

УДК 615.03:616.34-007.272

Экспериментальное обоснование применения синтетического пептида в комплексном хирургическом лечении острой кишечной непроходимости

Коваленко А.А.¹, Хугаева В.К.²

¹ Санаторий «Звенигород» Клинического центра Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 143069, Московская область, Звенигород, пос. Введенское

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Высокая смертность при хирургическом лечении острой кишечной непроходимости (ОКН) определила поиск новых методов сопутствующей терапии. Обнаруженная ранее высокая эффективность опиоидных пептидов в стимулировании лимфотока в микрососудах брыжейки тонкой кишки у крыс, восстановлении нарушенной микроциркуляции и снижении смертности при ряде заболеваний, определила цель данного исследования: изучить роль фармакологической стимуляции лимфотока в динамике ОКН. В работе использовали методы: биомикроскопия, лазерная доплеровская флоуметрия брыжейки и стенки тонкой кишки крысы, регистрация сократительной активности лимфатических микрососудов ЛМ методом фотометрии, морфометрия микрососудов, видео- и фотосъемка. Полученные результаты предполагают наличие адаптационной роли у активатора микролимфоциркуляции (опиоидного пептида-171 прямого действия) в комплексном хирургическом лечении ОКН. Однократное орошение пептидом межкишечного анастомоза (после удаления) и поврежденного лигатурой фрагмента кишки (перед зашиванием операционной раны) увеличивало выживаемость животных с ОКН на 23%. У всех выживших животных отмечено восстановление: проходимости кишки, микроциркуляции в кровеносных и лимфатических микрососудах, а также структуры стенки кишки.

Ключевые слова: острая кишечная непроходимость; опиоидный пептид-171, энтеро-энтеральный анастомоз; микроциркуляция; лимфатические микрососуды.

Для цитирования: Коваленко А.А., Хугаева В.К. Экспериментальное обоснование применения синтетического пептида в комплексном хирургическом лечении острой кишечной непроходимости. Патогенез. 2018; 16(4): 138-140

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.138-140

Для корреспонденции: Хугаева Валентина Каргоевна; e-mail: vhugaeva@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 18.11.2018

Experimental substantiation of using a synthetic peptide in the complex surgical treatment of acute intestinal obstruction

Kovalenko A.A.¹, Khugaeva V.K.²

¹ Sanatorium "Zvenigorod" of the I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Zvenigorod of Moscow Region 143069, Russian Federation

² Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

High mortality in the surgical treatment of acute intestinal obstruction (AIO) has warranted the search for new methods of concomitant therapy. Opioid peptides have proved highly effective in stimulating the lymphatic flow in rat small intestinal mesenteric microvessels, restoring the impaired microcirculation, and reducing mortality in many diseases. This had determined this study objective: to investigate the role of lymphatic stimulation in the dynamics of AIO. The study used methods of biomicroscopy, laser Doppler flowmetry, and histological examination of the mesentery and the small intestinal wall in rats; recording the contractile activity of lymphatic microvessels using photometry; microvessel morphometry; video and photography. The study results suggested an adaptive role of the lymphatic microcirculation activator (direct-action opioid-171) in the complex surgical treatment of AIO. A one-time peptide irrigation of the intestinal anastomosis (after removal) and the intestinal injured by the ligature (before the surgical wound was sutured) increased the survival of animals with AIO by 23%. In all surviving animals, recovery of the intestinal patency, blood and lymphatic microcirculation, and the intestinal wall structure was observed.

Keywords: acute intestinal obstruction; opioid peptide-171; entero-enteral anastomosis; microcirculation; lymphatic.

For citation: Kovalenko A.A., Khugaeva V.K. [Experimental substantiation of using a synthetic peptide in the complex surgical treatment of acute intestinal obstruction]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2018; 16(4): 138-140 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.138-140

For correspondence: Khugaeva Valentina Kargojevna, e-mail: vhugaeva@mail.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 18.11.2018

Введение

Среди urgentной хирургической патологии острая кишечная непроходимость (ОКН) занимает лидирующие позиции. Ежегодно на долю ОКН приходится от 10 до 30% случаев всей хирургической патологии, ОКН заболевают более 20-25 человек на 100 000 населения [1]. В качестве основного локального фактора патогенеза кишечной непроходимости рассматривается изменение регионарного кровообращения в кишке на уровне микроциркуляторного (МЦ) русла, характеризующееся сокращением артериального притока и затруднением венозного оттока. Развивающиеся циркуляторные нарушения приводят к гипоксии интрамурального нервного аппарата стенки кишки и снижению в ней уровня метаболизма. В последние годы в зарубежной и отечественной научной периодике широко обсуждается роль эндогенных пептидов в регуляции структуры и функции органов ЖКТ. В 1980 г впервые было обнаружено лимфостимулирующее (ЛСт) действие у лей-энкефалина [2], одного из первых опиоидных пептидов (ОП), обнаруженных в тканях мозга млекопитающих, а позднее у человека в различных органах и тканях, включая ЖКТ. Широкое распространение энкефалинов и опиатных рецепторов (ОР) в жизненно важных органах человека предполагает их активное участие в жизнедеятельности организма. Наличие ЛСт активности у тирозинсодержащих аналогов лей-энкефалина и даларгина (агонистов дельта ОР) позволило получить положительные результаты в экспериментах на крысах при ишемии мозга [3], воспалении кожи [4], остром отеке легких [5]. Поскольку ишемия и воспаление являются спутниками практически всех заболеваний, возможности применения пептидов-ЛСт могут быть безграничны. Выше изложенное обуславливает научный интерес к изучению возможных точек приложения действия пептидов при патологии ЖКТ, в том числе, острой хирургической патологии и, в частности, ОКН.

Целью работы стало экспериментальное обоснование адаптационной роли ЛСт активатора (ОП-171 прямого действия, аналога лей-энкефалина и даларгина, агониста дельта ОР) в комплексном хирургическом лечении ОКН.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на 90 белых нелинейных крысах-самцах массой 180-250 г. Все лабораторные манипуляции проведены в соответствии с требованиями приказа Минздрава России №199н от 01.04.2016 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», с соблюдением требований гуманного обращения с лабораторными животными. Животные были разделены на 9 экспериментальных групп по 10 крыс в каждой. 1-я группа – ложно-оперированные животные с введением пептида. 2-я группа – животные с перевязанной подвздошной кишкой на расстоянии 15 см проксимальнее слепой кишки. У животных 3-й группы лигировали одну ветвь брыжеечной артерии. В 4-й группе перевязывали 3 ветви брыжеечной артерии. В 5-й группе делали перекрут подвздошной кишки и перевязывали одну брыжееч-

ную артерию. В 6-й группе пересекали подвздошную кишку с последующим наложением энтеро-энтерального анастомоза (ЭЭА) «конец в конец». В 7-й группе – резекция фрагмента кишки с последующим наложением ЭЭА. В 8-й группе – через 24 часа после наложения лигатуры на кишку проводили резекцию поврежденного участка кишки с последующим созданием ЭЭА. В 9-й группе выполняли аналогичные манипуляции, что и в восьмой группе, отличие заключалось в аппликации на поверхность анастомоза ОП-171 в дозе 40 мкг/кг в объеме 1 мл 0,9% раствора NaCl. Пептид-171 синтезирован в Институте экспериментальной кардиологии ФГБУ НМИЦ кардиологии Минздрава России.

Семисуточную выживаемость животных оценивали в каждой группе. Состояние МЦ русла в зоне повреждения определяли методом ЛДФ, структурно-функциональные свойства венозных и ЛМ брыжейки и кишечной стенки – методом биомикроскопии.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью точного метода Фишера (пакет программ STATISTICA 8.0). Различия между сравниваемыми параметрами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

На первом этапе исследования была изучена выживаемость животных с различными моделями ОКН. Наиболее тяжело протекающими и вызывающими гибель 100% животных в первые 3 суток были 2-я, 4-я и 5-я группы. Выживаемость в 3-й и 7-й группе составила 90%. Все животные 1-й и 6-й группы выжили. Выживаемость животных 8-й группы составила 43%, в 9-й группе – 66% (на 23% больше по сравнению с 8-й группой, $p < 0,05$ по точному методу Фишера).

На втором этапе изучали динамику показателя МЦ (ПМЦ) стенки тонкой кишки с различными моделями ОКН. Исходное значение ПМЦ после повреждения стенки тонкой кишки резко снижалось через 1 минуту после воздействия. Степень его снижения была различной в зависимости от выбранной модели. Максимальное снижение ПМЦ на 76% возникало у животных 5-й группы, которые подвергались комбинированному воздействию. Минимальное снижение ПМЦ на 22% отмечено в 3-й группе, в которой производилась перевязка только одной артерии брыжейки. Перевязка трех артерий в 4-й группе вызывала снижение ПМЦ почти в 3 раза больше (на 63%), чем у крыс 3-й группы. У животных с ОКН в группах 2, 6-9 регистрировали сопоставимое снижение ПМЦ в среднем на 44-47%. Следовательно, степень снижения ПМЦ отражала тяжесть создаваемой модели.

На третьем этапе проводили биомикроскопическое изучение МЦ в венозных сосудах брыжейки тонкой кишки в 8-й и 9-й группах. Поскольку к 7-м суткам после проведения оперативного вмешательства и наложения ЭЭА у выживших животных МЦ нарушения компенсируются, закономерно отсутствие статистически значимых различий диаметра венозных микрососудов брыжейки между животными 8-й и 9-й групп ($p > 0,10$).

В то же время, доказательным значением обладают различия при сравнении с исходным значением диаметра сосудов, поскольку, будучи зарегистрированными у тех же самых животных до хирургической коррекции, они позволяют судить о степени эффективности воздействия при остро формирующейся хирургической патологии органа. Нами обнаружено снижение полнокровия и застоя в венах и мелких венах, причём в большей степени застой и полнокровие снижались у животных, получавших ЛСт пептид (на 10% и более).

ОП – аналоги энкефалинов, быстро разрушаются в организме протеазами, их фармакологический эффект длится около 5 минут. В наших экспериментах небольшая доза ОП-171 (40 мкг/кг) оказывала регулирующее веноотоническое действие на венозную сеть брыжейки на протяжении 7 суток послеоперационного периода, препятствуя развитию венозного полнокровия и застойных явлений, которые вызывают нарушения МЦ в венозном, и, позже – в артериальном русле. Веноотонический эффект ОП, возможно, является следствием как прямого активирующего влияния пептида на дельта ОР гладкомышечных клеток 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.

Однако высказанные предположения о механизмах веноотонического действия пептида не согласуются с результатами, полученными нами при изучении моторики лимфатических микрососудов (ЛМ) брыжейки тонкой кишки у выживших животных с ОКН 8-й и 9-й групп. Результаты свидетельствуют о статистически значимом (при сравнении с контрольной 8-й группой) увеличении моторики ЛМ через 7 дней после однократного местного применения небольшой дозы (менее 10 мкг на крысу) ЛСт ОП-171, что сопровождалось увеличением скорости лимфооттока, ускорением дезинтоксикационной функции ЛМ брюшной полости. Данное противоречие требует дальнейшего изучения.

Заключение

Таким образом, развитие ОКН сопровождается редуцией МЦ, застойными явлениями в венах, снижением активности лимфодренажа за счет подавления активности ЛМ. Местная аппликация на поверхность брыжейки пораженного отдела кишки раствора ОП-171 приводит к формированию немедленного и отсро-

ченного эффектов, характеризующихся активацией МЦ в отделах кишки, локализованных проксимальнее места повреждения, повышением тонуса венул и активацией ЛМ. Установленный эффект сохраняется до 7 суток после формирования острой патологии и обуславливает повышение выживаемости крыс с обтурационной ОКН. Использование ЛСт пептида при полостных операциях на кишечнике, вероятно, позволит ускорять восстановление структуры и функции органа, благодаря улучшению МЦ, реализующей трофическое обеспечение стенки кишки, и значительно снизить послеоперационную летальность.

Список литературы

1. Хугаева В.К., Сучков В.В. Влияние энкефалина на микроциркуляторное русло. Бюллетень Всесоюзного кардиологического научного центра Академии Медицинских Наук СССР. 1980; 3(1): 92-96.
2. Хугаева В.К. Нарушение мозгового кровотока при ишемии и его коррекция с помощью лей-энкефалина. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1991; 112(8): 117-120.
3. Ардасенев А.В., Хугаева В.К., Александров П.Н. Микроциркуляторное русло кожи в условиях воспаления и коррекции методом лимфостимуляции. М.: Научный мир; 2004. 149 с.
4. Султанов Д.В., Хугаева В.К. Лимфостимулирующее действие препаратов, применяемых при патологии легких. Ярославль: Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д.Ушинского (ЯГПУ); 2013: 68 с.
5. Ахметов И.Х., Хасанов А.Г., Суфияров И.Ф. Диагностика и лечение острой обтурационной кишечной непроходимости. Клиническая и экспериментальная хирургия. 2012; 6(4): 77-82.

References

1. Khugaeva V.K., Suchkov V.V. [The effect of enkephalin on the microcirculatory bed]. *Byulleten' Vsesoyuznogo kardiologicheskogo nauchnogo centra Akademii Medicinskih Nauk SSSR [Bulletin of the All-Union Cardiological Scientific Center of the Academy of Medical Sciences of the USSR]*. 1980; 3(1): 92-96. (in Russian)
2. Khugaeva V.K. [Disturbance of cerebral blood flow during ischemia and its correction with the help of leu-enkephalin]. *Byulleten' ehksperimental'noj biologii i meditsiny. Byulleten' ehksperimental'noj biologii i meditsiny [Bulletin of experimental biology and medicine]*. 1991; 112(8): 117-120. (in Russian)
3. Ardasenov A.V., Khugaeva V.K., Aleksandrov P.N. [Microcirculatory bed of the skin in conditions of inflammation and correction method of lymph stimulation]. M.: Scientific world, 2004. 149 p. (in Russian)
4. Sultanov D.V., Khugaeva V.K., [Lymphostimulant effect of drugs used in lung pathology]. Yaroslavl: Yaroslavskij gosudarstvennyj pedagogicheskij universitet im. K.D.Ushinskogo, 2013. 68 p. (in Russian)
5. Akhmetov I.Kh., Khasanov A.G., Sufiyarov I.F. [Diagnosis and treatment of acute obstructive intestinal obstruction]. *Klinicheskaya I ehksperimentalnaya hirurgiya. [Clinical and experimental surgery]*. 2012; 2012; 6(4): 77-82. (in Russian)

Сведения об авторах:

Коваленко Алексей Анатольевич – главный врач санатория «Звенигород» Клинического центра Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Хугаева Валентина Каргоевна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»