumor necrosis factor- α , interleukin-6, and vascular cell adhesion molecule-1 levels in Asian Indians with metabolic syndrome and insulin resistance (CURES-105). *Journal Diabetes Sci Technol*. 2011;5(4):982 – 988. Available from: DOI: 10.1177/193229681100500421.