

Министерство образования и науки Республики Казахстан
Карагандинский государственный медицинский университет

УДК 616.34-007.272-089

на правах рукописи

КОЙШИБАЕВ ЖАНДОС МУРАТОВИЧ

**Детекция транслокации микроорганизмов
при острой тонкокишечной непроходимости
(экспериментальное исследование)**

6D110100 – Медицина

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научные консультанты:
Доктор медицинских наук,
профессор,
Е.М. Тургунов,
Доктор медицинских наук,
И.С. Азизов

Научный зарубежный консультант:
MD, PhD
G. Sandblom

Республика Казахстан
Караганда, 2018

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	5
ВВЕДЕНИЕ	7
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 Бактериальная транслокация. Механизмы и пути миграции.....	11
1.2 Проблема подтверждения бактериальной транслокации. Маркеры бактериальной транслокации.....	18
1.3 Организация иммунной системы тонкой кишки и ее роль в защите от бактериальной транслокации.....	28
1.4 Факторы, нарушающие целостность кишечного эпителиального барьера.....	31
1.4.1 Интраабдоминальная гипертензия и внутрикишечное давление.....	32
1.4.2 Циркуляторно-гипоксический фактор.....	33
1.4.3 Токсический и микробный фактор. Избыточный бактериальный рост..	34
1.4.4 Роль окислительного стресса в нарушении целостности кишечного барьера.....	35
1.4.5 Фактор нарушения иммунных механизмов.....	37
1.5 Роль бактериальной транслокации в развитии эндогенной интоксикации, синдрома системной воспалительной реакции, абдоминального сепсиса и полиорганной недостаточности.....	38
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
2.1 Дизайн экспериментального исследования.....	40
2.2 Характеристика материала исследования.....	43
2.3 Методы исследования.....	44
2.3.1 Измерение внутрибрюшного давления.....	44
2.3.2 Определение биомаркеров энтерогематической транслокации микроорганизмов – определение LBP, PCT и CD-14 в сыворотке крови.....	47
2.3.2.1 Методика внутрисердечной пункции.....	47
2.3.3 Микробиологическое исследование микрофлоры ткани кишки и выпота брюшной полости (энтероперитонеальная транслокация).....	51
2.3.4 Статистическая обработка результатов исследования.....	55
3 ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	56
3.1 Разработка модели ОКН у крыс.....	56
3.1.1 Обзор известных способов моделирования кишечной непроходимости.....	56
3.2 Способы моделирования острой кишечной непроходимости.....	59
3.2.1 Создание модели ОКН на уровне средней трети тонкой кишки методом наложения силиконовой трубки.....	60

3.2.2 Создание модели ОКН на уровне средней трети толстой кишки.....	65
3.2.3 Создание модели ОКН на уровне илеоцекального угла тонкой кишки методом наложения клипсы.....	67
3.2.4 Создание модели ОКН на уровне средней трети толстой кишки.....	69
3.2.5 Создание модели ОКН на уровне илеоцекального угла тонкой кишки методом наложения клипсы, доступом в правой половине брюшной полости, аподактильно.....	71
3.3 Собственная методика экспериментальной острой тонкокишечной непроходимости.....	75
4 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	79
4.1 Динамика результатов измерения внутрибрюшного исследования.....	79
4.2 Уровень биомаркеров сыворотки крови в динамике развития ОКН.....	83
4.3 Динамика энтероперитонеальной транслокации в динамике кишечной непроходимости в эксперименте.....	89
4.3.1 Спектр микробной флоры в интактной, Sham – группе и в группе с ОКН.....	89
4.3.1.1 Спектр микробной флоры в интактной, Sham – группе и в группе с ОКН в кишечном содержимом.....	89
4.3.1.2 Спектр микробной флоры в интактной, Sham – группе и в группе с ОКН в перитонеальном выпоте брюшной полости.....	91
4.3.2 Динамика микрофлоры в кишечнике в основной группе и Sham - группе	93
4.3.3 Динамика микрофлоры в брюшной полости в основной группе и Sham - группе	95
4.4 Взаимосвязь внутрибрюшного давления, энтероперитонеальной и системной транслокации микроорганизмов в группе с острой кишечной непроходимостью, где выявлена бактериальная транслокация.....	97
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	100
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	104
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	105
ПРИЛОЖЕНИЕ А - Стандартная операционная процедура моделирования ОКН на животных (крысы).....	122
ПРИЛОЖЕНИЕ Б - Решение комитета по биоэтике Карагандинского государственного медицинского университета.....	124
ПРИЛОЖЕНИЕ В - Акты внедрения результатов научно-исследовательской работы	126
ПРИЛОЖЕНИЕ Г - Свидетельство о государственной регистрации прав на предмет авторского права.....	130

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 7.32-2001 (изменения от 2006 г.). Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления;

ГОСТ 7.1-2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления.

Решение комитета по биоэтике КГМУ (протокол № 98 от 02.09.2016, присвоенный номер № 240).

Руководство Американской Ветеринарной Медицинской Ассоциации по эвтаназии животных: “AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition”.

Приказ Министерства здравоохранения Республики Казахстан от 15 мая 2015 года №348 О внесении изменения в приказ Министерства здравоохранения Республики Казахстан от 12 ноября 2009 года №697 «Об утверждении Правил проведения медико-биологических экспериментов, доклинических (неклинических) и клинических исследований», а также с соблюдением принципов Международных правил биоэтики Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013).

Экспериментальные животные списаны и утилизированы в соответствии с Пунктом 52 в редакции Постановления Правительства РК от 07.08.2012 №1030. Требования к оформлению диссертаций протокол №8 от 24.03.2016.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

БТ	– бактериальная транслокация
ВБГ	– внутрибрюшная гипертензия
ВБД	– внутрибрюшное давление
ВКГ	– внутрикишечная гипертензия
ВКД	– внутрикишечное давление
ВОЗ	– Всемирная Организация Здравоохранения
ЖКТ	– желчно-кишечный тракт
ИБК	– избыточная бактериальная колонизация
ИЛ (IL)	– интерлейкин (Interleukin)
ИРС	– ишемически-реперфузионный синдром
ИФА	– иммуноферментный анализ
кДа	– килодальтон
КОЕ/мл	– колониеобразующих единиц на миллилитр
ЛКП НИЦ КГМУ	– Лаборатория коллективного пользования научно-исследовательского центра Карагандинского государственного медицинского университета
ЛПС (LPS)	– липополисахарид (lipopolysaccharide)
ЛПСК	– липополисахаридный комплекс
ЛСБ (LBP)	– липополисахарид-связывающий белок (lipopolysaccharide binding protein)
мг/мл	– миллиграмм на миллилитр
МЛУ	– мезентеральные лимфоузлы
мм.рт.ст.	– миллиметр ртутного столба
МЦ	– микроциркуляция
нг/мл	– нанограмм вещества в 1 мл плазмы или сыворотки крови
ОКН	– острая кишечная непроходимость
ОНТК	– острая непроходимость тонкой кишки
пг/мл	– пикограмм вещества в 1 мл плазмы
ПКТ (PCT)	– прокальцитонин (procalcitonin)
ПОЛ	– перекисное окисление липидов
ПОН	– полиорганная недостаточность
ПСП	– пресепсин
СВБГ	– синдром интраабдоминальной гипертензии
СИБР	– синдром избыточного бактериального роста
СКН	– синдром кишечной недостаточности
СРБ	– С-реактивный белок
ССВО (SIRS)	– синдром системного воспалительного ответа (systemic inflammatory response syndrome)
ССВР	– синдром системной воспалительной реакции
СЭН	– синдром энтеральной недостаточности
ФНО- α (TNF)	– фактор некроза опухоли-альфа (tumor necrosis factor)
ANOVA	– Analysis of variance (одноранговый дисперсионный анализ)

CI	– доверительный интервал
M	– средняя величина, среднее значение
sCD14	– soluble CD14
SD	– стандартное отклонение
sIgA	– секреторный иммуноглобулин А
TLR	– Toll-like receptor (толл-подобные рецепторы)
USB	– Universal Serial Bus – универсальная последовательная шина, последовательный интерфейс передачи данных
δ^2	– дисперсия

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Острая кишечная непроходимость – синдромная категория, характеризующаяся нарушением пассажа кишечного содержимого в направлении от желудка к прямой кишке и объединяющая осложненное течение различных по этиологии заболеваний и патологических процессов, которые формируют клинико-морфологический субстрат острой кишечной непроходимости.

Миграция бактерий или их продуктов из просвета кишки в мезентеральные лимфоузлы, а затем во внекишечную среду (печень, почки, сердце, легкие, мозг и др. органы) контролируется физиологическими процессами здорового организма. В то же время, контроль над этими процессами прогрессивно нарушается при развитии многих заболеваний, в том числе, при кишечной непроходимости. В свою очередь неконтролируемая бактериемия или токсинемия резко утяжеляют состояние и часто являются основной причиной развития органной дисфункции и летального исхода [1, 2, 3].

В клинических условиях изучение бактериальной транслокации (БТ) затруднено, так как, не представляется возможным взять материал для бактериологического исследования из разных органов, а результаты бактериемии более чем в 40% отрицательные, даже при установленном диагнозе сепсиса. Поэтому важен поиск биомаркеров кишечной транслокации, который может быть осуществлен в экспериментальных условиях [4, 5].

Анализ исследований свидетельствует о том, что феномен БТ является частым явлением при острой кишечной непроходимости. Возрастающий интерес ученых к проблеме транслокации объясняется предполагаемой возможностью проникающих бактерий и токсинов вызывать септические осложнения. Соответственно, очень важно изучение не только клинко-патогенетических механизмов БТ, но и микробиологических и иммунологических, а также исследования в области ранней диагностики формирования и развития БТ.

Анализ данных литературы в базе Pubmed показывает, что с каждым годом интерес учёных к проблеме транслокации микроорганизмов растет. Результаты поиска словосочетания «bacterial translocation» (всего в базе обнаружено 13375 публикаций, первая датируется февралем 1952 года, последняя – май 2018). Только за последние 5 лет выявлено свыше 3100 ссылок на публикации. В целом, тренд роста публикаций имеет восходящую экспоненциальную зависимость. Поиск выражения «bacterial translocation and bowel obstruction» – 140 ссылок, 62 (44,3%) из которых, приходится на последние 10 лет.

За последние 20 лет, ссылки на публикации работ по данной теме из Казахстана не обнаружено. При поиске сочетания «bacterial translocation and biomarkers» найдено 437 ссылок, 288 (65,9%) из которых относятся к периоду последних 10 лет, что с одной стороны подтверждает рост зарубежных

исследователей всего мира к изучаемой проблеме, с другой стороны свидетельствует о крайне недостаточном исследовании проблемы в нашей стране.

В качестве биомаркера бактериальной транслокации используют уровень липополисахарид-связанного протеина (LPS-binding protein или LBP) и прокальцитонина (PCT) [6].

Для подтверждения этиологической роли конкретных микроорганизмов при транслокации необходимо параллельное изучение биомаркеров в крови и микрофлоры в кишечнике, а также в перитонеальном выпоте с помощью иммунологических и микробиологических методов исследований.

Решению этих задач и посвящено данное диссертационное исследование.

Цель исследования - изучить в эксперименте влияние острой тонкокишечной непроходимости на уровень энтерогематической и энтероперитонеальной транслокации микроорганизмов.

Задачи исследования

1. Разработать экспериментальную модель острой тонкокишечной непроходимости у лабораторных животных (крысах) для изучения кишечной транслокации микроорганизмов.

2. Изучить динамику внутрибрюшного давления при острой тонкокишечной непроходимости в разные сроки ее развития.

3. Изучить динамику биомаркеров энтерогематической транслокации микроорганизмов при острой тонкокишечной непроходимости.

4. На основании микробиологических исследований, провести детекцию энтероперитонеальной транслокации микроорганизмов в динамике развития острой тонкокишечной непроходимости.

Научная новизна

Разработана модель острой тонкокишечной непроходимости у крыс (свидетельство о государственной регистрации прав на предмет авторского права № 278 от 15.02. 2017 года «Моделирование острой кишечной непроходимости в эксперименте») (Приложение Г).

Впервые на предложенной модели изучена динамика внутрибрюшного давления при острой тонкокишечной непроходимости в разные сроки ее развития.

Впервые показана динамика прокальцитонина и липополисахарид-связывающего белка, как биомаркеры энтерогематической транслокации микроорганизмов при острой тонкокишечной непроходимости.

Впервые на оригинальной модели, проведена детекция транслокации кишечной флоры в брюшную полость, через физически герметичную стенку кишки.

Практическая значимость

Разработанная модель острой тонкокишечной непроходимости может быть использована в различных экспериментальных исследованиях для изучения основных патогенетических механизмов развития заболевания и его осложнений.

Мониторинг внутрибрюшного давления, может быть использован в клинической практике, для диагностики осложнений острой кишечной непроходимости.

Результаты исследования позволяют рекомендовать прокальцитонин и липополисахарид-связывающего белок, для детекции энтерогематической транслокации микроорганизмов, при острой тонкокишечной непроходимости в эксперименте.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанная модель острой тонкокишечной непроходимости не приводит к развитию некроза и перфорации в зоне обтурации на протяжении 7 суток, проста в исполнении и хорошо воспроизводится с получением стандартного результата.

2. Резкое повышение внутрибрюшного давления отмечается с первых суток развития острой тонкокишечной непроходимости, достигая максимального значения на 7 сутки.

3. Биомаркеры прокальцитонин и липополисахарид-связывающего белок являются ранними показателями наличия транслокации кишечной микрофлоры в системный кровоток при острой тонкокишечной непроходимости.

4. Наиболее часто, энтероперитонеальная транслокация выявляется на 3 и 5 сутки развития острой тонкокишечной непроходимости (44% и 45,8% соответственно), при этом в спектре микроорганизмов преобладают грамотрицательные бактерии родов *Escherichia* и *Klebsiella*, суммарная доля которых, составляет 93,7%.

Внедрение результатов исследования

Метод измерения внутрибрюшного давления, экспериментальная модель острой тонкокишечной непроходимости, методика аспирации крови из сердца у крыс внедрена в лаборатории коллективного пользования научно-исследовательского центра Карагандинского государственного медицинского университета. Внедрение результатов подтверждено актами о внедрении (Приложение В).

Личный вклад автора. Автором разработана экспериментальная модель острой кишечной непроходимости, выполнена экспериментальная часть исследования, проведено измерение внутрибрюшного давления, забор материалов для микробиологического и иммунологического исследований. Самостоятельно проведен сбор и обработка материала, анализ, обобщение результатов исследования и их описание, написаны все главы диссертационной работы. Обработан и проанализирован лично автором в объеме 80%.

Апробация работы. Основные положения исследования доложены на Critical Surgical Abdomen Consensus Conference (Dublin, Ireland, 2016 г); XXXI International Congress of the international Academy of pathology and 28th Congress of the European Society of Pathology (Cologne, Germany, 2016 г); European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (Vienna, Austria, 2017 г); Шведской ежегодной конференции хирургов «Kirurgveckan JKPG 2017» (Jönköping, Sweden, 2017 г.); XX международной медико-биологической

конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина - человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, Россия, 2017 г.); LVII научной конференции студентов и молодых учёных с международным участием, посвященной 60-летию Западно-Казахстанского государственного медицинского университета имени Марата Оспанова (Актобе, Казахстан, 2017 г.); Международной конференции молодых ученых и студентов «Мир науки и молодежь: тенденции и новые горизонты», (Караганда, Казахстан, 2017 г.); XIII Международной (XXII Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых учёных (Москва, Россия, 2018 г.); The international scientific conference for students and young researchers in English «Topical issues of medicine» devoted to the 80-th anniversary of Stavropol state medical university (Stavropol, Russia, 2018 г.); 72-ой Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Актуальные проблемы современной медицины и фармации» (Минск, Белоруссия, 2018 г.); The 53rd Congress of the European Society for Surgical Research (Madrid, Spain, 2018 г.); на заседании кафедры хирургических болезней № 2 (протокол №9, от 28.05.2018 г.); на заседании научно-экспертной комиссии хирургических дисциплин КГМУ (протокол №1, от 20.06.2018 г.).

Публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, из них: 3 публикации в научных изданиях Казахстана, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК; 2 публикации в научных изданиях России, рекомендованных ВАК РФ и имеющие не нулевой импакт-фактор РИНЦ; 1 свидетельство о государственной регистрации прав на предмет авторского права; 10 публикаций в материалах международных конференций; 2 публикаций в международном научном издании, входящем в информационную базу данных Clarivate Analytics и Scopus.

Объем и структура диссертации. Диссертация содержит 130 страницы машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, основной части (материалы и методы исследования, 2 глав собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций, 22 таблиц, 58 рисунков и списка литературы, включающего в себя 222 источников.

Данное исследование является фрагментом темы НИР КГМУ грантового финансирования МОН РК №ГР 0115РК00307 «Определение уровня значимости биомаркеров в прогнозировании развития осложнений, ассоциированных с интраабдоминальной гипертензией».

Данное исследование является фрагментом темы НИР с финансированием по внутреннему гранту КГМУ: «Изучение особенностей транслокации микроорганизмов в эксперименте на моделях острой обтурационной кишечной непроходимости», утвержденное решением Ученого совета от 23.06.2016 года.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Острая кишечная непроходимость (ОКН) – синдромная категория, объединяющая осложненное течение различных по этиологии заболеваний и патологических процессов, которые формируют морфологический субстрат ОКН.

ОКН долгие годы является актуальной и сложной проблемой неотложной абдоминальной хирургии. Общая летальность при ОКН, по данным доступных источников, составляет от 1,95 до 25% [7]. В России частота ОКН составляет примерно 5 заболевших на 100 тысяч человек, являясь причиной от 3 до 5% поступлений больных в хирургические стационары, что в целом соответствует данным зарубежных коллег [8, 9, 10]. Среди всех больных с механической кишечной непроходимостью острая тонкокишечная непроходимость составляет от 64,3 до 80% случаев и отличается более тяжелым клиническим течением и худшим прогнозом заболевания. Летальность при данной патологии по свидетельству разных авторов составляет от 5,1 до 8,4% [11, 12, 13, 14].

Частота ОКН из всех острых хирургических заболеваний органов брюшной полости составляет от 1,2 до 9,4% [15], относится к одному из наиболее сложных патологических процессов в экстренной хирургии, ввиду значительного числа послеоперационных осложнений и высоких цифр летальности.

Острая непроходимость тонкого кишечника неминуемо сопровождается избыточной бактериальной колонизацией (ИБК). Синдром ИБК – это патологическое обсеменение тонкой кишки устойчивыми и различными бактериальными популяциями, схожими по составу (количественному и качественному) с микрофлорой ободочной кишки и фекалий [16, 17]. Бактериологические исследования у больных с нарушенной моторной функцией тонкого кишечника дали возможность определить до 20 видов микроорганизмов с диапазоном бактериальных концентраций от 10^7 до 10^{12} КОЕ/мл [18]. Вместе с другими патогенетическими факторами, немаловажную роль в нарушении защитной функции кишечной стенки при острой непроходимости тонкого кишечника играет ИБК, благоприятствуя транслокации бактерий и токсинов из просвета кишечника во внутренние среды [16, с. 113].

1.1 Бактериальная транслокация. Механизмы и пути миграции

Впервые в 1881 году Дюрвандирингом была описана транслокация определенных представителей микрофлоры из кишечника.

В 1973 году Затула Д.Г. и Резник С.Р. в своих исследованиях экспериментально показали, что при пероральном введении *Bacillus subtilis*, происходит их транслокация в системный кровоток и различные органы животных [19, 20, 21]. Впервые термин «бактериальная транслокация» был введен в 1979 году Berg и Garlington, исследовавшими перемещение бактерий из желудочно-кишечного тракта в брыжеечные лимфоузлы гнотобиотических

мышей [22].

По Berg R.D. бактериальная транслокация (БТ) – это инвазия местных кишечных бактерий и их эндотоксинов из желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) через слизистую оболочку в стерильные ткани и внутренние органы – мезентеральные лимфатические узлы (МЛУ), печень, селезенку, кровоток и другие [22, с. 404]. Транслокацией называют пассаж жизнеспособных бактерий ЖКТ в стерильные (в норме) ткани организма. Термин также применяется для описания перемещения инертных частиц и антигенных макромолекул, например, липополисахаридов (ЛПС) и пептидогликанов, через слизистую оболочку кишечника [23].

На основании результатов исследования R.D. Berg [24] и литературных данных, основные факторы, способствующие БТ, это:

- 1) нарушения нормального экологического баланса тонкого кишечника, повышение концентрации бактерий (синдром ИБК);
- 2) нарушение проницаемости слизистой оболочки тонкого кишечника;
- 3) иммуносупрессия и иммунные дефициты организма [20, с. 41].

С одной стороны, известно участие кишечной микрофлоры в обеспечении колонизационной резистентности хозяина, в том числе активации его иммунной системы, участие в процессах пищеварения, в метаболических реакциях макроорганизма и в детоксикации различных эндогенных и экзогенных биологически активных веществ. С другой стороны, микробиоценоз кишечника может выполнять и негативную роль: аккумулятора возбудителей эндогенных инфекций, источника сенсibiliзирующих веществ и продуцента мутагенов, которые могут быть весьма опасны для макроорганизма [25].

Интерес ученых к проблеме трансинтестинальной транслокации объясняется предполагаемой возможностью проникающих бактерий и токсинов вызывать септические осложнения [26].

Основываясь на многочисленные литературные источники последних лет, в которых бактериальная транслокация играет важную патогенетическую роль [24, с. 8] в развитии эндотоксемии [27] при деструктивном панкреатите [28], острой непроходимости кишечника [29, 30], при перитоните [31], сепсисе [32, 33], патологии печени желчевыводящих путей [34, 35], обширных ожогах [36], длительном парентеральном питании [37] и других патологических состояниях. Также считается, что транслокация является фактором патогенеза нозокомиальных пневмонии [20, с. 41]. Неясным остается значение БТ, как фактора риска для реципиентов при трансплантации органов [38].

Таким образом, БТ может быть нормальным явлением, часто возникающим у здоровых людей без каких-либо пагубных для организма последствий. Но, может быть и источником самостоятельной бактериальной токсинемии, при таких факторах как: различные оперативные вмешательства на органы брюшной полости, критическое состояние иммунной системы, стресс, инфекционный процесс [39].

Значение эндогенной инфекции остается недооцененной и на сегодняшний день, так как считается, что причина контаминации раны возбудителями хирургической инфекции происходит из внешней среды (экзогенная инфекция) [25, с. 262; 40].

В 1986 году советские ученые Никитенко В.И. и соавторы [41] зафиксировали факт бактериальной транслокации из ЖКТ в рану и окружающие ткани. Благодаря этому, клиницисты пересмотрели свои убеждения о понятии «стандартная асептика и антисептика», так как речь шла об эндогенном инфицировании. Кроме того, у хирургических пациентов с кишечной непроходимостью, «внезапно» развился синдром ПОН без «явного» очага инфекции, который привел к увеличению летального исхода [42, 43, 44].

С. Wells и соавторы [45, 46] описывают существенное доказательство того, что бактерии имеют способность проникать в кровяное русло в течении 15-20 минут после введения. Но, в том же году ученые Смирнов В.В. и соавторы [47] доказали, феномен БТ у лабораторных мышей в более короткие сроки. Так, введенные в составе биопрепаратов бактерии были обнаружены в стерильных тканях и внутренних органах, через 2 мин от начала опыта. Также, Бердичевский Б.А. и соавторы описали процесс транслокации, путем введения меченых бактерии (аутоштамм кишечной палочки, меченый ³H-тимидином) в кишечник лабораторных животных. И буквально в первые же часы, наблюдалась элиминация меченых бактерии, через мочевые пути и раневые поверхности [48].

Огромный вклад в науку по изучению БТ у хирургических больных внес С. O'Boyle и соавторы [49]. «Microbiology of bacterial translocation in humans» - в данной работе, отмечено, что после проведения лапаротомии и различных хирургических вмешательств, у 448 пациентов при обследовании отмечалась транслокация микроорганизмов в МЛУ у 15,4% больных. У 74% больных развились септические осложнения, следствием которых явилась кишечная флора. Наиболее часто в (54%) высеивалась *E. Coli*. Также отмечено, что у 41% пациентов произошла транслокация микроорганизмов при дистальном отделе кишечной обструкции и это наиболее высокий процент БТ в сравнении с иной патологией брюшной полости.

Экспериментально доказано, что при БТ из ЖКТ в экстраинтестинальные участки имеют место быть установленные закономерности. Одна из таких закономерностей – «видоспецифичность». Всё же не все бактерии имеют способность к транслокации. Из аутофлоры в основном происходит транслокация таких микроорганизмов, как грамотрицательные бактерии – рода кишечная палочка, протеи, энтеробактер [50], из транзиторных штаммов – сенная палочка. Также определяются – грамположительные аэробы. Но, уровень транслокации облигатных анаэробов очень низкий [42, с. 6].

Четыре основных путей БТ через слизистые оболочки ЖКТ представил С.Н. Tancrede, А.О. Andremonet [51]: межклеточный, чрезклеточный, с помощью фагоцитоза и через дефекты эпителия. При этом на характер и интенсивность микробной транслокации влияет как вид микроорганизмов, адгезированных на

поверхности эпителиоцитов, их вирулентность, так и состояние защитных механизмов слизистой оболочки тонкой кишки.

Существует закономерность, что транслокация бактерии напрямую зависит от их популяции в кишечнике. По данным ученых Steffen E.K. и соавторы [52], а также Maejima K. и соавторы [53] доказано, что если концентрация бактерии в слепой кишке лабораторных животных достигает 10^8 - 10^9 КОЕ/мл, происходит транслокация из ЖКТ в брыжеечные лимфоузлы.

В своем исследовании Смирнов В.В. и соавторы [47, с. 58] определили, что у лабораторных животных развивается бактериемия, если перорально ввести минимальную дозу биопрепаратов (микробных тел), равную 5×10^6 /кг массы. При этом в системный кровоток проникает 0,1% от введенного объема и через 0,5-8 часов, в зависимости от дозы, происходит полное исчезновение жизнеспособных микроорганизмов из кровяного русла.

В 2002 году Deitch E.A. объяснил патогенез явление БТ, используя «модель три хита» [54]. В этой модели первым хитом является начальное повреждение приводит к висцеральной гиперперфузии пищеварительного тракта, который становится крупнейшим местом производства провоспалительных факторов. Вторым хитом является ишемия кишечника, при котором происходит потеря барьерной функции пищеварительного тракта и усиление воспалительного ответа. Третьим хитом является местная и системная воспалительная реакция, в следствия проникновения бактерий или эндотоксинов через барьер слизистой оболочки, которая приводит к синдрому системной воспалительной реакции организма (ССВР).

В другом исследовании при создании модели странгуляционной кишечной непроходимости и изучения БТ с применением меченых радиоактивным элементом бактерий *E. coli* ученые выявили, что источником бактериемии является микрофлора, как ущемленной петли, так и микрофлора отдела выше уровня странгуляции, при этом авторы не исключают роль увеличения проницаемости кишечной стенки, но в ходе проведенного ими исследования получены новые результаты об участии в процессе механизма перитонеальной резорбции.

В 2010 году, ученые Салато О.В. и соавторы, проводили сравнительное исследование БТ в эксперименте на интактных собаках и крысах в сравнении с смоделированной странгуляционной острой тонкокишечной непроходимостью. Исследование проводили с применением радиоактивным элемента (взвесь меченных *технецием-99* бактерий *E. coli*) при помощи динамической и статической сцинтиграфии, в первые 4 часа от момента моделирования. В ходе исследования авторы получили следующий результат: у интактных животных, кишечный барьер непроницаем для бактерий. А у животных, которым моделировалась странгуляционная тонкокишечная непроходимость, развилась системная из-за участия в процессе механизма перитонеальной резорбции [27, с. 193-194].

В своем исследовании Hofer U. et al. [55] провели эксперимент на мышах, в котором они оценивали степень БТ по уровню ЛПС в плазме крови при ВИЧ -

инфекции. Было установлено, что уровень ЛПС в крови может отражать состояние кишечного барьера и БТ.

Денисенко В.Л. и Гаин Ю.М. (2011) в эксперименте оценивали роль БТ в патогенезе обтурационной кишечной непроходимости. Эксперимент проводили на крысах с формированием низкой толстокишечной непроходимости, в результате которой развился тяжёлый перитонит и сепсис. Из различных отделов пищеварительного тракта таких как, толстая и тонкая кишка, желудок, а также брюшной полости, задней полой и воротной вены авторы исследовали видовой состав микрофлоры. И в результате, во всех отделах пищеварительного тракта наблюдается достоверный рост концентрации микробов на 4-е сутки. Содержание *E. coli* в желудке животного после моделирования кишечной непроходимости ($5,42 \cdot 10^5 \pm 0,55 \cdot 10^5$ КОЕ/мл.) против ($1,52 \cdot 10^5 \pm 0,55 \cdot 10^5$ КОЕ/мл.) у интактного животного, а также все микроорганизмы, выявляемые в просвете пищеварительного тракта и брюшной полости, были высеяны из просвета воротной вены (в концентрации от $1,78 \cdot 10^3 \pm 1,04 \cdot 10^3$ КОЕ/мл.). В результате эксперимента авторы пришли к выводу, что процесс БТ играет важную роль в развитии перитонита и сепсиса, прогрессирование индуцируемых ими дегенеративно-дистрофических изменений органов брюшной полости и тканей, а также полиорганной недостаточности (ПОН) [30, с. 93-95].

В 2012 году Григорьев Е.Г. и соавторы, исследовали роль БТ в формировании сепсиса при перитоните и странгуляционной кишечной непроходимости с применением меченных радиоактивным элементом *технецием-99m* бактерий *кишечной палочки*. Эксперимент проводили на крысах и собаках. Авторы установили, что источником бактериемии является микрофлора, как ущемленной петли тонкого кишечника, так и микрофлора отдела выше уровня странгуляции, а в условиях распространённого перитонита, БТ и процесс перитонеальной резорбции кишечной палочки развиваются с первых минут. На ранних сроках (0-6 ч.) заболевания формируется портальная бактериемия, при дальнейшем (6-12 ч.) развитии заболевания бактериемия приобретает системный характер. В своем исследовании авторы считают, что при распространенном перитоните перитонеальный механизм формирования абдоминального сепсиса заменяется на интестинальный [32, с. 49-55].

В.К. Гостищев, А. Н. Афанасьев, Ю.М. Круглянский, Д.Н. Сотников изучали БТ при ОКН в эксперименте на крысах и провели бактериологические исследования портальной и системной крови, перитонеального экссудата и определили данные биологические среды как основные маршруты распространения БТ [56].

Таким образом, выделяют энтерогематическую и энтероперитонеальную транслокацию.

Микроорганизмы, населяющие кишечник, находятся в постоянном взаимодействии между собой, так и между макроорганизмом. Эта сложившаяся система представляет собой некую экосистему, которая в условиях кишечной

непроходимости нарушается. Эти нарушения можно представить в виде нескольких последовательных звеньев. В результате нарушения перистальтики, происходит процесс «застаивания» кишечного содержимого, которая в свою очередь приводит:

- 1) к росту и размножению микроорганизмов;
- 2) к миграции микрофлоры, которая свойственна к дистальным отделам кишечника, и являющаяся чужеродной, к проксимальным отделам кишечника;
- 3) к нарушению проницаемости кишечной стенки из-за развивающейся циркуляторной гипоксии [57, 58].

С.А. Пашков (2004) в своем исследовании изучал интраперитонеальную транслокацию кишечной микрофлоры у 65 больных, прооперированных по поводу острой спаечной кишечной непроходимости (n=53) и ранней спаечной кишечной непроходимости (n=12). Уровень бактериальной обсеменённости проверяли путем микробиологического исследования перитонеального экссудата на флору и чувствительность к антибиотикам. Из 53 исследований перитонеального экссудата рост наблюдался у 42 (79,2%). При анализе микробиологического исследования, при острой спаечной кишечной непроходимости, в 20,8% случаев, экссудат был стерилен и в результате, авторы предположили, что с нарастанием патологических изменений в кишечной стенке и ростом внутрикишечного давления, происходит нарушение ее проницаемости, вследствие возникает экссудация жидкости в брюшную полость, а затем в условиях углубления патологических процессов возникает интраперитонеальная транслокация бактерий. Авторами была изучена зависимость уровня бактериальной обсеменённости от степени увеличения диаметра кишки, в результате пришли к выводам, что процесс интраперитонеальной транслокации бактерий при острой спаечной кишечной непроходимости начинается при увеличении диаметра кишки в 1,4 раза [59].

При энтероперитонеальной бактериальной транслокации в кишечнике накапливается большое количество жидкости, поступающей в результате экскреции из крови. Всасывание из растянутого сегмента кишки прекращается, кишечное содержимое инфицируется кишечной микробной флорой и становится источником токсинов.

Если внутрикишечное давление (ВКД) достигает уровня артериального давления, то происходит нарушение микроциркуляции кишечной стенки и возникает гангрена кишечной стенки. Вследствие резкого повышения проницаемости гангренозной кишечной стенки жидкость из просвета кишки устремляется в брюшную полость. С целью профилактики перитонита и уменьшения интоксикации очень важно быстро удалять эту жидкость из брюшной полости [60].

Также особый интерес представляет изучение энтерогематической транслокации. Изначальной локализацией бактерий являются МЛУ, из которых бактерии проникают в печень, затем в селезенку и в кровоток. Наряду с этим имеются временные закономерности транслокации, которые подтверждены

экспериментальным путем на лабораторных животных, но не доказаны у человека [61]. На характер БТ также может оказать влияние любая травма или воспалительный процесс не только в кишечнике, но и за его пределами. В экспериментах показано [54, с. 241-243], что транслокация в МЛУ в 1-е сутки определялась у 60%, на 3-й день – у 100%, на 7 сутки у 83% – после трансплантации кишечника у мышей. Так, удаление МЛУ предотвращает БТ при термической травме. Из лимфатической системы и печени, микробы могут проникать в кровь, достигая вновь очаг поражения, и локализуются в мертвых или жизнеспособных тканях [62]. При воспалительных процессах, основной путь БТ в системные органы проходит через воротную вену [63] а также посредством лимфатических узлов [64]. Бактерии и токсины попадая в системный кровоток через просвет кишечника, приводят к различным инфекционным осложнениям, в частности к сепсису и синдрому полиорганной недостаточности [65, 66]. Одна из теорий, подтверждающая происхождение сепсиса на фоне БТ, известна как «лимфатическая теория». Согласно ей, макрофаги и другие иммунные клетки в подслизистом кишечнике являются ловушками для большинства бактерий, проникнувших путем транслокации. Тем не менее, те бактерии, которые выживают наряду с цитокинами и хемокинами, полученными в кишечнике, активируют воспалительную реакцию, приводят к острому повреждению легких и образованию респираторного дистресс-синдрома взрослых [26, с. 520; 67, 68].

Llamas M.A. и др. (2010) в эксперименте на крысах получили, что портальная гипертензия является одним из ключевых факторов в возникновении процесса БТ в МЛУ. В своем эксперименте была группа крыс с искусственно созданной портальной гипертензией и группа ложнооперированных крыс. Через 48 часов в подвздошной кишке обеих групп наблюдалось снижение аэробных бактерий и лактобацилл. Через месяц наблюдается статистически значимое снижение количества лактобацилл, энтеро- и стрептококков в обеих группах. Авторы утверждают, что эти изменения связаны с БТ в МЛУ. (через 48 ч. (50%, $p = 0,004$) и 1 месяц (100%, $p < 0,001$) [69].

Так в 2014 году Nishigaki E. и соавторы изучали зависимость интраоперационной БТ в МЛУ с риском развития послеоперационных осложнений при эзофагэктомии. Были обследованы 18 пациентов, у которых были взяты лимфоузлы, кровь и слюна перед операцией и после для обнаружения бактерий при помощи полимеразной цепной реакции. В результате исследования было обнаружено, что количество бактерии в МЛУ (56%) и крови (56%), взятые после операции значительно превышали количество взятых до операции МЛУ (17%) и крови (22%). Частота обнаружения бактерий в мокроте в дооперационном периоде и после не отличались. Авторами была выявлена прямая зависимость обнаружения бактерий в крови и МЛУ с частотой возникновения послеоперационных осложнений [70].

Бактериальная интоксикация у пациентов при кишечной непроходимости, как правило, является эндогенной и возникает вследствие БТ и их токсинов в кровь из просвета кишечника и брюшной полости в условиях повышенного бактериального роста, нарушении барьерной функции кишечной стенки и брюшины [71].

Интерес ученых к проблеме трансинтестинальной транслокации объясняется предполагаемой возможностью проникающих бактерий и токсинов вызывать септические осложнения. Однако существуют доказательства того, что транслокация происходит и в норме, а септические состояния развиваются только при дефектах и перегрузке иммунной системы [23, с. 12; 26, с. 521].

1.2 Проблема подтверждения бактериальной транслокации. Маркеры бактериальной транслокации

При БТ бактерии из просвета кишечника проникают через слизистую оболочку трансцеллюлярным или парацеллюлярным путем. В слизистый кишечник, большинство бактерий захватывается макрофагами и микроорганизмы, которые не попали в портальную венозную систему и связанные с ней органы, переносятся в брыжеечные лимфатические узлы или непосредственно в брюшную полость. Для подтверждения БТ нужно определить бактерии в органах и тканях, но поскольку эта процедура инвазивная, то она вызывает некоторую сложность.

Наиболее надежным способом является установление БТ путем культивирования клеток МЛУ. Процедура проводится во время лапаротомии, нужно произвести ограниченный забор лимфоузлов с соблюдением асептики и в последующем культивировать в соответствующих условиях. БТ подтверждается наличием положительной культуры. Но эта методика имеет определенные минусы:

- 1) она может использоваться только у хирургических больных;
- 2) если забор проводится у человека, то число лимфатических узлов ограничено.

Поэтому в исследованиях используются непрямые методы оценки барьерной функции кишечной стенки, такие как выявление гемокультур, измерение кишечной проницаемости, наличие бактериальных эндотоксинов в крови и др. Все перечисленные способы являются косвенными и требуют корректной интерпретации [72].

Также для регистрации БТ в организме у человека и животных применяют следующие виды исследований: бактериологические [25, с. 263; 30, с. 91; 73], патоморфологические [30, с. 91], иммунологические [49, с. 29-30], микро- и ультраскопические [53, с. 6-7; 64, с. 129-130], электронная микроскопия [46, с. 25], а также радиологические методы [27, с. 192-193], в том числе, с использованием меченых бактерий [7, с. 23; 74].

Согласно современным представлениям существует 4 уровня БТ через кишечную стенку [75, 76]:

1) уровень – бактерии и их компоненты проникают в слизистую оболочку кишки (посредством диффузии, межклеточной абсорбции, эндоцитоза или фагоцитоза макрофагами).

2) уровень – бактерии и их компоненты проникают в мезентериальную лимфатическую систему и МЛУ.

3) уровень – бактерии и их компоненты достигают системный кровоток и обнаруживаются в некоторых органах.

4) уровень – иммунная система контактирует с бактериями и их компонентами, формируется системный воспалительный ответ.

На каждом из уровней мигрирующие бактерии и их компоненты контактируют с системой врожденного (неспецифического) иммунитета - toll-подобные рецепторы (TLR) и Nod-рецепторы – классы клеточных рецепторов, распознающие структуры микроорганизмов и активизирующие клеточный иммунитет [77]. Усиление синтеза toll-подобных рецепторов клетками эпителия кишечника приводит к синтезу провоспалительных цитокинов, апоптозу энтероцитов, миграции и пролиферации бактерий и соответственно к бактериальной транслокации [46, с. 32].

Бактериологическое исследование проводят для выявления наличия микроорганизмов в исследуемом материале, определения вида и их концентрации. Но имеется и недостаток данного метода. Так, при посевах образцов выявляются микроорганизмы, которые не утрачивают свою способность к росту и находятся в большой концентрации в исследуемом материале. После чего, происходит процесс транслокации во внутренние среды организма (кровь, лимфа) и подвергаются атаке со стороны иммунной системы. Следовательно, выявить системную бактериемию, даже при наличии бактерии в кровотоке, не всегда удается. Примером бактериологического метода является работа Б.И. Пеев и соавторы (2009), в котором авторы изучали избыточную бактериальную колонизацию (ИБК) и выявляли частоту БТ, в зависимости от состояния моторно-эвакуаторной функции тонкой кишки в послеоперационном периоде. В частности, у больных с острой тонкокишечной непроходимостью изучался состав (количественный и качественный) и наличие бактерии в портальной венозной крови. В результате уровень бактериальной обсемененности превышал физиологические границы и варьировал в тощей кишке от 6,9 до 7,1 LgКОЕ, в подвздошной – от 8,8 до 8,6 LgКОЕ. В образцах, полученных из тощей кишки, культивировались до 2-3 видов, а из подвздошной кишки до 4-5 видов бактерии. Культивированные бактерии были представлены следующими видами: кишечной палочкой, энтеробактером, клебсиеллой, протеом, энтерококками, пептококком, бактероидами. Показательным индикатором несостоятельности энтерального барьера оказалась портальная бактериемия. В ходе исследования авторы пришли к выводам, что частота развития БТ зависит от бактериальной обсемененности тощей кишки и величины внутрибрюшного давления (ВБД) [29, с. 114-115].

Патоморфологический метод исследования более информативен в плане патогенеза заболевания, позволяет оценить структурные изменения во

внутренних органах и тканях (стенка тонкой кишки, МЛУ, печень, брюшина) причиной, которой, явилась БТ. Но, о самой БТ дает лишь косвенную информацию.

Микро и ультразвуковыми методами, возможно, определить структурные изменения на тканевом уровне, обусловленные процессами распространения бактерий [78]. Так в исследовании, S. Samell и соавторы (2002), изучали процессы БТ при ОКН с использованием прижизненной микроскопии посредством *E. coli* с внедренным зеленым флуоресцентным белком [79]. В результате исследования авторы наглядно показали процесс транслокации бактерий через кишечный барьер. Однако, недостаток данного метода - это ограничение области изучения, поскольку он предполагает исследование процесса БТ лишь на ограниченном участке.

В настоящее время широко используется метод маркировки бактериальных клеток радионуклидами, а именно *технецием-99m*. Ярким примером данного метода является работа Ю.М. Галева и соавторы (2005) в котором изучали процесс БТ на собаках с использованием меченных *технецием-99m E. coli* методом сцинтиграфической оценки. В результате авторы пришли к следующему, что сцинтиграфия, с бактериальным радиопрепаратом позволяет визуализировать процессы БТ и исследовать закономерности развития сепсиса «кишечного происхождения» при интраабдоминальной хирургической патологии. Выявили отличия в механизмах генерализации инфекционного процесса за счет БТ при разных формах острой непроходимости кишечника. При обтурационной острой непроходимости кишечника БТ возникает в терминальной стадии заболевания, при которой развивается бактериемия в портальной системе. Странгуляционная острая непроходимость кишечника характеризуется ранней генерализацией инфекционного процесса за счет транслокации кишечной микрофлоры из просвета кишечника в полость брюшины с последующей резорбцией бактериальных тел и их токсинов с развитием системной бактериемии [80].

Иммунологические методики основаны на известном факте, что IgA, продуцируемый В-лимфоцитами, нейтрализует токсины и микроорганизмы и предотвращает их адгезию и колонизацию, способствуя их фагоцитозу макрофагами и лейкоцитами. Тем самым, предотвращает проникновение клеток бактерии и их фрагментов через барьер слизистой оболочки ЖКТ. Таким образом, по уровню содержания IgA в просвете кишечника, можно судить о состоятельности «секреторного» защитного механизма иммунной системы, и косвенно, о степени БТ в кровяное русло [78, с. 19].

Перспективным подходом в определении инфекционного агента можно считать активно развивающийся метод ПЦР, однако, в настоящее время, ПЦР не всегда доступна в рутинной клинической практике [81].

В связи с этим, актуальность поиска новых лабораторных методов диагностики сепсиса и бактериемии, которые дадут возможность объективной оценки эффективности проводимой терапии, позволят спрогнозировать исход

септического процесса на патогенетическом уровне, обусловлена запросами клиники [82].

«Золотым стандартом» диагностики системной миграции инфекционных агентов по сегодняшний день остается микробиологическое диагностирование. Но, как было сказано выше, в связи с тем, что процесс диагностики и верификации возбудителя занимает длительное время, а также с тем, что возможен ложноотрицательный результат гемокультуры, в настоящее время принято исследование крови с помощью биохимических маркеров.

Само понятие «биомаркер» - это качественный и количественный индикатор различных физиологических механизмов и процессов в норме и патологии или эффективности проводимой терапии.

Работы по разработке и исследованию множества биомаркеров берут свое начало с 1992 г.

Множество исследований, посвященных поиску наиболее информативных биомаркеров, своей целью ставили изучение их прогностической и диагностической ценности у больных с той или иной степенью тяжести системного воспаления. Самое большое количество научных разработок посвящено изучению и определению уровня С-реактивного белка, лейкоцитарной формуле крови, прокальцитонина, цитокинов. Липополисахарид-связывающему белку уделено меньше внимания в клинических исследованиях [83].

В экспериментальных исследованиях бактериальной транслокации при моделировании на животных кишечной обструкции, изучались такие маркеры транслокации, как СРБ, который как выяснилось, является неселективным и неспецифическим показателем, но является достоверным маркером «плотности» потока транслокации в течении интестинальной обструкции [84].

Самые главные характеристики, которые определяют биомаркер – это его «чувствительность, специфичность и прогностическая ценность».

Концепция SMART, предъявляемая к биомаркерам, включает в себя:

- S – specific and sensitive – чувствительный и специфичный;
- M – measurable – измеряемый;
- A – available and affordable – доступный;
- R – responsive and reproducible – воспроизводимый;
- T – timely - своевременный [85].

По данным свойствам все биомаркеры можно разделить на три группы:

- диагностические;
- прогностические;
- маркеры патологического процесса [81, с. 2297].

Анализ публикаций за последние десятилетия, проведенный группой исследователей во главе с V. Ciriello, по вопросам диагностики сепсиса, позволил разработать клинические рекомендации по использованию тех или иных биомаркеров в клинической практике.

По результатам данного исследования все известные биомаркеры наличия в крови инфекционного агента, были разделены на 5 категорий по уровню обоснованности и наличия доказательной базы:

- «Есть убедительные доказательства более чем в 2 когортных научных исследованиях». В данную категорию авторы внесли прокальцитонин и С-реактивный белок.

- «Умеренный уровень доказательности (есть 1 когортное исследование и несколько исследований типа «случай-контроль»)». На данном уровне расположен интерлейкин-10.

- «Уровень доказательности ограничен, проведено 1 когортное исследование или 1-2 исследования «случай-контроль». К ним относят цитокины, ИЛ-1, ФНО- α и т.д. Для оценки данных показателей главная трудность заключена в отсутствии необходимого оборудования.

- «Противоречивые данные». К данной категории авторы отнесли ИЛ-6, гликопротеин массой 22-29 кДа и др.

- «Нет достаточных данных». Эта категория наиболее интересна и перспективна в исследовательском плане, т.к. включает в себя множество новых малоизученных маркеров (липополисахарид-связывающий белок – LBP, sCD-14 и др.), но на сегодняшний день, возможности для изучения данной категории уже существуют [86].

Традиционно широко применяемые биомаркеры – это цитокины, С-реактивный белок (СРБ), ПКТ, пресепсин (ПСП), липополисахарид-связывающий белок (ЛСБ) и другие.

С-реактивный белок (СРБ) был открыт в 1930 году, когда при изучении белков сыворотки крови обнаружилось, что один из них содержался только в плазме пациентов, имевших острые заболевания. СРБ состоит из 5 одинаковых субъединиц, нековалентно связанных между собой - отсюда и название – пентраксина [87, 88, 89]. И считается главным ранним маркером острой фазы воспаления, как «стерильного», так и инфекционного, повышение которого достигает пика через 12–24 часов [90]. При этом он может оставаться повышенным в течение нескольких дней, даже после удачного контроля над очагом на фоне благоприятного течения процесса [91, 92].

Цитокины – это полипептиды или белки с молекулярной массой 5-50 кДа. Многочисленные исследования показали, что самое раннее повышение как при развитии системных инфекций, так и при «стерильных» воспалениях демонстрируют такие провоспалительные цитокины, как фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α), интерлейкин-6 (ИЛ-6), ИЛ-10, уровни которых достигают пика через 2-4 ч [81, с. 2296; 93, 94, 95]. ИЛ-6 относят к провоспалительным цитокинам. Зрелый секреторный ИЛ-6 включает 184 аминокислотных остатка и имеет молекулярную массу 21 кДа. Он продуцируется многими клетками (моноцитами, макрофагами и эндотелиальными клетками), и его продукция происходит под влиянием различных стимулов, включая провоспалительные медиаторы и эндотоксин. Несмотря на короткий период полураспада, реагирование на не бактериальные

стимулы ИЛ-6 рассматривают как один из самых перспективных маркеров тяжести воспалительного процесса [91, с. 23; 92, с. 108].

Существуют две формы TNF – трансмембранная форма «про-TNF» (26 кДа) и зрелая секреторная форма (17 кДа), которые продуцируются макрофагами, нейтрофилами и другими клетками. TNF и его рецепторы, играют важную роль в защите организма от внутриклеточных инфекции, туберкулеза. Введение TNF повторяет все признаки септического шока в организме, соответственно, большая выработка TNF характерна для септического шока [96].

Интерлейкин-6 – относится к противовоспалительным цитокинам, гликопротеиновой природы, который продуцируют Т и В-лимфоциты. По некоторым данным, ИЛ-6 является наиболее информативным в диагностике и прогнозировании риска летальности при абдоминальном сепсисе, чем РСТ и СРБ [97]. По своей биохимической структуре ИЛ-6 является гликопротеином с молекулярной массой 22-30 кДа. Как было сказано выше, ИЛ-6 вырабатывается лимфоцитами и клетками эндотелиальной системы. ИЛ-1 β ФНО- α , ЛПС и другие структурные элементы бактериальной и вирусной природы, стимулируют синтез ИЛ-6. В свою очередь, ИЛ-6 активирует синтез белков острой фазы воспаления, усиливает пролиферацию клеток лимфатической системы, дифференцировку Т-киллеров, и непосредственно запускает функцию НК-клеток [86, с. 1683].

Несмотря на то, что некоторые исследователи предлагают использовать ИЛ-6 как биомаркер сепсиса и прогноза летальности, нельзя сказать, что он обладает достаточной специфичностью, так как ряд других научных работ достоверно указывает на то, что повышение концентрации ИЛ-6 может наблюдаться и при инсультах, и при хирургической травме без инфекционных и септических осложнений [98]. Таким образом, ИЛ-6 может выступать маркером ежедневного контроля ССВР и прогностически значимого показателя развития осложнений, но его значение, как основного диагностического биомаркера, довольно противоречиво.

Интерлейкин-10 также, как ИЛ-6, относится к наиболее важным противовоспалительным цитокинам, который оказывает противовоспалительное и антицитокиновое действие [99]. ИЛ-10, представляет собой продукт различных популяций Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, макрофагов, моноцитов, тучных клеток [100] и является гомодимером, который состоит из 160 аминокислотных остатков. Эффекты ИЛ-10, реализуются через комплекс клеточных рецепторов, расположенных на поверхности многих клеток. Основной целью ИЛ-10 являются базофилы, тимоциты, субпопуляции Т-лимфоцитов, моноциты, макрофаги, антиген-презентирующие клетки и лимфоциты. ИЛ-10 ингибирует воспаление путем подавления синтеза цитокинов Т-хелперов, хемокинов, адгезионных молекул, интерлейкинов-1,6, ФНО- α и других молекул. Подавляет эффекторные функции макрофагов, Т-киллерных клеток, нейтрофилов, синтез интерферона. ИЛ-10 усиливает генез и пролиферацию тимоцитов, В-лимфоцитов и секрецию иммуноглобулинов [101,

102]. В экспериментальном исследовании роли интерлейкина-10, было изучено его противовоспалительное действие [103]. Но, главное действие ИЛ-10 – это ограничение воспалительного процесса и купирование воспаления.

Существует мнение, что ИЛ-10, является фактором, повышающим риск развития инфекционных осложнений после травмы. У пациентов с сепсисом, отмечается повышение концентрации ИЛ-10, но, большая мобильность значений данного показателя (быстрое повышение и снижение уровня значений), в течение короткого времени после появления симптоматики сепсиса, делает его использование достаточно сложным, ввиду ошибочной интерпретации данных [86, с. 1690].

Липополисахарид-связывающий белок (LBP) – относится к категории «недостаточно данных» по классификации Ciriello, но, на настоящий момент, исследования в этом направлении, говорят о перспективности данного маркера в лабораторной диагностике.

Непосредственно сам липополисахарид бактерий, является мощным активатором воспалительной реакции, обуславливающим их эндотоксемическое действие [104].

LBP, синтезируется клетками печени и энтероцитами, и представляет собой пептид, с молекулярной массой 58-60 кДа клеток [105].

LBP относится к белкам острой фазы воспаления. Основным механизмом действия LBP – связывание его с липополисахаридом бактериальной стенки (LPS), с последующим катализированием образования мономеров. LPS является компонентом клеточной стенки Гр (-) бактерий и в своей структуре содержит 3 основные части:

- липид А – который является эндотоксином;
- олигосахаридного остова;
- О-специфичной полисахаридной цепи.

Из всех составляющих, наибольший практический интерес вызывает липид А – как наиболее постоянная часть LPS, и имеющая похожее строение у большинства изученных микроорганизмов. Базисным элементом липида А, является обычно дисахарид, состоящий из двух остатков D-глюкозамина. Синтез LPS грамотрицательных бактерий, проходит на цитоплазматической мембране, после чего, он доставляется к своей локальности на внешней мембране. Структура цепи LPS, определяет специфичность иммунного ответа макроорганизма на инфекцию конкретным штаммом бактерий [106]. Концентрация LPS в крови увеличивается при повышении проницаемости кишечного барьера, что в свою очередь, в норме, связано с процессом старения, а в патологии, с ускоренным повышением проницаемости и массивной транслокацией бактерий [107].

LBP организует перенос ЛПС бактерий на антиген фагоцитов CD14, который является для них рецептором. Также, LBP обеспечивает связывание ЛПС с растворимой формой белка CD14 - sCD14, что приводит к утрате активности эндотоксином. Есть теория, что данная стадия сопровождается

дизинтеграцией комплексов молекул ЛПС [108], повышением агрессии эндотоксина и чувствительности иммунных клеток [105, с. 949].

В течение последующего этапа, происходит представление ЛПС миелоидному фактору дифференциации MD2, который связан с рецептором TLR-4 (толл-подобный фактор), который находится на поверхности лейкоцитов и макрофагов, и является ключевым фактором, активирующим неспецифическую защиту от чужеродных агентов. Сам по себе, этот рецептор не способен распознавать липополисахарид, без чего, он не может выполнять свою основную функцию и связываться с ним напрямую [109]. И как раз на этом этапе ключевую роль выполняет LBP, который обеспечивает связь бактериального эндотоксина ЛПС с белками-рецепторами. В течение этого этапа рецептор TLR-4 распознает патологический агент и запускает сигнал для активации. Каскад реакций, сопровождающий данный процесс, заканчивается активацией ядерного фактора транскрипции NF-kb и стартом синтеза противовоспалительных медиаторов, функция которых, направлена на элиминацию патогена из макроорганизма [110].

С возрастом, уровень содержания LBP повышается, чему во многом способствует ожирение, лишний вес, наличие метаболического синдрома X. При повышении уровня липопротеинов высокой плотности, содержание LBP снижается [108, с. 2].

В норме содержание LBP составляет 5-10 мг/л., но при травмах, ССВР и сепсисе его концентрация может возрасти почти в 10 раз. Ряд исследований биомаркеров доказали, что LBP является лучшим маркером неонатального сепсиса, чем ИЛ-6 и PCT [111]. В других исследованиях, были получены результаты, что сочетанная диагностика ИЛ-6 и LBP у взрослых, обеспечивает наиболее информативную диагностику сепсиса, чем диагностика, основанная только на определении PCT [112].

Но, тем не менее, определение только LBP недостаточно для дифференциации ССВР и сепсиса. Роль LBP как биомаркера эндотоксинемии и сепсиса [113], обусловлена его способностью связываться с компонентами Гр (+) микроорганизмов и возбудителей грибковой природы, а также его ключевой функцией участия в запуске врожденного ответа иммунитета, на присутствие эндотоксина бактериальной природы [105, с. 950; 114, 115]. В настоящее время, есть ряд работ, доказывающих роль LBP в диагностике инфекционного эндокардита и контроля терапии данного заболевания [116].

Прокальцитонин (PCT) – полипептид с молекулярной массой 14,5 кДа, состоящий из 116 аминокислот [85, с. 12]. PCT, который был открыт в 1984 г., и является предшественником кальцитонина, пептидного гормона парафолликулярных клеток щитовидной железы, не имеющим собственной функции. При массивном воспалительном инфекционном процессе, вызванном бактериальной и грибковой микрофлорой, уровень PCT повышается без дальнейшего повышения уровня кальцитонина. Также было доказано, что при обширной воспалительной реакции инфекционного генеза PCT вырабатывается разными типами клеток вне щитовидной железы. Этот процесс запускается

после появления в крови большого количества провоспалительных цитокинов [87, с. 35-36; 88, с. 48; 117]. PCT при инфекциях достигает своего максимума через 8–12 часов и затем, если воспаление «стерильное», снижается, а если развивается системное инфекционное – повышается, и далее, в зависимости от динамики развития инфекционного процесса, повышается или снижается [118, 119].

В норме концентрация PCT в плазме крови ниже 0,1 нг/мл., но при тяжелых бактериальных инфекциях, может повышаться более чем 100 нг/мл. Увеличение продукции PCT, отмечается при введении некоторых провоспалительных цитокинов (ИЛ- 2, ИЛ-6, ФНО- α). Время полувыведения PCT равно 36-48 часам, что позволяет ему длительно находиться в кровотоке. Например, при сепсисе, цитокины не определяются в крови уже через сутки, тем самым PCT, подтверждает свою диагностическую ценность. Таким образом, можно полагать, что PCT более высокоспецифичен к структурным элементам бактерии, и менее специфичен для грибов и простейших [120].

Важно отметить, что при развитии инфекционного процесса отмечаются следующие особенности:

а) PCT при инфекции вырабатывается экстракратиреоидными органами (почками, клетками печени, мышцами, адипоцитами), а также различными типами клеток, в том числе и паренхимальными;

б) PCT, который циркулирует в крови, укорочен на 2 аминокислотных остатка с обоих молекулярных концов. Это соответствует участку от 2-го до 116-го остатков, который наблюдается у «тиреоидного» PCT;

в) эндотоксины индуцируют и стимулируют синтез PCT;

г) повышение уровней ИЛ-6 и ФНО-альфа, предшествует выбросу PCT в кровь;

д) повышение уровня PCT наступает почти сразу после пикового повышения уровня цитокинов [87, с. 36].

Если инфекция представлена микроорганизмами бактериального происхождения, то повышение уровня PCT более выражено, чем при инфекциях грибкового или вирусного генеза. PCT является наиболее диагностически точным маркером сепсиса и бактериемии, который существенно не изменяет свой индекс при проведении терапии противовоспалительными препаратами [121].

Также, PCT является крайне информативным маркером сепсиса в педиатрии, который позволяет четко отдифференцировать бактериальный процесс от процессов вирусной природы, а также отличить проявление синдрома системной воспалительной реакции от сепсиса [122].

Также в различных источниках изучалось прогностическое значение PCT в эксперименте. По данным исследования, которое заключалось в введении здоровым хомякам препарата человеческого PCT, не приводила к развитию негативных сценариев, в то время как у животных, с развившемся сепсисом, инъекция PCT повышала летальность почти в 2 раза [87, с. 3].

Оценка РСТ как прогностического маркера показала, что наиболее информативные данные концентраций РСТ в крови, появляются на 1 и 30 сутки после проведения вмешательства. Значение РСТ более 1,44 нг/мл является неблагоприятным прогностическим признаком [123].

Интерпретация данных значений РСТ:

- «Ложноположительный» результат измерения РСТ – может наблюдаться при массовой гибели клеток, которая происходит в результате травмы или вмешательства. При этом уровень РСТ быстро повышается, но при отсутствии инфекционного агента, снижается и возвращается к нормальным значениям через 3-5 дней. В течение этого периода трудно подтвердить или исключить диагноз сепсиса только на основании данного биомаркера [124, 125].

- «Ложноотрицательный результат» - может регистрироваться на ранней стадии начала инфекционного процесса, когда он имеет локализованный характер и уровень РСТ низкий, и при дальнейшем развитии сепсиса повышается медленно, что не позволяет отражать динамику процесса [126].

РСТ в большей степени отвечает всем требованиям, предъявляемым к биомаркером: он обладает стабильностью, воспроизводимостью, быстротой результата и доступностью применения.

Пресепсин (ПСП) – это белок (молекулярная масса 13 кДа), являющийся N-концевым фрагментом рецептора макрофагов CD14 [127]. Он был открыт в 2005 году японскими учеными. Но, как биохимический маркер уровня фагоцитоза был запатентован лишь в 2011 году [128, 129]. Его уровень в крови повышается уже через 1,5-2 часа после индукции фагоцитоза [117, с. 21]. CD14 – это белок, существующий в двух формах:

- 1) связанной с мембраной (mCD14) и присутствующей на поверхности макрофагов, моноцитов и гранулоцитов;
- 2) в растворимой (sCD14, s – soluble, растворимый), циркулирующей в кровотоке [128, с. 235].

При бактериальном воспалении mCD14 связывается с различными бактериальными лигандами:

- 1) компоненты грамотрицательных бактерий – липополисахарид (LPS, компонент клеточной стенки);
- 2) компоненты грамположительных бактерий;
- 3) компоненты грибов.

Также существует специальный LBP, который повышает эффективность такого связывания в 100–1000 раз [95, с. 5-6]. Выход mCD14 в кровоток и образование sCD14 связаны с инфекцией и с некоторыми другими патологическими состояниями. При активации бактериального фагоцитоза sCD14 и mCD14 расщепляются лизосомальными протеиназами (катепсином D) с образованием фрагмента, исходно названный sCD14-subtype (sCD14-ST), позднее, переименован в пресепсин [128, с. 236; 130, 131]. Доказано, что его уровень повышается при инфекции. ПСП специфически продуцируется при сепсисе, связанном с бактериями (грамотрицательными и

грамположительными), с грибами, но, не продуцируется при вирусных инфекциях [132].

Транслокация микрофлоры из просвета кишечника встречается при различной хирургической патологии. Предполагают связь этого феномена с развитием ССВР, сепсиса и ПОН. При транслокации кишечной микрофлоры, развивается большинство госпитальных инфекции, хотя точную сферу действия транслокации у хирургических пациентов, трудно установить [71, с. 15]. Как правило, у больных с непроходимостью кишечника и иммунодефицитом, БТ встречается очень часто, и является причиной последующего сепсиса [133]. Возникает особый интерес изучения РСТ и LBP, как маркеров БТ, являющейся одним из механизмов развития сепсиса, ПОН, перитонита и многих других осложнений при кишечной непроходимости.

1.3 Организация иммунной системы тонкой кишки и ее роль в защите от БТ

Одной из важных ролей в развитии гнойно-септических осложнениях при ОКН, уделяется иммунным нарушениям. Благодаря иммунной системе, в тонком кишечнике, формируется защитный барьер, от воздействия патогенной и условно-патогенной флоры [134]. В свою очередь, ЖКТ человека препятствует проникновению различных видов бактерии, пищевых антигенов, вирусов, из полости тонкого и толстого кишечника, во внутреннюю среду организма. Нарушение барьерной функции кишечника, в силу врожденных или приобретенных факторов, может стать причиной развития различных патологических состояний [135]. Не менее актуальной является и проблема нарушения барьерной функции в хирургической практике. Существует общепринятое мнение, что острая хирургическая патология органов брюшной полости, рассматривается как синдром кишечной недостаточности (СКН). Так, например, при парезе кишечника, нарушается транзит кишечного содержимого, меняется концентрация и состав (внутрипросветной и пристеночной) микрофлоры, нарушается барьерная функция кишечника, способствуя БТ и их токсинов, в системный кровоток и в просвет брюшной полости. Тем самым, ЖКТ при СКН, становится источником эндогенной интоксикации, бактериальной и дисметаболической природы [136].

Главными компонентами кишечного барьера являются: муцин, плотные контакты между эпителиоцитами и иммуноциты кишки. Назначение его в том, чтобы способствовать переходу нутриентов во внутреннюю среду организма и препятствовать проникновению болезнетворных микроорганизмов и вредных веществ [137].

Одним из наиболее значимых компонентов защиты слизистой оболочки, является, увлажнение ее поверхности слизью (первая линия физиологической защиты). Слизь, продуцируется бокаловидными клетками в виде непрерывного гетерогенного слоя высокогликозилированных белков [138]. Другую линию защиты слизистой оболочки составляет эпителиальный барьер. Эпителий кишечника, который отделяет просветное содержимое от подлежащей

слизистой оболочки, состоит из энтероцитов (93–95% клеток), секретирующих слизь бокаловидных клеток (3–5% клеток) и энтероэндокринных клеток, вырабатывающих желудочно-кишечные гормоны (1-2%). Апикальные поверхности эпителия выступают в качестве защитного механического барьера от патогенных факторов (чужеродные агенты, микроорганизмы, токсины), присутствующих в просвете кишечника [139]. Специфическим фактором защиты кишечника являются антитела, относящиеся к классу секреторных иммуноглобулинов (sIgA), содержание которых в несколько раз выше, чем иммуноглобулинов других классов. К типичным эффектам относят ограничение микробной адгезии к эпителиальным клеткам, нейтрализацию токсинов вирусов и усиление совместных действий с другими антибактериальными факторами (лизоцим, лактоферрин, пероксидаза, муцин) [138, с. 27-28].

Очень важную роль в образовании и сохранении целостности эпителиального кишечного барьера принадлежит собственной индигенной микрофлоре кишечника. Кишечная микробиологическая экосистема ответственна за ряд функций, имеющее важное значение для нормального функционирования организма. Нормальная микрофлора кишечника представляет собой определенную экологическую систему, которая выполняет различные функции в организме человека. В двенадцатиперстной, тощей и начальных отделах подвздошной кишки общее число бактерий составляет 10^3 - 10^4 клеток в 1 грамме кишечного содержимого. В дистальных отделах тонкой кишки концентрация микроорганизмов возрастает до 10^5 - 10^9 клеток в 1 гр. и в толстой кишке популяция анаэробов увеличивается до 10^{12} клеток на 1 грамм содержимого кишечника [34, с. 74].

Нормальная микрофлора ЖКТ условно подразделяется на облигатную (главную, резидентную, индигенную, аутохтонную), которая и составляет основу биоценоза; факультативную (сапрофитную и условно-патогенную) и транзиторную (случайную). В состав облигатной микрофлоры входят:

- 1) анаэробы (бифидобактерии, пропионобактерии, пептострептококки);
- 2) аэробы (лактобактерии, энтерококки, эшерихии).

В состав факультативной микрофлоры входят:

- 1) сапрофиты (бактероиды, пептококки, стафилококки, стрептококки, дрожжевые грибы);
- 2) аэро, анаэробные бактерии.

К условно-патогенной микрофлоре относятся представители кишечных бактерий: клебсиеллы, протеи, цитробактеры, энтеробактерии и др. [17, с. 15; 140, 141].

Основная функция нормальной микрофлоры — это поддержка колонизационной резистентности организма, предотвращение развития патогенной и условно-патогенной микрофлоры. В случае нарушения этих механизмов возрастает численность и расширяется спектр патогенных микроорганизмов, в результате увеличивается их транслокация через

кишечную стенку, что может привести к развитию эндогенной инфекции или суперинфекции.

При развитии кишечной непроходимости, которая оказывает влияние на внутреннюю среду в кишечнике, тем самым изменяет состав микрофлоры, которая благоприятствует росту патогенных микроорганизмов, и в результате чего способствует БТ. В то же время, наличие портальной гипертензии приводит к отеку подслизистого слоя кишечника, что нарушает целостность защитного барьера слизистой оболочки. Все это приводит к дисбалансу микрофлоры кишечника, которая благоприятствует размножению грамотрицательных бактерий, а также увеличению эндотоксин-опосредованного повреждения слизистой, приводящие к нарушению их защитных свойств [142].

Из всех поверхностей, что контактируют с внешней средой, пищеварительный тракт имеет наибольшую поверхность более 400 м². В кишке локализованы около 80% всех иммунцитов, которые являются одним из компонентов кишечного барьера [137, с. 66].

В случае если бактерии и их токсины проходят слизистый и эпителиальный барьеры кишечника, они встречаются с огромным количеством специализированных макрофагов, препятствующих их проникновению в системный кровоток (рисунок 1) [143]. Отличие данных макрофагов от моноцитов крови и от макрофагов других тканей, заключается в том, что они не экспрессируют корецептор ЛПС (CD14), рецептор к кристаллизующимся (Fc) фрагментам иммуноглобулинов (CD89, CD16), к ИЛ-2 (CD25) и ИЛ-3 (CD123).

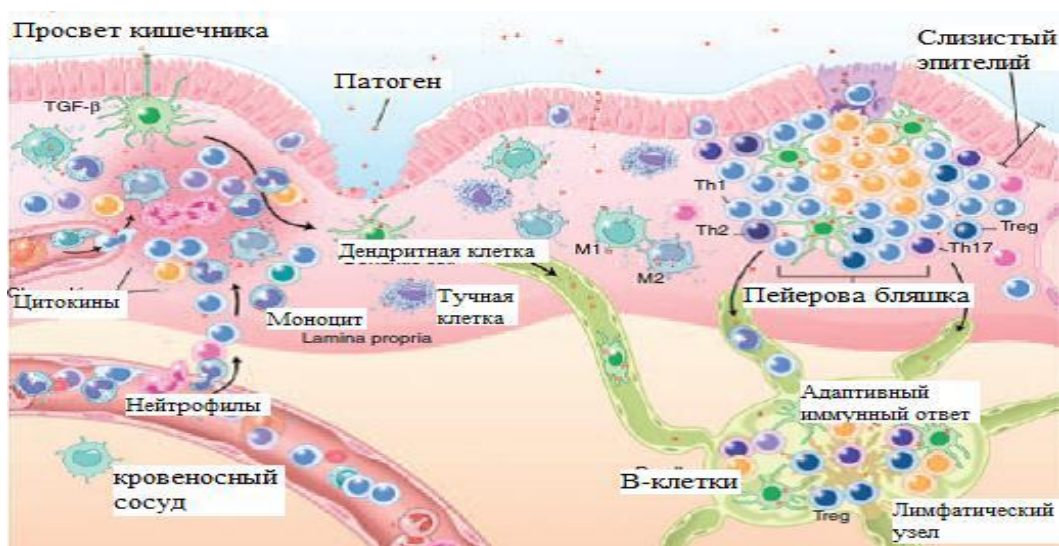


Рисунок 1 – Схема иммунного ответа организма на проникновение патогенов через слизистую оболочку кишечника [23, с. 14]

Отсутствие данных молекул функционально выражается в неспособности макрофагов кишечника реагировать на лиганды, стимулирующие моноциты крови и макрофаги других тканей. Макрофаги ЖКТ не продуцируют провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-1 и (ФНО-α), в ответ на

стимуляцию ЛПС. Тем не менее, эти клетки экспрессируют множество образ-распознающих рецепторов, включая TLR4, TLR2, TLR5 и TLR9, что дает им возможность распознавать и фагоцитировать бактериальные антигены.

Таким образом, макрофаги ЖКТ отличаются способностью элиминировать антигены без развития воспалительного ответа. В случае, если макрофагам не удастся задержать все бактерии и их токсины, таковые попадают в портальную вену и далее в печень, где подвергаются распаду клетками Купфера [23, с. 14; 144]. Все типы иммунокомпетентных клеток, включая Т-хелперы (CD4+), цитотоксические Т-лимфоциты (CD8+), секреторный IgA, «В-клетки» и аксессуарные клетки (макрофаги, дендритные клетки) присутствуют в индуктивном ответе, обеспечивая на начальных этапах запуск иммунных реакций. Немаловажное значение в осуществлении иммунной защиты слизистой играют именно Т-лимфоциты собственной пластинки, так как, они совершают постоянное маятникообразное движение в эпителиальный пласт и обратно, тем самым регулируя иммунную реакцию [134, с. 20].

Вследствие чего, можно выделить «первый рубеж» противoinфекционной защиты - это слизистая оболочка кишечника, «второй рубеж», который представлен МЛУ и «третий рубеж» заключается в ретикулоэндотелиальной системе печени (клетки Купфера).

На сегодняшний момент, несостоятельность кишечного барьера и всех звеньев противoinфекционной защиты при кишечной непроходимости вызывают особый интерес.

1.4 Факторы, нарушающие целостность кишечного эпителиального барьера

Понятие «проницаемость кишечного барьера» включает в себя возможность проникновения кишечной микрофлоры (микроорганизмов, макромолекул, микрочастиц) во внутреннюю среду организма. При повышении проницаемости слизистой оболочки, возникает такое состояние, как хронический воспалительный процесс, вследствие генетической предрасположенности и/или в результате контаминации микроорганизмами. Основными факторами, способствующими развитию воспалительных заболеваний кишечника, являются отсутствие толерантности к симбиотической микрофлоре, нарушение барьерной функции кишечника и иммунорегуляторных клеток. За счет своей взаимосвязи, они могут быть одновременно и причиной, и следствием [145, 146, 147].

Поврежденный кишечный эпителий теряет свои барьерные функции, что приводит к последующей транслокации кишечной микрофлоры во внутреннюю среду макроорганизма. Даже представители нормальной флоры, могут обуславливать состояние бактериемии и аутоиммунных процессов различной локализации, развивающихся на фоне иммунодефицитного состояния [50, с. 5-6; 148, 149].

1.4.1 Интраабдоминальная гипертензия и внутрикишечное давление

Один из патогенетических факторов острой непроходимости кишечника, приводящие к изменениям секреторной, всасывательной и барьерной функций кишечника является ВКД [150].

При непроходимости кишечника происходит нарушение двигательной функции кишечника, повышение ВКД, вследствие чего происходит застой кишечного содержимого, характеризующийся увеличением бактериального роста. Отрицательное действие внутрикишечной гипертензии (ВКГ) выражается в усугублении микроциркуляторных нарушений в результате сдавления капилляров, артерий, венул кишечной стенки [134, с. 25].

Так в своем исследовании Е.Е. Лукоянычев и соавторы (2011) определяли влияние ВКД на микроциркуляцию в стенке тонкой кишки при ОКН. Эксперимент проводили на 54 лабораторных животных. Измерение ВКД проводили по N.A. Stassen и соавторы [151]. В ходе эксперимента авторы выяснили, что ВКД, равное 5 мм.рт.ст., при тонкокишечной непроходимости сопровождается функциональными нарушениями микроциркуляции стенки кишки, без активации компенсаторных механизмов. При ВКД, равном 15 мм.рт.ст. и более, наступают декомпенсированные нарушения процессов спланхической микроциркуляции, в виде снижения перфузии — на 22,3% ($p=0,007$), модуляции кровотока — на 21,4% ($p=0,032$) и повышения вклада дыхательного компонента в перфузию — на 140,9% ($p=0,005$) [152].

В следующем году М.Г. Рябков и др. исследовали действие ВКД и ВБД на микроциркуляцию и необратимые трофические нарушения в стенке толстой кишки. Эксперимент проводили на 36 беспородных собаках. Авторами, в результате экспериментального исследования установлено, что важным механизмом патогенеза трофических нарушений в стенке толстой кишки при интракишечной и внутрибрюшной гипертензии (ВБГ) является застой в веноулярном звене МЦ-русла. Венозный застой вызывает развитие отёка с последующим сдавлением, ишемией тканей, нарушением оттока и замыканием порочного круга. При ВКД 5 мм.рт.ст. и 15 мм.рт.ст. развиваются значимые нарушения перфузии в стенке толстой кишки без включения компенсаторных механизмов. Декомпенсированные нарушения МЦ в стенке кишки развиваются уже при уровне ВКД 25 мм.рт.ст., они сопровождаются выраженными морфологическими нарушениями в виде венозной гиперемии и лейкоцитарной инфильтрации. Критический уровень ВБД, обусловленного энтеральной недостаточностью и парезом толстой кишки, составляет 13,2 мм.рт.ст. и требует активной, в том числе и хирургической, декомпрессии брюшной полости [153].

Повышение ВБД отрицательно отражается не только на органах брюшной полости, оно воздействует на весь организм больного в целом, в том числе и на головной мозг [154], приводя часто к ПОН. Повышение давления в брюшной полости замедляет кровоток по нижней полой вене и значительно уменьшает венозный возврат к сердцу; снижает кровоток по верхней брыжеечной артерии – как следствие, нарушается кровоснабжение слизистой

оболочки ЖКТ с возможным развитием некроза всех слоев кишечной стенки и перитонита. Потеря барьерной функции ишемизированной слизистой кишки усугубляет явление транслокации бактерий в лимфатические узлы, селезёнку, портальную систему, приводя к их прорыву в системный кровоток и брюшную полость, вызывая абдоминальный септический процесс [155, 156]. Установлено, что повышение уровня ВБГ более чем на 25 мм.рт.ст. в течение одного часа, сопровождается ускоренным поступлением кишечных бактерий в лимфу, портальный кровоток и брюшную полость. При ОКН весьма часто наблюдаются подобные проявления, как:

- 1) гипоксемия;
- 2) повышение центрального венозного давления и/или давления заклинивания легочной артерии;
- 3) гипотония и/или снижение сердечного выброса;
- 4) олигурия;
- 5) улучшение состояния пациента после декомпрессивной лапаротомии, которые свидетельствуют о возникновении синдрома внутрибрюшной гипертензии (СВБГ). В патогенезе ОКН большую роль играет повышенное ВБД, которое, в конечном счете, может привести к развитию СВБГ, и своевременная диагностика и оперативное вмешательство достоверно снижают частоту послеоперационных осложнений и уровень летальности при данном заболевании [157].

1.4.2 Циркуляторно-гипоксический фактор

Глубина нарушения микроциркуляции кишечника в первую очередь зависит от степени дилатации кишечной петли и характера сдавления сосудов в её стенке. Микроциркуляторное русло ЖКТ характеризуется высокой степенью насыщенности капилляров в тканях органа на всем его протяжении. В стенке выделяют подсерозное внутримышечное и подслизистое сплетения. Суммарный кровоток в слизистой оболочке и подслизистой основе составляет около 80% от общего кровотока [158].

В патогенезе ОКН одним из ключевых факторов прогрессирования и развития осложнений заболевания является синдром энтеральной недостаточности (СЭН), при котором происходит нарушение всех функций пищеварительного тракта, а кишечник становится основным источником интоксикации и развития ПОН. Главной причиной развития СЭН является выраженная регионарная ишемия и тканевая гипоксия кишечной стенки [159]. По данным эксперимента Лузина В.В. [159, с. 49] при толстокишечной непроходимости в стенках как тонкой, так и толстой кишки выявляются глубокие нарушения микроциркуляции. Отмечается значительное ухудшение перфузии в стенке тонкой кишки. При нарастании непроходимости на четвертые–пятые сутки развиваются микроциркуляторные нарушения, вплоть до развития очаговых некрозов в стенке тонкой кишки, что сопровождается высокой степенью эндотоксикоза, прогрессированием СЭН и перитонита.

По-видимому, перераспределение кровотока в бассейне слизистой и подслизистой оболочки обуславливает нарушение функции венозных коллекторов и приводит к венозному полнокровию тонкой кишки, а также способствует диффузии и скоплению в просвете кишечника продуктов нарушенного метаболизма (пептидных комплексов, азотистых шлаков, клеточных элементов и электролитов) [160].

Циркуляторная гипоксия и ишемия кишки при механической непроходимости кишечника приводят к высвобождению цитокинов и подавлению естественных факторов защиты, нарушению целостности эпителиального барьера слизистой оболочки кишки и образованию активных оксидантов со снижением антиоксидантной защиты, а также нейтрофильному хемотаксису, и адгезии нейтрофилов к эндотелиальным клеткам с истощением внутриклеточных химических запасов энергии [134, с. 27-28].

Таким образом, тканевое парциальное давление кислорода регулирует функции кишечного барьера. При интестинальной ишемии происходит нарушение проницаемости слизистой кишечника и увеличение транслокации бактерий.

1.4.3 Токсический и микробный фактор. Избыточный бактериальный рост

Основная причина нарушения микробиоценоза кишечника, является избыточный рост бактерий, который может наблюдаться в различных отделах (биотопах) ЖКТ. В большинстве случаев наблюдают синдром избыточного бактериального роста (СИБР) в тонкой кишке. По определению Grace E. и др. (2013), СИБР – это только в тонком кишечнике избыточный рост микрофлоры, которая обычно колонизирует толстую кишку (в основном грамотрицательные бактерии, облигатные анаэробы и энтерококки). Избыточный рост микрофлоры явно связан с патологическим состоянием, характеризующимся аномальными гастроинтестинальными симптомами. При эрадикации этих бактерий эти симптомы разрешаются [161]. При этом синдроме происходит колонизация грамотрицательными микроорганизмами тонкой кишки вследствие нарушения кишечного клиренса, что вызывает механическую задержку эвакуации и застой кишечного содержимого [162]. Синдром избыточного роста в тонкой кишке и нарушение толерантности к резидентной аутофлоре, влекут за собой необратимые последствия на клеточном и молекулярном уровнях – воспаление слизистой, нарушение барьерной функции, транслокацию бактерий и эндотоксинов из просвета кишечника в лимфатические узлы и системный кровоток со смертельными осложнениями по типу острого панкреатита, перитонита или сепсиса [50, с. 9]. Таким образом, ЖКТ становится источником эндогенной интоксикации.

Ведущее значение принадлежит токсинам бактериального происхождения, которые способны проникать в неизмененные клетки, вызывая нарушения внутриклеточного метаболизма, повреждение метаболических мембран и истощение метаболических ресурсов [163].

Эндотоксин (ЭТ) представляет собой липополисахаридный комплекс клеточной стенки большинства грамотрицательных бактерий, а бактериальный эндотоксин представляет собой белково-липополисахаридные комплексы разного размера и молекулярной массы. Они высвобождаются из гибнущих или отпочковываются от живых бактерий, характеризуются цитотоксичностью, иммуносупрессивным эффектом, химической и термостабильностью [71, с. 16].

Выделяемые патогенными микроорганизмами капсульные антигены белковой и полисахаридной природы обеспечивают избирательную возможность их адгезии к поверхности энтероцитов. После фиксации микробных клеток наблюдается их пролиферация. Выделяющийся при этом энтеротоксин (эндотоксин) вызывает нарушение транспорта электролитов, приводя к усиленной секреции в просвет кишки, водному дисбалансу и выраженной дегидратации организма. Образованные аллохтонными патогенными микроорганизмами экзотоксины приводят к метаболической дисфункции покровных клеток; нарушению соотношения между секрецией и абсорбцией жидкости; оказывают цитотоксический эффект, сопровождающийся разрушением клеточных мембран эпителиоцитов [134, с. 29-30].

В результате, БТ, запущенная инфекционным процессом, стрессовым воздействием и даже хирургическими вмешательствами на органах живота, становится в дальнейшем самостоятельным источником бактериальной токсемии [32, с. 49].

1.4.4 Роль окислительного стресса в нарушении целостности кишечного барьера

Как мы упоминали выше, в развитии деструктивных изменений кишечной стенки при различных видах кишечной непроходимости, фактор ишемии играет не последнюю роль, которая развивается вследствие возникновения ВБГ.

На фоне тканевой гипоксии и нарушений микроциркуляции развивается метаболический ацидоз [164]. Нарушение кровоснабжения в кишечнике и гипоксия приводят к увеличению продукции активных форм кислорода, некрозам клеток, причем клетки гибнут с того момента, когда к ним вновь начинает поступать кислород. Активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) приводит к дисбалансу в системе антиоксидантной защиты, что усугубляет развитие синдромов эндогенной интоксикации и энтеральной недостаточности, способствует развитию гепаторенального синдрома и ПОН [165, 166, 167].

Однако, если ишемия устранена до начала развития необратимых повреждений, то доставка кислорода позволяет восстановить нормальный метаболизм и функции клеток. Несмотря на это, в зависимости от времени и тяжести ишемии, возобновление доставки кислорода может только усилить повреждение тканей. Ишемия с последующей реперфузией осложняется ишемически-реперфузионным синдромом (ИРС), который приводит к

нарушению слизистого барьера, транслокации бактерий и активации воспалительного ответа [168]. Согласно общепринятому определению, ИРС – это мультифакторный процесс повреждения и дисфункции первично ишемизированного органа или тканей в результате восстановления артериального кровотока, проявляющийся нарушением целостности клеточных мембран, активацией патологических процессов и некроза клеток, возникающих за счет нарушения энергетического и ионного обмена с увеличением продукции токсичных форм кислорода [164, с. 58]. Одним из механизмов повреждения стенки тонкого кишечника является свободные радикалы, образующиеся в электрон-транспортной цепи митохондрий, метаболизме ксантин-оксидазы, активированных нейтрофилах. В норме, активные формы кислорода нейтрализуются ферментами антиоксидантной системы, но вовремя реперфузии образуется избыточная концентрация свободных радикалов, запуская процесс окислительного стресса. Так, свободные формы кислорода вызывают перекисидацию липидов клеточной мембраны, что активирует миграцию и адгезию гранулоцитов, способствующих дальнейшему повреждению тканей [23, с. 17-18].

Так в своем экспериментальном исследовании Д. В. Угольник и соавторы (2014) уделяли особое внимание антиоксидантной активности сыворотки крови. Авторы изучали изменения антиоксидантной активности сыворотки крови и кишечного содержимого у экспериментальных животных через 12, 24, 36 часов от начала моделирования ОКН. В результате эксперимента отмечалось угнетение антиоксидантных свойств сыворотки крови и кишечного содержимого, развитием эндотоксикоза уже в первые сутки ОКН. В крови и кишечном содержимом происходят однонаправленные изменения антиоксидантного статуса, но в последнем протекающие с большей интенсивностью, что усугубляет прогрессирование эндотоксикоза и развитие ишемического повреждения в стенке кишки. Авторы в результате исследования рекомендуют антиоксидантную терапию, которая должна проводиться с учетом антиоксидантного статуса организма [169].

Волков Д.В. и соавторы в 2013 году исследовали влияние и перфторана, и супероксиддисмутазы на процессы свободно-радикального окисления и антиоксидантный статус у 183 больных с ОКН. Проводили анализ динамики активности антиоксидантного статуса и процессов свободно-радикального окисления. Изначально у всех пациентов были выявлены активация свободно радикальных процессов сыворотки крови и снижение антиоксидантного статуса. При использовании рекомбинантной супероксиддисмутазы позволило получить более быстрый и выраженный антирадикальный эффект по сравнению с использованием перфторана. В своем исследовании авторы пришли к выводу, что наиболее быстрая нормализация показателей активности антиоксидантного статуса и процессов свободно-радикального окисления наблюдалась при сочетанном применении перфторана и рекомбинантной супероксиддисмутазы. Сочетанное применение этих препаратов способствовало более раннему восстановлению моторно-эвакуаторной

функции кишечника ($p < 0,0125$), снижению частоты послеоперационных осложнений [170].

Многие авторы для предупреждения и лечения реперфузионного синдрома предлагают повысить уровень ферментов антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы и каталазы. Применение супероксиддисмутазы снижает интенсивность процессов ПОЛ в мембранах клеток, улучшает микроциркуляцию стенки кишечника благодаря дезагрегирующему действию на форменные элементы крови [171].

Исходя из литературных данных, можно сделать заключение, что роль окислительного стресса в патогенезе ОКН играет очень важную роль в развитии различных осложнений.

1.4.5 Фактор нарушения иммунных механизмов

В условиях острой непроходимости кишечника и прогрессирующего перитонита, происходит неуправляемая активация процессов размножения резидентной микрофлоры в просвете кишки. Всё это обуславливает нарушение иммуногенеза в ЖКТ на всех его уровнях, дезинтеграцию Т и В-клеток, секреторного иммуноглобулина А, нарушение продукции ИЛ, а также количественных и качественных взаимоотношений между лимфоцитами, плазмócитами, макрофагами и другими клетками [134, с. 33]. У больных ОКН отмечается уменьшение абсолютного и относительного числа Т-клеток в периферической крови, значительно снижается содержание IgA, что говорит об угнетении иммунной системы организма [172]. Обсуждая общие противoinфекционные механизмы пищеварительной системы, R. Bishop (1985) выделяет следующие компоненты:

1) кислая среда в проксимальных отделах желудочно-кишечного тракта, губительная для большинства микроорганизмов;

2) секреторная активность тонкой кишки с ее защитно-обволакивающим (слизь), противомикробным (лизоцим) и 20 протеолитическим (пищеварительные ферменты) действием;

3) моторная функция кишечника, препятствующая фиксации микроорганизмов на его стенках;

4) иммунные механизмы кишечной стенки; нормальное состояние кишечной микробиологической экосистемы.

Большинство этих факторов существенно страдают при острой кишечной непроходимости.

При тяжёлых формах острой непроходимости кишечника эпителий утрачивает способность оказывать противодействие бактериальной колонизации слизистой оболочки. Происходит разобщение структурных и функциональных взаимоотношений между клетками кишечного эпителия, десквамация и отторжение эпителиоцитов, оголение и изъязвление вершук ворсинок и, как следствие, транслокация бактерий из просвета кишки на собственную пластинку. Этому способствует снижение секреторной активности бокаловидных клеток, уменьшение количества и функциональной

активности межэпителиальных лимфоцитов, макрофагов собственной пластинки [134, с. 33-34; 173].

Нарушение иммуногенеза, снижение местного антителообразования и наличие циркуляторной гипоксии при ОНК ведет к нарушению барьерной функции кишечника и как следствие к БТ.

1.5 Роль бактериальной транслокации в развитии эндогенной интоксикации, синдрома системной воспалительной реакции, абдоминального сепсиса и полиорганной недостаточности

Исследованию значения нарушения барьерной функции кишечника, БТ в развитии септических состояний посвящено множество работ. Трансэпителиальное распространение бактерий из просвета кишечника наблюдается при различных хирургических заболеваниях, и нарушения колонизационной резистентности могут быть вовлечены в развитие ССВР, сепсиса и ПОН [33, с. 57-58].

Важным звеном патогенеза полиорганных нарушений при странгуляционной непроходимости кишечника является нарушение барьерной функции кишечной стенки и развитие энтеральной недостаточности, что приводит к транслокации бактерий и резорбции токсинов из просвета кишечной трубки [27, с. 192]. По мнению О.В Салато вклад в развитие бактериального эндотоксикоза при странгуляционной кишечной непроходимости вносят процессы как БТ, так и перитонеальной резорбции. Одним из основных составляющих эндотоксикоза выступает синдром энтеральной недостаточности, при котором кишечник становится источником токсических продуктов разной природы [174]. В основе нарушения морфофункционального состояния кишечника лежат повышение проницаемости кишечной стенки, нарушение локальной МЦ, трофики, накопление биологически активных веществ, медиаторов воспаления, на фоне изменения структуры микробной экосистемы и транслокации бактерий из просвета кишечника [175].

Основным фактором, определяющим развитие токсикоза, является поступление в общий кровоток и лимфу большого количества токсинов бактериального генеза, в первую очередь токсинов кишечной палочки. Главным пусковым фактором развития синдрома системного воспалительного ответа (ССВО или SIRS) служит освобождение грамотрицательными микроорганизмами эндотоксина, основным действующим началом которого является липополисахаридный комплекс. В динамике патологического процесса это сопровождается структурными и функциональными изменениями лейкоцитов и эритроцитов, приводя к гемолизу, микроциркуляторным нарушениям и прогрессированию сладж-синдрома [134, с. 35-36]. Грамположительные микробы не содержат эндотоксина. Установлено наличие в их клеточной стенке пептидогликанов, тейхоновой и тейхуроновой кислот, которые взаимодействуют с иными, чем эндотоксин, структурами клеток иммунной системы и другими путями стимулируют макрофаги, индуцируют

продукцию провоспалительных цитокинов и запускают альтернативные пути активации комплемента [176]. Патологическая активация комплемента может начинаться при участии бактерий, иммунных комплексов, поврежденных клеток эндотелия. Активация комплемента сопровождается образованием анафилотоксинов C_{3a} и C_{5a} , а также конечных продуктов активации комплемента C_{5b-9} . В свою очередь, продукты каскада комплемента могут активировать нейтрофилы, макрофаги, тромбоциты, которые включаются в системную воспалительную реакцию с помощью лизосомальных энзимов, цитокинов, свободных радикалов, продуктов метаболизма арахидоновой кислоты, что приводит к развитию системного воспалительного ответа [140]. Ряд исследователей установили, что ЛПС грамм-отрицательных бактерий является одним из факторов развития пареза кишечника, что приводит к застою содержимого кишечника, скоплению жидкости и как результат, к увеличению давления в просвете кишечника, результатом которого является нарушение МЦ и ишемии стенок кишечника. Все это в совокупности приводит к депрессии местного антителообразования и значительному повышению адгезии бактерий к кишечной стенке, и на фоне ее гипоксических изменений, приводит к повышению проницаемости кишечного барьера и как результат, транслокации бактерий во внутренние среды организма, что на прямую коррелирует со степенью тяжести эндогенной интоксикации при непроходимости кишечника.

Таким образом, бактериальная и эндотоксиновая транслокация были исследованы у людей при множестве патологий, таких как геморрагический шок, ожоги, сепсис, хирургическая травма, полное парентеральное питание, паралитическая и механическая кишечная непроходимость, белковая недостаточность питания, снижение иммунитета и многих других. Однако полученные результаты являются скудными и достаточно спорными и противоречивыми. Феномен транслокации бактерий из ЖКТ еще недостаточно изучен. Предполагают связь БТ в развитии ССВР, сепсиса и ПОН. Поэтому в целях ранней диагностики осложнений возникает интерес изучения РСТ, LBP и CD-14, как маркеров БТ в эксперименте.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн экспериментального исследования

Все экспериментальные животные были разделены на 3 группы. В первой группе были интактные здоровые животные, которые были взяты как промежуточный контроль и калибровки аппаратуры. Во второй группе (Sham-операция) были животные, которым производилась лапаротомия, участок тонкой кишки выводился из раны наружу, затем погружался обратно в брюшную полость, и производилось ушивание раны. В третьей группе - моделировалась острая кишечная непроходимость. Подготовительный этап включал в себя разработку собственной экспериментальной модели острой кишечной непроходимости, отработку техники измерения внутрибрюшного давления, отработку методики забора крови из сердца и взятия мазка из брюшной полости и кишечного содержимого выше места обструкции (рисунок 2).

3 группы лабораторных животных:

1 группа – 10 интактных животных. Производится измерение ВБД. Также, под наркозом (кетамин), производится забор крови для иммунологических исследований, вскрытие брюшной полости и аутопсия ткани кишки для микробиологических исследований. Животные выводятся из эксперимента путем обескровливания.

2 группа – 91 крысе, измеряется исходное значение ВБД и моделируется ОКН в «Илеоцекальной области» тонкой кишки и в зависимости от времени разбиты на 4 подгруппы (2А, 2Б, 2В, 2Г). Вскрытие брюшной полости производится на – 1 сутки (для 25 животным из подгруппы 2А), 3 сутки (для 25 животным из подгруппы 2Б), 3 сутки (для 24 из подгруппы 2В), 7 сутки (для 17 из подгруппы 2Г). В связи с прогрессированием острой кишечной непроходимости из эксперимента выбыло 9 животных на 5-ых и 7-ых сутках.

Через указанные выше промежутки времени после моделирования ОКН производится повторное измерение ВБД. Также, под наркозом производится взятие мазка из брюшной полости и ткань кишечника выше места обструкции для микробиологического исследования, а после проводится забор крови из сердца для иммунологического исследования. После этого животные выводятся из эксперимента путем обескровливания.

3 группа – 40 животным (Sham-группа) измеряется ВБД, производится вскрытие и ушивание брюшной полости и в зависимости от времени разбиты на 4 подгруппы (3А, 3Б, 3В, 3Г). Вскрытие брюшной полости производится на – 1 сутки (для 10 животным из подгруппы 3А), 3 сутки (для 10 животным из подгруппы 3Б), 5 сутки (для 10 из подгруппы 3В), 7 сутки (для 10 из подгруппы 3Г). Через указанные выше промежутки времени после моделирования ОКН производится повторное измерение ВБД. Также под наркозом производится забор крови и материала для микробиологического и иммунологического исследования. Животные выводятся из эксперимента путем обескровливания.

Экспериментальная работа с лабораторными животными проведена в соответствии с требованиями, изложенными в приказе Министра здравоохранения Республики Казахстан от 15 мая 2015 года № 348 О внесении изменения в приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 12 ноября 2009 года № 697 «Об утверждении Правил проведения медико-биологических экспериментов, доклинических (неклинических) и клинических исследований», а также с соблюдением принципов Международных правил биоэтики Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013). Дизайн исследования одобрен решением Комитета по биоэтике КГМУ (протокол № 98 от 02.09.2016, присвоенный номер № 240) (Приложение Б).

Животные выводились из эксперимента путем обескровливания в состоянии наркоза, что соответствует пункту М3.13.1 Руководства по эвтаназии животных Американской ассоциации ветеринаров “AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition”. По окончании проведения лабораторных исследований, все экспериментальные животные списаны и утилизированы в соответствии с Пунктом 52 в редакции Постановления Правительства РК от 07.08.2012 № 1030.

Лабораторные показатели оценивались до моделирования ОКН, после моделирования ОКН и в Sham-группе в зависимости от времени аутопсии на 1, 3, 5, и 7-е сутки.

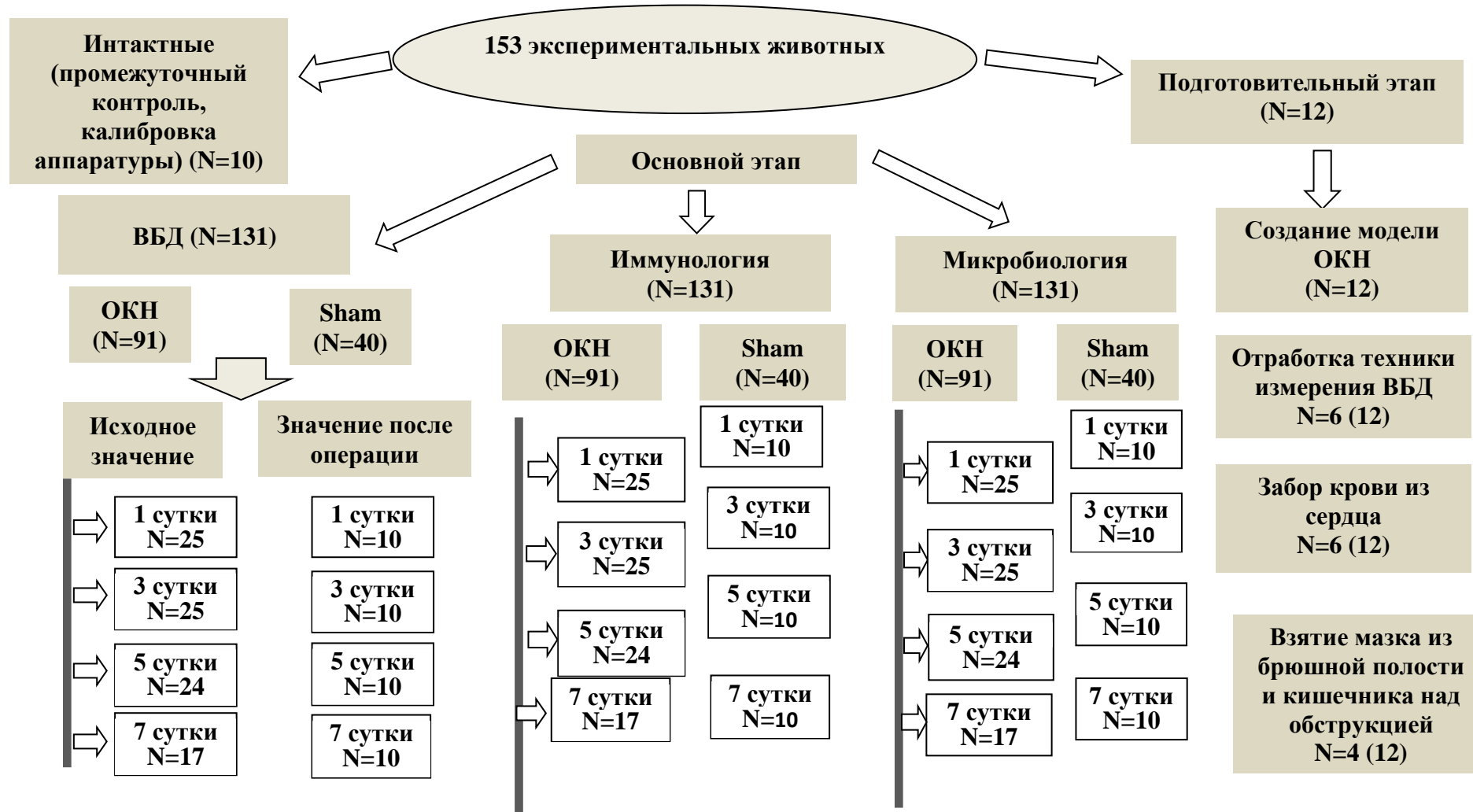


Рисунок 2 – Дизайн исследования

2.2 Характеристика материала исследования

Эксперименты проводились на базе вивария и лаборатории коллективного пользования при Карагандинском государственном медицинском университете (директор – PhD Бабенко Д.Б.).

Экспериментальное исследование проводили на 153 половозрелых беспородных крысах с массой тела от 180 до 200 г. Организм белых беспородных крыс менее специализирован в отношении пищевого рациона и отличается более высокой адаптируемостью и персистенцией к интеркуррентной инфекции. Для сопоставления данных, полученных у различных групп животных, мы стремились к стандартизированным условиям проведения опытов. Все животные были сопоставимы по полу, весу и возрасту.

Содержание животных в виварии НИЦ КГМУ соответствовало санитарным правилам. Питание у лабораторных животных было стандартное, порция пищевого рациона одинаковая (ячмень, пшено, вода) (рисунок 3).

"Согласовано"
проректор по стратегическому развитию,
науке и международному сотрудничеству
Турмухамбетова А.А. *В. Турмухамбетова*
" " " " 2017г.

"Утверждаю"
Ректор КГМУ
Досмагамбетова Р.С.
" " " " 2017г.

Рационы лабораторных животных вивария КГМУ

Виды животных Индекс	Мыши			Крысы				Морские свинки			Кролики					Собаки						
	взр	8-14 гр	более 14 гр	взрослое ногловое	40-130 гр	130- 240 гр	240- 350 гр	взр	150- 300 гр	300- 500 гр	05.1	05.2	Молодняк массой, кг			Взрослые массой, кг		Пенки массой, кг				
													до 1,5	1,5 - 2,5	2,5 - 3,5	8-14	14-20	20 и более	до 3-х	3-5	5-8	
Ячмень	6,9	2,1	2,8	15,1	5,5	6,6	7,0	16,5	6,6	16,5	90,9	165,3	53,2	78,5	86,8	-	-	-	-	-	-	-
Крупа (пшено)	2,5	0,8	1,5	8	1,5	2,5	4,0	2,0	1,5	-	10,1	15,1	5,0	12,1	10,1	98,0	142,0	171,0	43,0	61,0	82,0	
Хлеб	1,3	0,6	0,9	12,0	2,0	4,0	6,0	-	-	-	-	-	-	-	-	100,0	140,0	160,0	50,0	65,0	88,0	
Комбикорм	-	-	-	7,7	1,5	3,3	3,6	12,9	6,5	6,5	27,8	46,4	13,9	18,5	27,8	-	-	-	-	-	-	-
Творог обезжир или сухое молоко	3,5	2,3	2,5	22,3	5,0	9,7	13,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Мясо II категории	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100,0	150,0	250,0	75,0	100,0	125,0	
Овощи (морковка)	2,8	1	1,3	20,0	5,0	8,0	10,0	35,0	25,0	30	180,0	300,0	60,0	70,0	70,0	85,0	170,0	180,0	35,0	50,0	67,0	
Зелень (пророщ)	1,5	0,5	1	15,0	5,0	8,0	10,0	15,0	6,0	9,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Поломасло	0,98	0,3	0,39	3,15	0,98	1,38	1,48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Дрожжи кормовые	0,2	0,05	0,1	0,3	0,08	0,1	0,15	0,2	0,1	0,15	0,4	1,0	0,2	0,3	0,2	3,4	5,0	6,0	1,5	2,1	2,7	
Рыбий жир	0,05	0,02	0,03	0,4	0,05	0,1	0,2	0,4	0,2	0,3	0,4	0,8	0,2	0,3	0,3	-	-	-	-	-	-	-
Жир свиной	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Соль поваренная	0,09	0,04	0,06	0,3	0,1	0,15	0,2	0,4	0,15	0,15	1,0	2,5	1,0	1,0	1,0	8,0	10,0	12,0	3,0	5,0	6,0	
Сено	-	-	-	-	-	-	-	50	30	40	90,0	240,0	80,0	80,0	80,0	-	-	-	-	-	-	-

Ауезова М.Х.
Ауезова М.Х.

Рисунок 3 – Пищевой рацион лабораторных животных вивария КГМУ

Исследование проводилось с учетом ритма общебиологических процессов. Животные содержались в одинаковых условиях – клетках, при температуре 18-22°C, с соблюдением суточных ритмов «день-ночь». На протяжении не менее 14 дней животные прошли карантин и акклиматизацию в условиях вивария НИЦ КГМУ (рисунок 4).

Экспериментальные группы животных формировали методом случайной выборки с учетом массы тела в качестве ведущего показателя.

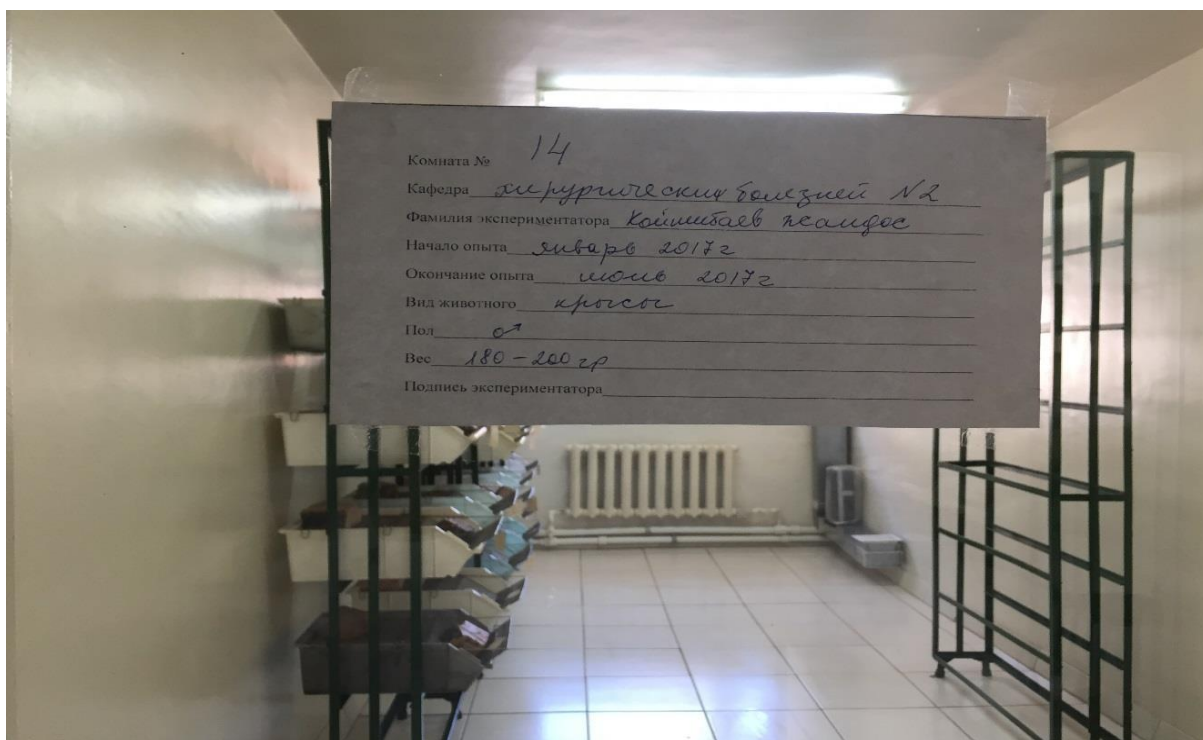


Рисунок 4 – Условия содержания лабораторных животных

2.3 Методы исследований

2.3.1 Измерение внутрибрюшного давления

Измерение ВБД проводили до моделирования ОКН и Sham-операции и перед выведением животного из эксперимента в соответствующие сроки наблюдения. Использовали устройство оригинальной конструкции для прямого измерения ВБД [178].

Аппарат основан на воздействии сигнала исследуемого давления на аналоговый датчик, который через аналого-цифровой преобразователь поступает в микропроцессор и после математической обработки передается на ноутбук.

Алгоритм измерения ВБД с помощью устройства (у лабораторного животного (крысы) при моделировании ОКН):

- 1) при измерении ВБД были взяты: лабораторное животное – крыса; силиконовая трубка-соединитель; устройство для измерения ВБД; ноутбук с USB-разъёмом;
- 2) соединение с измерительным устройством с персональным компьютером проводили с помощью USB-провода;
- 3) наркоз животному давали путем введения кетамина в хвостовую вену в дозе, рассчитанной исходя из массы тела, стандартно в разведении 50 мг/мл в количестве 0,50 мл;
- 4) животное фиксировали типичным методом в положении на спине (рисунок 5);

5) пункцию брюшной полости производили с помощью иглы от медицинского шприца объёмом 5 мл. Перед проведением пункции, в место предполагаемого вкола, слегка приподнимали переднюю брюшную стенку;

б) иглу соединяли с силиконовой трубкой (равная диаметру иглы), которая присоединяется к штуцеру измерительного устройства, при этом должно быть соблюдено важное условие - сохранение герметичности, после чего на экране компьютера регистрируются цифры ВБД (рисунок 6).

Измерение ВБД на модели кишечной непроходимости представлено на рисунке 7.



Рисунок 5 – Фиксация животного в положении на спине до измерения внутрибрюшного давления

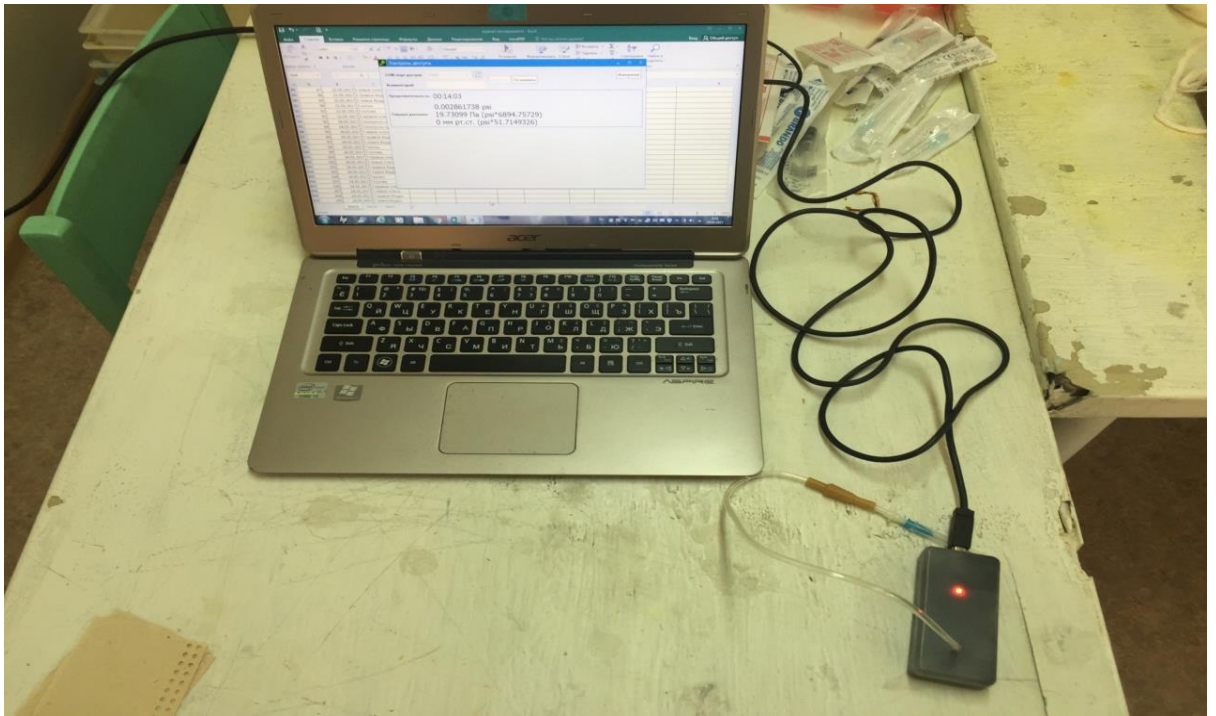


Рисунок 6 – Подготовка устройства к работе измерения внутрибрюшного давления



Рисунок 7 – Измерение внутрибрюшного давления

2.3.2 Определение биомаркеров энтерогематической транслокации микроорганизмов – определение LBP, PCT и CD-14 в сыворотке крови

2.3.2.1 Методика внутрисердечной пункции

Всем экспериментальным животным осуществлялась пункция сердца, с использованием обычного стерильного медицинского шприца объемом 5 мл, при этом применялся вакуумный метод аспирации крови (рисунок 8). Для этого лабораторное животное наркотизировалось, конечности фиксировались к операционному столику, выстригалась шерсть в области предполагаемого вкола, далее дезинфицировалась кожа. Пальпаторно определяли проекцию верхушечного толчка сердца. Затем, на 1 см. краниальнее от установленной точки, отступив на 2 мм. от левого края грудины, производили вкол иглы, держа ее вертикально и одновременно потягивая поршень на себя. Пункционным методом получается взять до 3-5 мл. крови.

При появлении крови в шприце продвижение иглы прекращалось, и производился забор 3-5 мл крови. Полученную кровь центрифугировали 10 мин при 1500 об. для отделения сыворотки. Аликвоты сыворотки для определения анализов замораживались и хранились при -70°C до 1 месяца.

Забор крови осуществлялся у интактных лабораторных животных. Также осуществлялся забор крови у лабораторных животных, которым моделировалась острая кишечная непроходимость на первые, третьи, пятые и седьмые сутки.



Рисунок 8 – Забор крови у лабораторных крыс методом пункции сердца

CD-14 – это белок, резкое увеличение концентрации которого в крови, говорит о развитии общего воспалительного синдрома организма. В настоящее время установлено, что CD-14 – это гуморальный фактор, специфичный для фагоцитоза [90, с. 249]. CD-14 может выполнять роль неспецифичного, но достаточно чувствительного маркера присутствия синдрома общего

мезенхимального воспаления, однако, не в полной мере отражающего динамику развития септических осложнений. Определение концентрации данного маркера в сыворотке крови подходит для ранней диагностики сепсиса, его мониторинга и прогнозирования неблагоприятных исходов. Для определения CD-14 использовали сыворотку крови крыс и коммерческие наборы от Cloud-Clone Catalog #SEA685Ra. Анализ выполняется на ИФА-роботизированной системе Evolis от BioRad. Диапазон измерения: 1,56-100 нг/мл. Чувствительность: 0,61 нг/мл. Аппарат, на котором производилось исследование, а также расходные материалы и сама методика изображены на рисунках 9, 10, 11, 12.



Рисунок 9 – Роботизированная ИФА-система



Рисунок 10 – Набор реактивов Evolis от BioRad

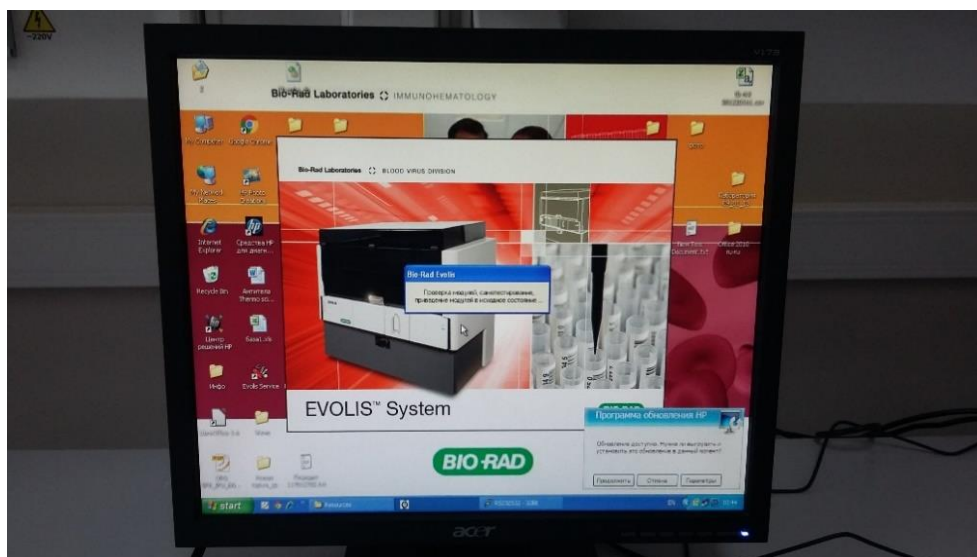


Рисунок 11 – Компьютер роботизированной системы Evolis



Рисунок 12 – Матрица для ИФА-наборов

Прокальцитонин (ПКТ) – полипептид, который является неактивным предшественником кальцитонина. У здоровых лиц весь образующийся ПКТ преобразуется в кальцитонин и практически не поступает в кровоток. При тяжелых бактериальных инфекциях и сепсисе массовое образование эндотоксинов, увеличение уровней провоспалительных приводит к увеличению синтеза ПКТ не только в щитовидной железе, но и экстратиреоидно: в первую очередь, в лейкоцитах, моноцитах, а также в нейроэндокринных клетках легких, кишечника и печени. Все это приводит к быстрому и резкому нарастанию уровня ПКТ (уже через 6-12 часов после генерализации процесса) на фоне сохранения уровня кальцитонина. Прокальцитонин является современным маркером системного воспаления и генерализации бактериальной инфекции. Для определения использовали сыворотку крови крыс и

коммерческие наборы ELISA Kit for Procalcitonin (PCT) от Cusabio #CSB-E13419г. Анализ выполняли на ИФА-роботизированной системе Evolis от BioRad (рисунок 9). Диапазон измерения: 31,25-2000 пг/мл. Чувствительность: 7,8 пг/мл [82, с. 8285; 179].

Анализ проводили согласно инструкции производителя, для анализа использовали 100 мкл образца. Стадии анализа представляли собой твердофазный хромогенный ИФА с использованием биотилизированных антител, для усиления сигнала был введен стрептовидин-биотин. В качестве субстрата был использован тетраметилбензидин. Регистрировали при длине волны 450 нм с корректировкой при 540 нм. Расчет концентраций осуществлялся с использованием программного обеспечения роботизированной ИФА станции по стандартным калибровочным образцам. Общее время инкубации составила 3,5 часа (рисунки 13А, 13Б).

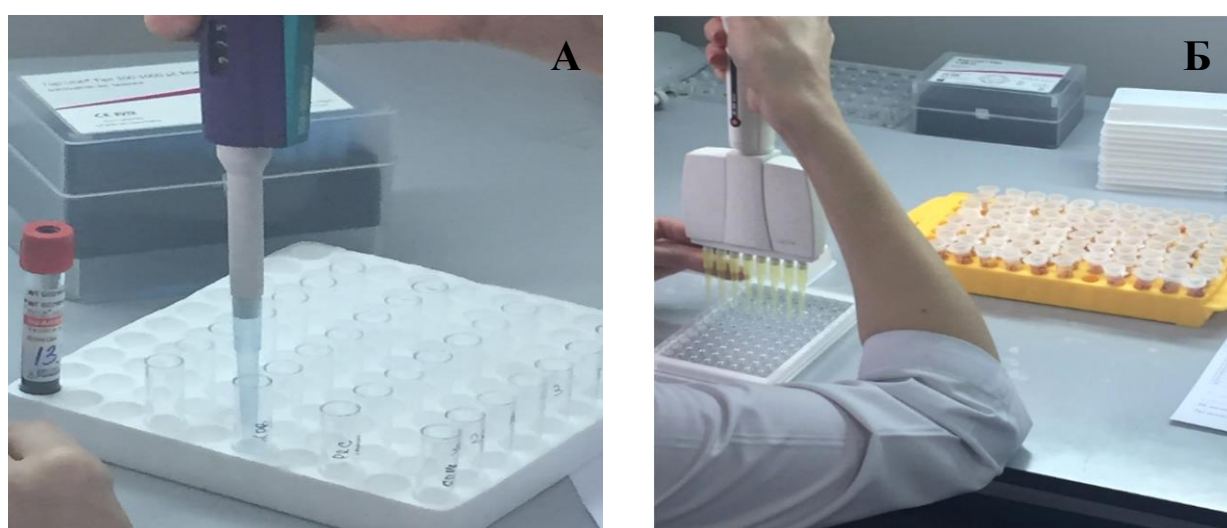


Рисунок 13 – Этапы выполнения Иммуноферментного анализа

Липополисахарид-связывающий белок (ЛСБ, англ. Lipopolysaccharide binding protein, LBP) – секретируемый белок, компонент острой фазы воспаления, который связывает с высокой аффинностью бактериальный липополисахарид и усиливает связывание с ним CD14. На данный момент этот показатель является новым, перспективным острофазным маркером генерализации воспаления и сепсиса. Для определения использовали сыворотку крови крыс и коммерческие наборы ELISA Kit for Lipopolysaccharide Binding Protein (LBP) by HycultBiotech Catalog # HK503. Анализ выполняли на ИФА-роботизированной системе Evolis от BioRad Диапазон измерения: 1,6 нг/мл - 100 нг/мл. Чувствительность: 1,6 нг/мл [180, 181].

Анализ проводили согласно инструкции производителя, для анализа использовали 100 мкл образца, использовав 10-кратное разведение. Стадии анализа представляли собой твердофазный хромогенный ИФА с использованием биотилизированных антител, для усиления сигнала был введен стрептовидин-биотин. В качестве субстрата был использован тетраметилбензидин.

Регистрировали при длине волны 450 нм. Расчет концентраций осуществлялся с использованием программного обеспечения роботизированной ИФА станции по стандартным калибровочным образцам с учетом разведения. Общее время инкубации составило 4 часа.

2.3.3 Микробиологическое исследование микрофлоры ткани кишки и выпота брюшной полости (энтероперитонеальная транслокация)

Микробиологическое исследование осуществлялось у интактных лабораторных животных, группы животных с Sham-операцией, а также у лабораторных животных с моделью острой кишечной непроходимости, на первые, третьи, пятые и седьмые сутки.

Материалом исследования для определения качественного и количественного состава микрофлоры являлся выпот из брюшной полости и содержимое тонкой кишки над уровнем создания обструкции [182].

Для исследования использовались содержимое кишечника и выпот, взятые непосредственно во время проведения операции в стерильные пробирки с мясопептонным бульоном. Материал брали в условиях операционной вивария (рисунки 14, 15).



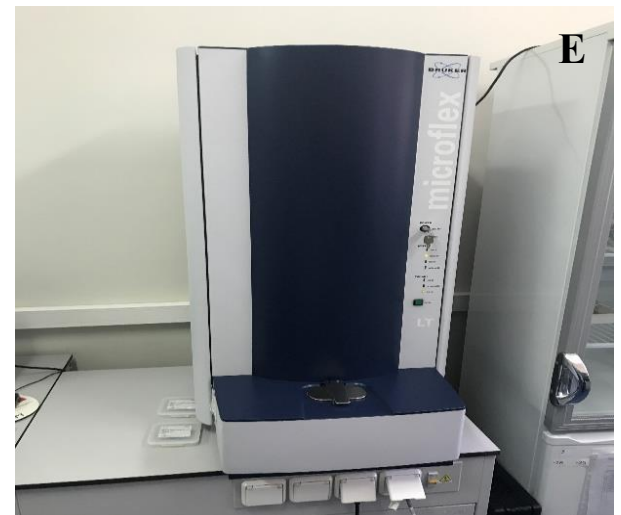
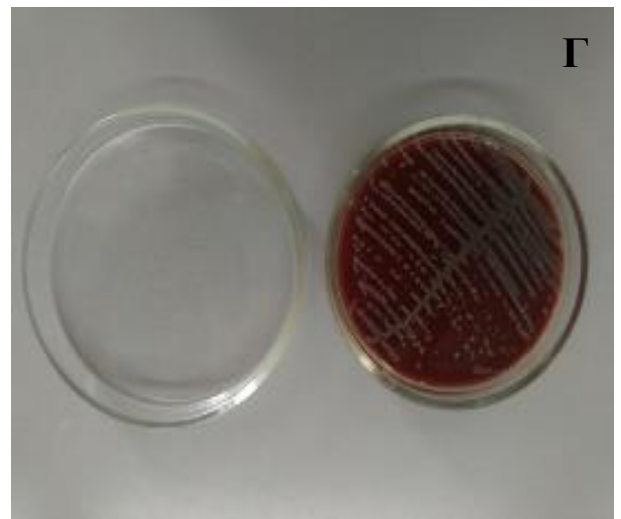
Рисунок 14 – Забор выпота на микробиологическое исследование из брюшной полости крысы



Рисунок 15 – Забор содержимого тонкой кишки проксимальнее создания места обструкции у крысы в эксперименте

После взятия, материал в кратчайшее время доставлялся в лабораторию коллективного пользования научно-исследовательского центра КГМУ, где проводился первичный посев на кровяной агар с помощью калиброванной петли (10мкл) [183]. Исследование проводилось количественным методом. Посевы инкубировались при температуре 37°C и времени инкубации – 24 часа. Далее проводили первичную идентификацию с использованием методов классической бактериологии [184, 185].

Количественный учет микроорганизмов в исследуемом материале производили путем подсчета количества выросших колоний в каждом секторе. Количество колониеобразующих единиц в единице объема (КОЕ/мл) рассчитывали по пересчетной таблице. Окончательная видовая идентификация чистых культур микроорганизмов проводилась методом время-пролетной MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием масс-спектрометра Microflex (Bruker Daltonics, Германия) (рисунок 16) [186].



А – посев материала на питательные среды; Б – чашки с питательными средами в эксикаторе; В – термостатирование; Г – рост колоний на питательной среде; Д – нанесение микроорганизмов на мишень для масс-спектрометрии; Е – масс-спектрометр Microflex (Bruker Daltonics, Германия)

Рисунок 16 – Этапы бактериологического исследования

При MALDI-TOF идентификации использовали прямое нанесение культуры, выросшей на кровяном агаре, на стальную мишень (Bruker Daltonics, Германия) с последующим высушиванием на воздухе. Далее добавлялось 2 мл матрицы: насыщенный раствор альфа-циано-тетра-гидроксикоричной кислоты (Bruker Daltonics, Германия) в 50% ацетонитриле и 2,5% трифторуксусной кислоте. Мишень повторно подсушивали при комнатной температуре, после чего помещали в масс-спектрометр.

Масс-спектры калибровались с использованием рибосомальных белков *Escherichia coli* (бактериальный стандарт). Белковые спектры оценивали посредством MALDI Biotyper (версия 3.5, Bruker Daltonics, Германия) (рисунки 17, 18).

Результаты выражались в виде оценочного коэффициента (score) в диапазоне от нуля до трех. При значениях score >1,7 результат соответствует высокой степени достоверности идентификации до рода, а при значениях score >2,0 - надежной идентификации до вида. В то же время значение score >1,7 оценивается как минимальное значение оценочного коэффициента, требуемое для видовой идентификации [186, с. 842-846]. При значении score <1,7 результат идентификации считали не достоверным и исследование повторяли.

Все штаммы были субкультивированы, реидентифицированы и подвергнуты глубокой заморозке на глицериновой питательной среде (-80°C).

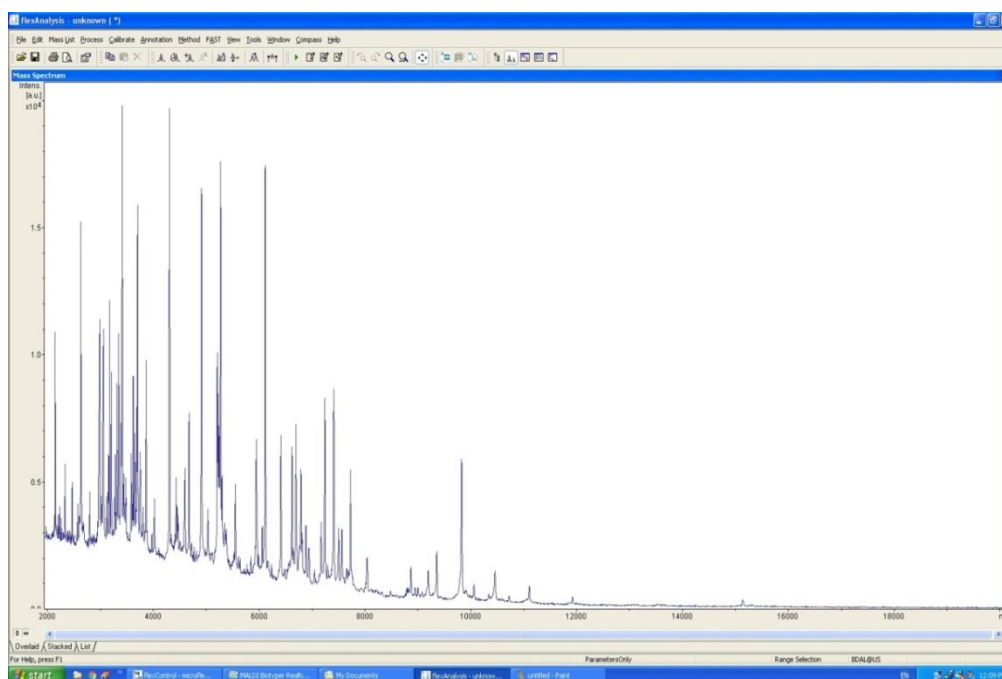


Рисунок 17 – Масс-спектры для *E. coli*

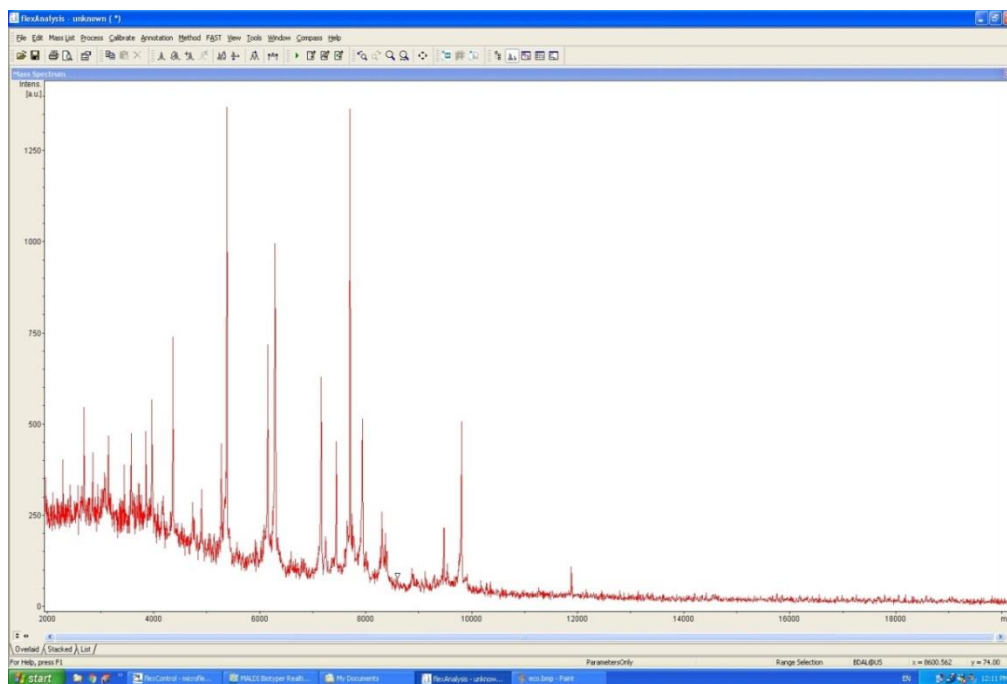


Рисунок 18 – Масс-спектры для *K. pneumoniae*

2.3.4 Статистическая обработка результатов исследования

Статистический анализ проведен с помощью программы IBM «SPSS Statistics 20.0» с вычислением для каждого показателя среднего значения (M), стандартного отклонения (SD), доверительного интервала (CI) и дисперсии (δ^2). Корреляционный анализ выполнен с помощью расчета коэффициента корреляции Пирсона. Значимость различий в группах между исходными значениями и значениями после операции определяли с помощью критерия Вилкоксона для связанных групп, между группой ОКН и группой Sham – использовался критерий Манна-Уитни для независимых групп, а между подгруппами по различным срокам наблюдения – с помощью критерия Краскела-Уоллиса для k-независимых групп. Также достоверность различий в группах определяли с помощью однорангового дисперсионного анализа (ANOVA). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

3 ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Разработка модели ОКН у крыс

Суть способа моделирования острой тонкокишечной непроходимости в эксперименте – наложение клипсы на «Илеоцекальный угол» тонкой кишки (свидетельство о государственной регистрации прав на объект интеллектуальной собственности ИС 007385 от 15.02.2017) [187].

Моделирование острой тонкокишечной непроходимости осуществлялось на малых лабораторных животных - крысах, однако, также могут быть использованы и другие некрупные животные [188, 189] (Приложение А).

Требования к созданию ОКН у крыс:

- модель должна воспроизводить ОКН в остром опыте;
- модель ОКН не должна предполагать развитие некроза по линии создания обтурации кишки, так как по условию исследования энтероперитонеальная транслокация должна быть вызвана не перфорацией кишки, а проникновением через физически герметичную стенку кишки;
- учитывая необходимость микробиологических исследований выполнение модели должно быть с максимальным соблюдением асептики, в идеале - использование аподактильного способа формирования ОКН с минимально возможным использованием инструментария;
- модель должна быть стандартной и хорошо воспроизводимой с одинаковым результатом у значительного числа экспериментальных животных;
- модель должна быть проста в исполнении и с минимальными затратами времени и дозы наркотического средства, чтобы минимизировать влияние его на биомаркеры;
- предпочтительна малоинвазивность вмешательства, так, чтобы минимизировать влияние операционной травмы на изучаемые биомаркеры.

3.1.1 Обзор известных способов моделирования кишечной непроходимости

Моделирование обтурационной кишечной непроходимости нехирургическим путем [190]

Моделирование кишечной непроходимости путем введения тонкого эластичного мешотчатого латексного изделия (например, головная часть презерватива) без фиксирования с помощью зонда в кишечник с быстро затвердевающим веществом.

Преимущества:

- предлагаемый способ позволяет создать модель, максимально приближенную к естественной патологии;
- воспроизводит как полную, так и частичную обтурационную непроходимость кишечника различной степени;

– способ относительно прост для выполнения, гуманен, исключает подготовительные манипуляции и предварительные хирургические вмешательства;

– достоверно воспроизводится на различных видах лабораторных животных.

Недостатки:

– является плохая контролируемость зонда, соответственно локализации уровня обтурации кишки.

Хирургические методы моделирования острой кишечной непроходимости

Технически экспериментальные модели кишечной непроходимости, и, как правило, создаются путем наложения сдавливающего агента на петлю кишечника (лигатуры, эластичные резиновые турникеты, кольца, и т.д.), но добиться оптимального внутрикишечного давления для развития непроходимости трудно. Также достаточно проблемно создать и обратимость симптоматики ОКН, для возможности наблюдения за процессами восстановления в кишке [191, 192, 193, 194].

Существенными недостатками моделирования, в том числе являются технические сложности, длительная анестезия, травматичность доступов, усугубляющая состояние экспериментального животного [195].

В одном из исследований, посвященных именно проблеме создания наиболее воспроизводимой модели обтурационной кишечной непроходимости, авторами была предложена техника закрытия анального канала, путем наложения кисетного шва с захватом сфинктера прямой кишки, под визуальным контролем степени закрытия. Дополнительно, над кисетным швом, накладывали Z-образный шов «с целью герметизации и предупреждения прорезывания первичной кисетной лигатуры» [196].

Данная методика, по мнению авторов, позволяет предотвратить развитие негативных последствий анестезии на экспериментальное животное, и не дает произойти парезу желудочно-кишечного тракта, что доказано полученными результатами динамики физиологических показателей крови, мочи и морфометрическими характеристиками кишки.

Еще один из способов моделирования ОКН был предложен российскими учеными Леоновым С.Д и Родиным А.В. Метод заключается в выполнении нижнесрединной лапаротомии и зажимом петли кишки в кольце диаметром 4 мм. Преимущество в том, что создавалось эластичное ущемление кишечной петли вместе с сосудистым пучком. Но при этом не соблюдалось такое важное условие «чистоты» эксперимента, как стандартизованность модели, т.е.- ущемлялись разные отделы кишечника, петли разной длины, что впоследствии приводило к различным патологическим изменениям в стенке кишки и искажало истинность результатов [197].

Тем не менее, сами авторы данной методики предложили способ частичного решения этой проблемы. Ими также предложен метод, включающий нижнесрединный лапаротомный доступ, введение в прямую кишку мягкой трубки, повторяющей диаметр ущемляемой кишки и перевязке

кишечной, петли непосредственно над трубкой двумя лигатурами. При этом дополнительно производилась перевязка и пересечение брыжейки вместе с питающими данный участок кишки сосудами [198].

Создание модели кишечной непроходимости с помощью латексного кольца, путем проведения сквозь него петли кишки [199].

Преимущества:

- способ относительно прост и легок для выполнения;
- достоверно воспроизводится на различных видах лабораторных животных.

Недостатки:

- грубое раздавливание стенки кишки и сосудов, что приводит к быстрому некрозу и перфорации кишки;
- нет возможности изучить механизмы транслокации микроорганизмов через неповрежденную физически герметичную стенку кишки.

Известна модель ОКН путем предварительного создания наружного кишечного свища [200].

Преимущества:

- способ позволяет регулировать время непроходимости;
- возможность воспроизводить модель многократно.

Недостатки:

- сложна в воспроизведении у мелких экспериментальных животных;
- длительна по времени создания;
- непригодна для использования в остром опыте.

Известны также другие способы создания низкой обтурационной кишечной непроходимости у лабораторных животных путем наложения лавсановой нити на прямую кишку [201], метод Тирша: осуществление сужения концевого отдела кишечника наложением суживающего элемента, в частности проволоки, через разрезы спереди и сзади анального отверстия [202].

Недостатки:

- применение металлического материала на кишечнике при усилении его перистальтики и газообразовании, приводит к травматизации и разрезу кишки, что заканчивается болевым шоком, перитонитом.

Таким образом, наиболее простой и эффективный способ создания обтурационной тонкокишечной непроходимости, пригодный для моделирования любого уровня непроходимости у крыс, включает наркоз, фиксацию животного, разрез брюшной стенки и лигирование кишки с помощью шелковой нити [203]. Недостатком указанного способа является высокий травматизм тканей и органов животного, повышенный риск инфицирования, животное выгрызает швы по ране передней брюшной стенки, что приводит к эвентрации диметрированных петель кишок или развитию перитонита. В то же время, данный способ предполагает быстрое развитие «странгуляционной борозды» по линии перевязки кишки и развитие некроза с перфорацией, что не соответствует требованиям нашего исследования,

предполагающего изучение транслокации микроорганизмов через физически герметичную кишечную стенку.

При изучении бактериальной транслокации в эксперименте важным условием является полная стерильность условий создания модели, аподактильность техники выполнения, чтобы исключить экзогенную контаминацию, которая, возможно, может исказить достоверность полученных результатов. Не все известные на сегодняшний день способы моделирования кишечной непроходимости учитывают данный критерий, но здесь, несомненно, все зависит от цели исследования.

Таким образом, учитывая все недостатки вышеперечисленных моделей, мы решили создать собственную модель острой тонкокишечной непроходимости в эксперименте.

3.2 Способы моделирования острой кишечной непроходимости

Эксперимент № 1. Использование отрезка силиконовой трубки от системы капельного вливания и лигатуры

Дата 17.10.2016 г. Для моделирования ОКН у крыс нами предложен метод с использованием отрезка силиконовой трубки от системы капельного вливания длиной 1,0 см в области средней трети тонкой кишки у 3-х крыс и в области середины толстой кишки у 3-х крыс.

Эксперимент проводился согласно разработанным стандартным операционным процедурам. Проведение общей анестезии осуществлялся методом, одобренный комитетом по биоэтике КГМУ. Перед началом эксперимента каждая крыса наркотизировалась, путем введения в хвостовую вену кетамина 50 мг/мл в количестве 0,50 мл однократно, рассчитанная исходя из массы тела. После чего животное укладывалось на операционный стол, и фиксировалась каждая конечность привязными шнурками (рисунок 19).



Рисунок 19 – Фиксация конечностей экспериментального животного

3.2.1 Создание модели ОКН на уровне средней трети тонкой кишки методом наложения силиконовой трубки у крысы

Операционное поле предварительно в количестве 3 раз обрабатывали 5 % спиртовым раствором йода (рисунок 20).



Рисунок 20 – Обработка 5 % спиртовым раствором йода операционного поля экспериментального животного

Был произведен разрез в области средней линии живота. После разреза 2,5 см была произведена ревизия брюшной полости и выведены наружу петли тонкой кишки, осмотрены на наличие патологических очагов (рисунок 21).



Рисунок 21 – Срединная лапаротомия экспериментального животного

Для моделирования кишечной непроходимости был использован отрезок силиконовой трубки от системы капельного вливания длиной 1,0 см. Данный отрезок трубки предварительно разрезался продольно (рисунок 22).



Рисунок 22 – Отрезок трубки от системы капельного вливания для моделирования острой кишечной непроходимости

После наложения отрезка трубки на петлю тонкой кишки, поверх трубки была наложена лигатура капроновой ниткой (рисунок 23).

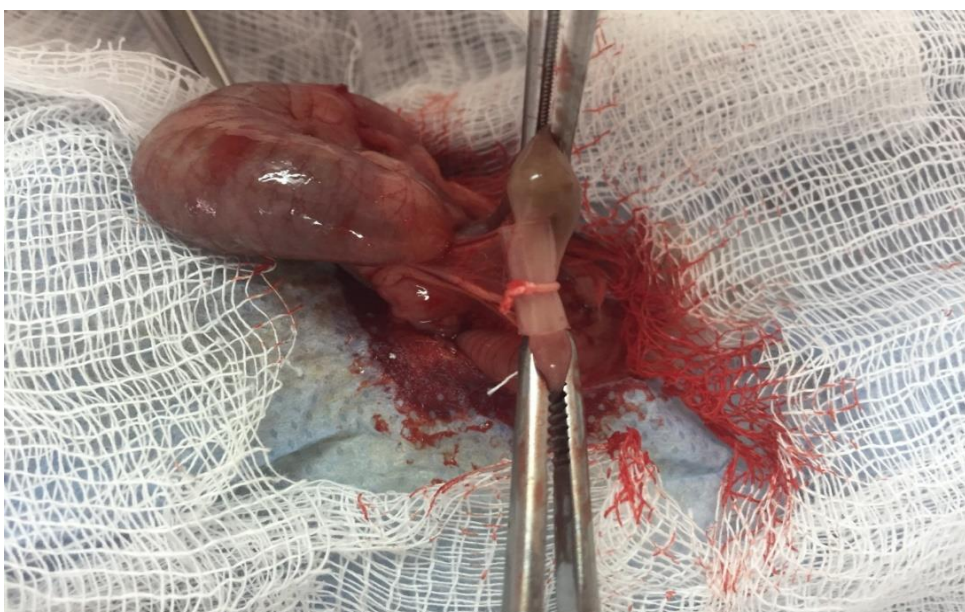


Рисунок 23 – Наложение лигатуры капроновой ниткой на трубку от системы в ходе операции

После была произведена повторная ревизия брюшной полости. Края раны обработаны 70% р-ром этилового спирта, послеоперационная рана ушивалась

узловыми швами (рисунок 24). Края раны были обработаны 3% раствором перекиси водорода троекратно. После, операционное поле было обработано 5% спиртовым раствором йода (рисунок 25). Накладывалась асептическая повязка (рисунок 26). Выход из наркоза сопровождался двигательной активностью крысы (рисунок 27). В области спины, у крысы 5% спиртовым раствором йода, ставили отметку для дифференцировки. Животные находились в стандартных условиях, под наблюдением.



Рисунок 24 – Наложение непрерывного шва по Ревердену экспериментальному животному по завершению операции



Рисунок 25 – Обработка 5% спиртовым раствором йода операционной раны экспериментального животного

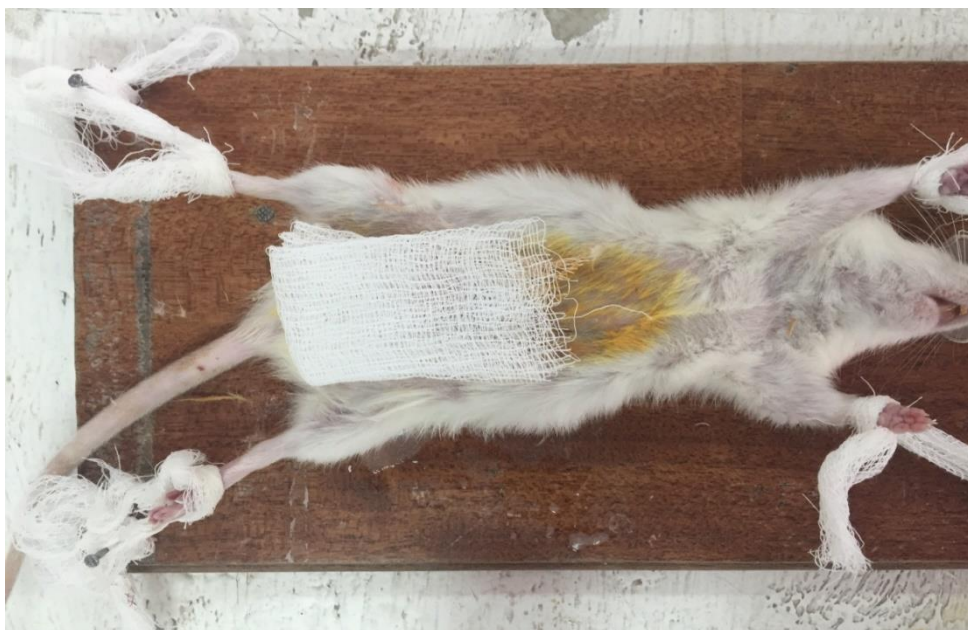


Рисунок 26 – Наложение асептической повязки экспериментальному животному



Рисунок 27 – Двигательная активность животного после моделирования острой кишечной непроходимости

Дата 20.10.2016 г. Результат эксперимента

Смерть животных наступила на 3-и сутки. При осмотре брюшная полость крыс была увеличена незначительно. Швы состоятельны. Область раны в количестве 3-х раз обрабатывали 5 % спиртовым раствором йода (рисунок 28).



Рисунок 28 – Состояние швов животного на 3-и сутки эксперимента при аутопсии

Была произведена аутопсия. После разреза длиной 2,5 см. была произведена ревизия брюшной полости. На уровне средней трети тонкой кишки отмечалось: дистальнее места лигирования вздутие кишки и наполнение каловыми массами; проксимальнее места лигирования перфорация кишки диаметром 0,2-0,4 см., кровоизлияние, кишка на всём протяжении находилась в спавшемся состоянии. В области лигирования отмечался очаг некроза. Тело слепой кишки не увеличено в размерах, сосуды спавшиеся. В брюшной полости имеется серозно-геморрагический выпот объемом 5-15 мл (рисунок 29).



Рисунок 29 – Серозно-геморрагический выпот брюшной полости на марлевом шарике после аутопсии

3.2.2 Создание модели ОКН на уровне средней трети толстой кишки

Дата 17.10.2016 г. Методика создания ОКН в области средней трети толстой кишки проводилась аналогично. Лигирование производилось на средней трети толстой кишки (рисунок 30). Животные находились в стандартных условиях, под наблюдением.



Рисунок 30 – Наложение трубки на область средней трети толстой кишки экспериментального животного

Дата 19.10.2016 г. Результат эксперимента моделирования ОКН

Смерть животных наступила на 2-е сутки. При осмотре брюшная полость крыс не увеличена. Швы состоятельны. Аутопсия и ревизия производились аналогично. Отмечалось: дистальнее места лигирования толстая кишка на всём протяжении находилась в спавшемся состоянии, имелось незначительное количество каловых масс. Проксимальнее места лигирования на расстоянии 4-5 см отмечалась перфорация кишки диаметром 0,2-0,3 см, наличие участков кровоизлияния, вздутия и наполнения каловыми массами. В участке лигирования отмечались очаги некроза. Тело слепой кишки увеличено в размерах, сосуды полнокровны. Сосуды брыжейки полнокровны. В брюшной полости имелся серозно-геморрагический выпот объемом 5-10 мл. Желудок увеличен в размерах, растянут, заполнен жидкостью и газами. Малый сальник опечен. Со стороны других органов брюшной полости патологии не выявлено (рисунок 31).



Рисунок 31 – Очаги некроза, увеличено тело слепой кишки у крысы

Эксперимент №2. Моделирование ОКН с использованием клипатора и пластиковых клипс

Дата 5.12.2016 г. Для моделирования ОКН у лабораторных животных нами предложен метод клипирования с использованием клипатора и пластиковых клипс (Hem-o-lok weck №544115) (рисунок 32).



Рисунок 32 – Клипатор, контейнер с пластиковыми клипсами

Эксперимент проводился согласно разработанным стандартным операционным процедурам. Проведение общей анестезии осуществлялся методом, одобренный комитетом по биоэтике КГМУ. Перед началом

эксперимента каждая крыса наркотизировалась путем введения в хвостовую вену кетамина 50 мг/мл в количестве 0,50 мл однократно, рассчитанная исходя из массы тела. После чего, животное укладывалось на операционный стол, и фиксировалась каждая конечность привязными шнурками. Производилась срединная лапаротомия у 6-ти крыс: у 3-х крыс - клипирование петли кишечника в области илеоцекального угла тонкой кишки, и у 3-х крыс - в области средней трети толстой кишки.

3.2.3 Создание модели ОКН на уровне илеоцекального угла тонкой кишки методом наложения клипсы

Операционное поле предварительно в количестве 3 раз обрабатывали 5 % спиртовым раствором йода. После разреза длиной 2,5 см была произведена ревизия брюшной полости и выведено наружу тело слепой кишки, осмотрены на наличие патологических очагов. Клипса наложена на петлю тонкого кишечника в области илеоцекального угла (рисунок 33). После была произведена повторная ревизия брюшной полости. Края раны обработаны 70% р-ром этилового спирта, наложен непрерывный шов по Ревердену. Края раны были обработаны 3% раствором перекиси водорода трехкратно. Операционное поле было обработано 5% спиртовым раствором йода. Накладывалась асептическая повязка. В области головы крысы 5% спиртовым раствором йода оставили отметку для дифференцировки. Животные находились в стандартных условиях, под наблюдением.

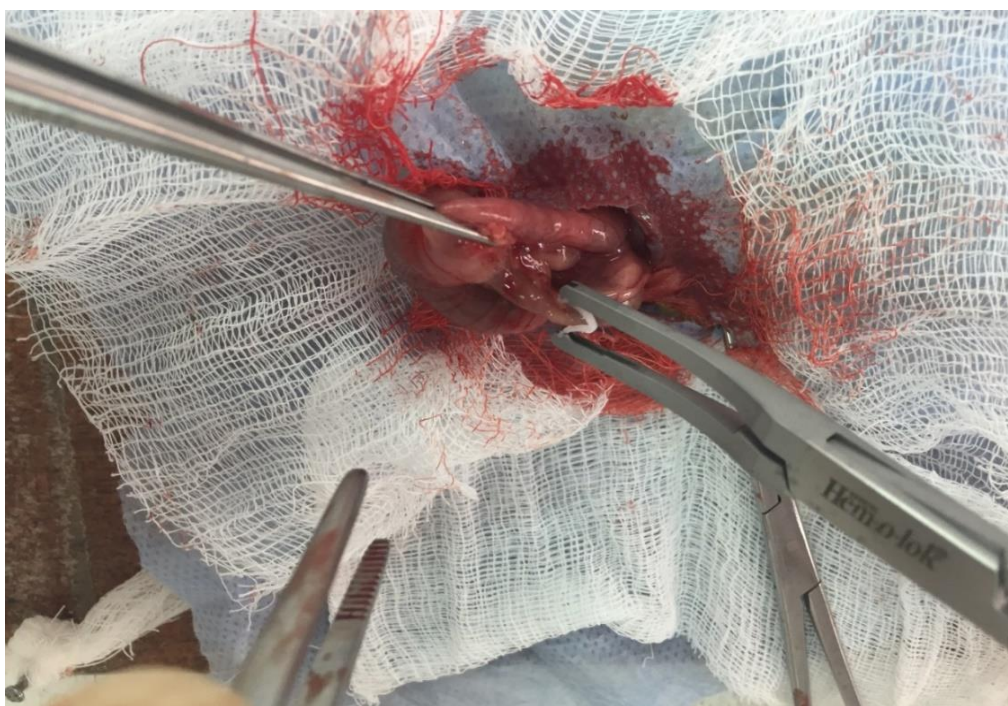


Рисунок 33 – Наложение клипсы на петлю тонкого кишечника в области илеоцекального угла у крысы

Дата 11.12.2016 г. Результат эксперимента моделирования тонкокишечной непроходимости

Смерть животных наступила на 6-е сутки. При осмотре, брюшная полость крыс была увеличена, наблюдалось вздутие живота. Швы состоятельны. Произведена аутопсия, при ревизии отмечался неприятный запах, также отмечалось: дистальнее места клипирования кишка в спавшем состоянии; проксимальнее места клипирования вздутие кишки, наполнение каловыми массами. Сосуды полнокровны. Наблюдался стаз.

На всем протяжении тонкого кишечника наблюдалось вздутие, отечность, гиперемия, имелись очаги некроза. Со стороны брыжеечных сосудов: полнокровие и стаз. Слепая кишка спавшаяся, сосуды полнокровны. В брюшной полости имелся серозно-геморрагический выпот объемом 20-25 мл. Желудок увеличен в размерах с белым кашицеобразным содержимым. В просвете тонкой кишки наблюдался застой кишечного содержимого (рисунки 34, 35).



Рисунок 34 – Динамика развития ОКН на 6-е сутки после наложения клипсы на тонкую кишку у экспериментального животного



Рисунок 35 – Ревизия брюшной полости на момент аутопсии состояние тонкого кишечника на 6-е сутки после наложения клипсы, отечность, гиперемия, имеются очаги некроза у крысы

3.2.4 Создание модели ОКН на уровне средней трети толстой кишки методом наложения клипсы у экспериментального животного

Методика создания ОКН в области средней трети толстой кишки проводилась методом наложения пластиковой клипсы (рисунок 36).



Рисунок 36 – Наложение клипсы на область средней трети толстой кишки у лабораторного животного

Дата 9.12.2016 г. Результат эксперимента моделирования толстокишечной непроходимости

Смерть животных наступила на 4-е сутки. При осмотре брюшная полость крыс увеличена. Швы состоятельны. Произведена аутопсия, при ревизии отмечалось: дистальнее места лигирования толстая кишка на всём протяжении в спавшемся состоянии; проксимальнее места лигирования перфорации кишки диаметром 0,2-0,3 см, наличие участков кровоизлияния, вздутие и наполнение каловыми массами. В участке лигирования очаги некроза. Тело слепой кишки увеличено в размерах. В брюшной полости имеется серозно-геморрагический выпот объемом 10-20 мл (рисунок 37).



Рисунок 37 – Очаги некроза, увеличение тела слепой кишки

Эксперимент №3. Моделирование ОКН с использованием клипатора, аподактильным методом, путем наложения пластиковых клипс

Дата 10.01.2017 г. Для моделирования ОКН у крыс нами предложен метод клипирования, с использованием клипатора и наложением пластиковых клипс, аподактильно. Эксперимент проводился согласно разработанным стандартным операционным процедурам. Проведение общей анестезии осуществляется методом одобренным комитетом по биоэтике КГМУ. Перед началом эксперимента 3-м крысам был введен в хвостовую вену кетамин 50 мг/мл в количестве 0,50 мл однократно, рассчитанный исходя из массы тела (рисунок 38).

Животное укладывалось на операционный стол, и каждая конечность фиксировалась привязными шнурками. Производился разрез в правой боковой области живота и аподактильным методом, клипировали петлю тонкого кишечника в области илеоцекального угла.



Рисунок 38 – Введение раствора кетамина лабораторному животному

3.2.5 Создание модели ОКН на уровне илеоцекального угла тонкой кишки методом наложения клипсы, доступом в правой половине брюшной полости, аподактильно

Операционное поле предварительно в количестве 3 раз обрабатывали 5 % спиртовым раствором йода. Производился разрез в правой боковой области живота (рисунок 39).

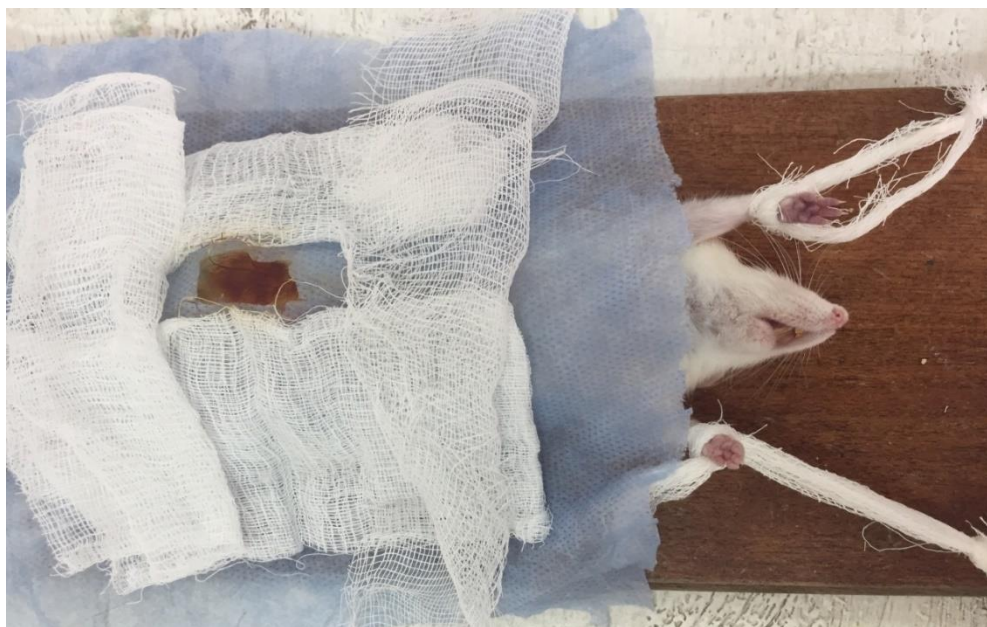


Рисунок 39 – Разрез в правой боковой области живота в ходе эксперимента

После разреза длиной 1,5см в проекции правой боковой области живота, была произведена ревизия брюшной полости и определен купол слепой кишки. Для моделирования кишечной непроходимости был использован клипатор и пластиковые клипсы. Аподактильно клипса наложена на петлю тонкого кишечника в области илеоцекального угла (рисунок 40).



Рисунок 40 – Наложение клипсы аподактильно на уровне илеоцекального угла, у экспериментального животного

Края раны обработаны 70% р-ром этилового спирта, после рана ушита узловыми швами. Края раны были обработаны 3% раствором перекиси водорода троекратно. Послеоперационное поле обрабатывалось 5% спиртовым раствором йода. Накладывалась асептическая повязка. После в области головы крысы 5% спиртовым раствором йода оставили отметку для дифференцировки. Животные находились в стандартных условиях, под наблюдением.

Дата 19.01.2017 г. Результат эксперимента моделирования тонкокишечной непроходимости путем наложения клипсы аподактильно. Смерть животных наступила на 9-е сутки. При осмотре, брюшная полость крыс увеличена. Швы состоятельны. При ревизии отмечалось: сильное вздутие живота в объеме, зловонный запах (рисунок 41).

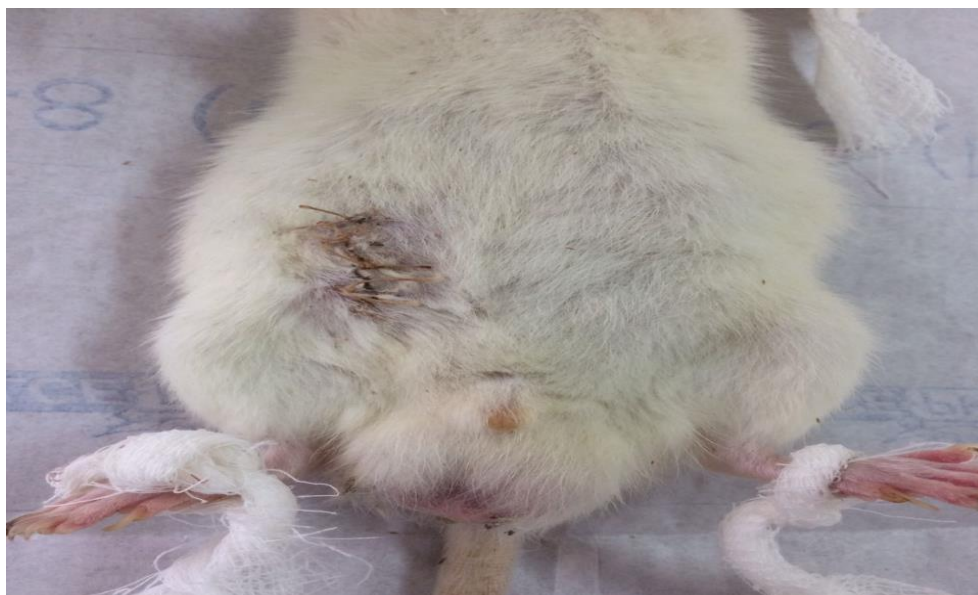


Рисунок 41 – Швы состоятельны, 9-е сутки после наложения клипсы у лабораторного животного

Произведена аутопсия, отмечалось: дистальнее места клипирования кишка в спавшемся состоянии; проксимальнее места клипирования кишка резко увеличена, наполнена каловыми массами. Сосуды полнокровны. Наблюдался стаз. На всем протяжении тонкого кишечника наблюдалось вздутие, отечность, гиперемия, имелись множественные очаги некроза. Со стороны брыжеечных сосудов: полнокровие и стаз. Тело слепой кишки спавшееся, мягкой консистенции. В брюшной полости отмечался серозно-геморрагический выпот объемом 25-30 мл. В просвете тонкой кишки наблюдался застой кишечного содержимого (рисунок 42).



Рисунок 42 – Динамика развития ОКН на 9 сутки после наложения клипсы аподактильно, у экспериментального животного

Результаты экспериментального исследования показывают, что при создании ОКН методом наложения силиконовой трубки на средней треть тонкой и толстой кишок, смерть животных наступает на 2-3-е сутки, предположительно от некроза и перфорации, клиника ОКН смазанная. Данные результаты можно объяснить тем, что при наложении силиконовой трубки, доступом серединой лапаротомии, создаются асептические условия меньшей степени и оказывает большее механическое воздействие на кишку и окружающие ткани, тем самым животное погибает в ранние сроки.

От ОКН, в результате клипирования илеоцекальной области и толстой кишки, доступом серединой лапаротомии, смерть животных наступает на 4-6-е сутки, наблюдается большее количество выпота, кишки более увеличены в размерах и наблюдается большее количество очагов некроза, отмечается клиника ОКН. Создание ОКН методом клипирования, доступом серединой лапаротомии, также создает менее асептические условия, однако оказывает меньшее механическое воздействие на кишку и окружающие ткани, тем самым объясняется более продолжительные сроки жизни.

При создании ОКН аподактильным методом наложения клипсы на петли тонкой кишки в области илеоцекального, доступом в правой боковой области живота, разрезом длиной 1,5 см - смерть животных наступает на 9-е сутки, размеры кишок резко увеличены, с еще большим количеством выпота в брюшной полости, отмечается полная клиническая картина ОКН. Кишечная непроходимость, вызванная аподактильным методом клипирования, доступом в правой боковой области живота, создает асептические условия, наряду с меньшим механическим повреждением кишки и окружающих тканей, а также с меньшим разрезом, приводя к более длительной продолжительной жизни животного.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о более предпочтительной методике создания ОКН у животных, аподактильным методом клипирования в области илеоцекального угла тонкой кишки, доступом в правой боковой области живота.

Созданная модель острой тонкокишечной непроходимости, может использоваться для изучения БТ и динамики ВБД, в эксперименте.

В предыдущих исследованиях нами была изучена динамика ВБД и интраабдоминальной гипертензии при пневмоперитонеуме у крыс в эксперименте; влияние повышенного ВБД на явление транслокации микроорганизмов, как в системный кровоток, так и в брюшную полость; связь биомаркера sCD14 с явлением БТ [204, 205], а также влияние интраабдоминальной гипертензии на морфологическое состояние головного мозга [154, с. 321].

На сегодняшний день, понятие «интраабдоминальная гипертензия» не входит ни в один клинический протокол, по этой причине ранее нами было проведено анкетирование действующих врачей хирургического профиля по поводу осведомленности об этом понятии [206].

3.3 Собственная методика экспериментальной острой тонкокишечной непроходимости

Для максимального соблюдения требований научного исследования нами предложена новая методика создания модели ОКН в эксперименте на крысах.

Для моделирования ОКН у крыс нами предложен метод клипирования с использованием стерильного клипатора и стерильных пластиковых клипс. Общая анестезия и эксперимент проводится согласно разработанным стандартным операционным процедурам, методами, одобренными комитетом по биоэтике КГМУ (Приложение Б).

Алгоритм моделирования:

1) альтернативный вариант - животное наркотизируется путем введения кетамина в дозе, рассчитанной исходя из массы тела, стандартно в разведении 50 мг/мл в количестве 0,50 мл. Данный раствор вводится в хвостовую вену крысы;

2) после введения кетамина животное укладывается на спину на операционный стол и фиксируется каждая конечность привязными шнурками;

3) участок шерсти выстригается до кожи. Слегка приподняв переднюю брюшную стенку, игла от медицинского шприца вводится в брюшную полость и производится измерение ВБД (рисунок 43);

4) операционное поле 3-хкратно обрабатывается 5% спиртовым раствором йода. Производится вскрытие брюшной полости разрезом длиной 1,5 см в правой боковой области живота (рисунок 44);

5) для моделирования кишечной непроходимости используются стерильные пластиковые клипсы Hem-o-lok Weck и стерильный клипатор;

6) аподактильно, с помощью всего 2 инструментов (пинцет и клипатор) клипса накладывается с противобрыжеечного края поперек на стенку тонкой кишки без захвата брыжеечных сосудов в области илеоцекального угла (рисунок 45);

7) края раны обрабатывают 70% р-ром этилового спирта, рана ушивается узловыми швами. Послеоперационное поле обрабатывается 5% спиртовым раствором йода;

8) после пробуждения животное выпускается в клетку для дальнейшего свободного передвижения и жизнедеятельности.



Рисунок 43 – Измерение внутрибрюшного давления у крысы



Рисунок 44 – Разрез в правой боковой области живота у крысы



Рисунок 45 – Наложение клипсы аподактильно, на петли тонкого кишечника илеоцекальной области лабораторного животного

Динамика нарастания кишечной непроходимости представлена на рисунке 46.



А – 1-ые сутки после наложения клипсы; Б – 3-и сутки после наложения клипсы; В – 5-ые сутки после наложения клипсы; Г – 7-е сутки после наложения клипсы

Рисунок 46 – Модель острой кишечной непроходимости

Таким образом, предложенный нами способ моделирования является малоинвазивной процедурой, создает максимальные асептические условия, так как стерильная клипса накладывается стерильным инструментом аподактильно, при этом, оказывается меньшее механическое воздействие на кишку и окружающие ткани (рисунок 47), быстро воспроизводится по времени и проста в исполнении. Четкие ориентиры для наложения клипсы (илеоцекальный угол), обеспечивают стандартность воспроизведения модели ОКН.



Рисунок 47 – Микроскопическое увеличение зоны наложения клипсы (300х) на 1-ые сутки острой кишечной непроходимости (USB Цифровой микроскоп Andonstar, увеличение до 500х)

Предложенная модель соответствует всем требованиям научного исследования по изучению транслокации микроорганизмов в условиях экспериментальной ОКН.

4 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данном разделе представлены сравнительный анализ результатов измерения внутрибрюшного давления при кишечной непроходимости в эксперименте [207], анализ биомаркеров прокальцитонина и липополисахарид-связывающего белка сыворотки крови [208, 209, 210] и микробиологического исследования кишечного содержимого и перитонеального выпота из брюшной полости у крыс в экспериментальной модели острой кишечной непроходимости [211, 212, 213, 214].

4.1 Динамика результатов измерения внутрибрюшного давления у лабораторных животных в эксперименте

В ходе эксперимента всем лабораторным животным было измерено внутрибрюшное давление (ВБД) на 1, 3, 5 и 7 сутки.

Таблица 1 – Распределение показателей ВБД

ВБД	сроки ОКН	Колмогоров-Смирнов ^a			Шапиро-Уилкса		
		Статистика	ст. св.	Значимость	Статистика	ст. св.	Значимость
Исходно е	1 сутки	0,174	22	0,080	0,960	22	0,487
	3 сутки	0,150	22	0,200*	0,948	22	0,289
	5 сутки	0,205	20	0,027	0,919	20	0,093
	7 сутки	0,208	10	0,200*	0,960	10	0,781
ОКН	1 сутки	0,092	22	0,200*	0,971	22	0,734
	3 сутки	0,171	22	0,095	0,851	22	0,004
	5 сутки	0,166	20	0,153	0,897	20	0,037
	7 сутки	0,156	10	0,200*	0,961	10	0,798

Как видно из таблицы 1, часть данных имеет распределение отличное от нормального, поэтому для сравнения в группах выбраны непараметрические критерии Вилкоксона и Манна-Уитни.

Анализ данных показал (таблица 2), что в группе сравнения (Sham-операция) статистически значимой разницы ВБД не наблюдается ни по сравнению с исходными значениями ($p > 0,1$), ни в динамике наблюдения в течение 7 суток ($p = 0,102$) (рисунок 48).

Таблица 2 – Средние значения показателей внутрибрюшного давления в группе сравнения (Sham-операция)

Сут.	N	До Sham операции				После Sham операции				До-после*			По суткам**		
		М	SD	95% CI		М	SD	95% CI		k	z	P	k	χ^2	P
1	10	1,63	0,43	-0,55	2,70	0,88	0,57	3,59	4,80	1	-1,63	0,102	3	6,20	0,102
3	10	1,75	0,78	-1,85	7,35	2,75	1,85	3,51	5,17	1	-1,63	0,102			
5	10	1,75	1,15	0,64	6,26	3,45	1,13	3,50	4,75	1	-1,07	0,285			
7	10	1,80	0,64	14,30	20,01	2,85	1,91	3,87	6,05	1	-1,34	0,18			

Примечания:
 * – критерий Вилкоксона для 2 связанных групп
 ** – критерий Краскела-Уоллиса для k-независимых групп

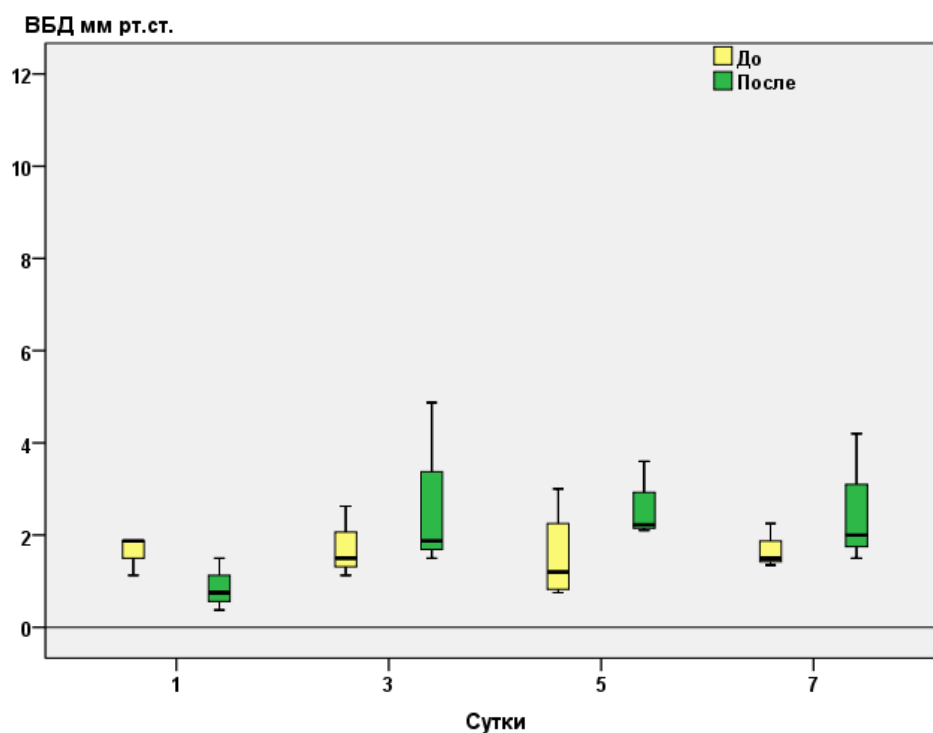


Рисунок 48 – Динамика ВБД в сравнении с исходными значениями в группе сравнения (Sham операция)

В группе с моделью ОКН наблюдается статистически значимое повышение ВБД по сравнению с исходными значениями на 1-7 сутки ($p < 0,0001$) (рисунок 49).

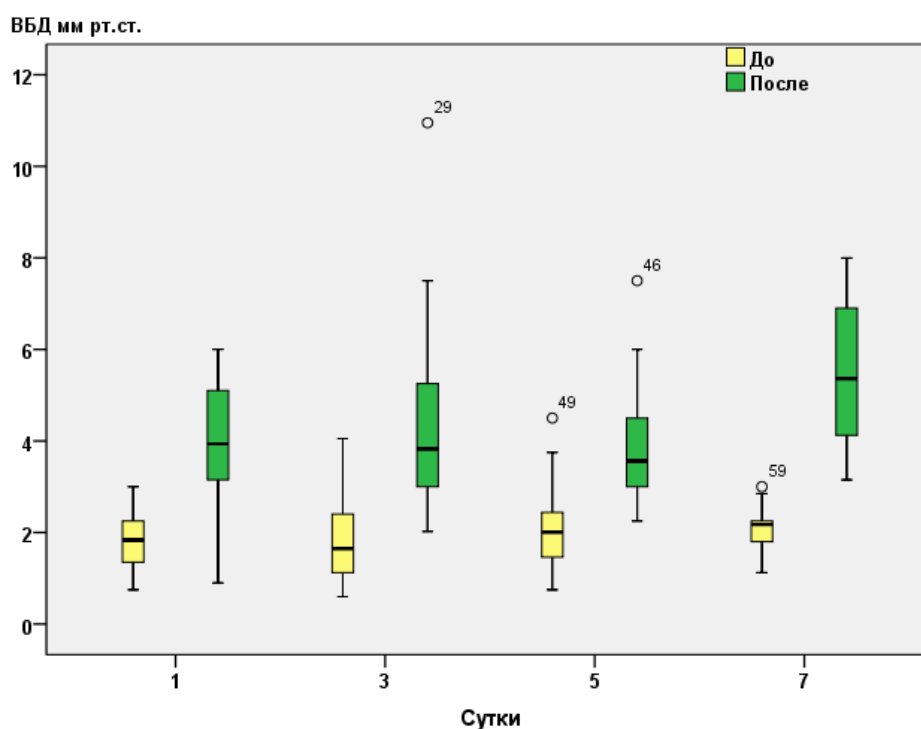


Рисунок 49 – Динамика внутрибрюшного давления в сравнении с исходными значениями в группе острой кишечной непроходимости

Наиболее выраженная разница с исходным значением отмечена на 7 сутки – в 2,48 раза (таблица 3).

Таблица 3 – Средние значения показателей внутрибрюшного давления в группе с острой кишечной непроходимостью

Сутки	N	До создания модели				Модель ОКН				До-после*			По суткам**		
		M	SD	95% CI		M	SD	95% CI		k	z	p	k	χ^2	p
1	25	1,85	0,57	1,61	2,09	4,20	1,42	3,59	4,80	1	-	<0,0001	3	7,65	0,05
3	25	1,97	0,94	1,58	2,36	4,34	2,01	3,51	5,17	1	-	<0,0001			
5	24	2,13	0,92	1,74	2,52	4,12	1,48	3,50	4,75	1	-	<0,0001			
7	17	2,00	0,55	1,66	2,34	4,96	1,81	3,87	6,05	1	-3,2	0,001			

Примечания:

* – критерий Вилкоксона для 2 связанных групп

** – критерий Краскела-Уоллиса для k-независимых групп

В динамике развития ОКН также отмечается значимое изменение ВБД по суткам ($p=0,05$). Так, если на 3 сутки ВБД увеличилось в 1,03 раза по сравнению с 1 сутками, то на 7 сутки этот показатель вырос в 1,2 раза по сравнению с предыдущими сутками, при этом на 5 сутки отмечается некоторое снижение ВБД, что свидетельствует о включении компенсаторных механизмов, в том числе, увеличение COMPLAENS передней брюшной стенки. На 7 сутки вследствие чрезмерного дальнейшего повышения ВБД происходит срыв компенсаторных механизмов, что в итоге приводит к развитию гипоксии органов за счет нарушения тканевой перфузии и дыхательной недостаточности на фоне высокого стояния диафрагмы и уменьшения венозного возврата к правым отделам сердца [215, 216].

При сравнении группы ОКН с Sham-группой, видна заметная разница уже на 1 сутки, ВБД в 4,8 раза больше чем в группе животных с лапаротомией, но без модели ОКН ($p=0,001$) (таблица 4).

Таблица 4 - Сравнительная динамика показателей ВБД в группе ОКН и Sham

Сутки	ВБД Sham		ВБД ОКН		z	p
	M	SD	M	SD		
1	0,88	0,57	4,20	1,42	-2.7	0.001
3	2,75	1,85	4,34	2,01	-1.45	0.17
5	3,45	1,13	4,12	1,48	-0.66	0.53
7	2,85	1,91	4,96	1,81	-1.19	0.31

В дальнейшем уровень ВБД на протяжении 3-7 суток также остается выше, чем в группе сравнения (рисунок 50).

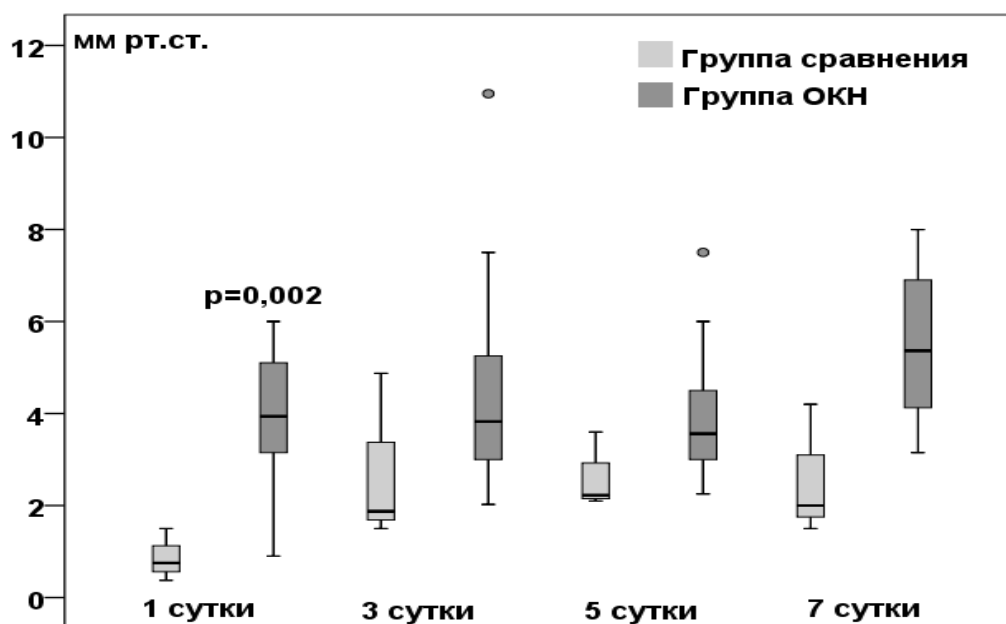


Рисунок 50 – Сравнительная динамика уровня внутрибрюшного давления в группах с острой кишечной непроходимостью и Sham операции

Таким образом, при моделировании острой кишечной непроходимости уже в первые сутки отмечается достоверное повышение ВБД в сравнении с исходными показателями ($p < 0,0001$), с дальнейшим постепенным ростом показателей в течение всего эксперимента ($p = 0,05$). В группе с моделированием кишечной непроходимости уже в 1-ые сутки отмечается достоверное увеличение показателей ВБД в 4,8 раз по сравнению с группой Sham ($p = 0,001$) и остается выше, чем в группе сравнения в течение 7 суток.

Поскольку патологическое влияние внутрибрюшного давления на все системы организма зависит от его сроков и выраженности, то постоянный контроль ВБД при ОКН поможет предотвратить послеоперационные осложнения.

4.2 Уровень биомаркеров сыворотки крови в динамике развития острой кишечной непроходимости

Доверительный интервал (95% CI) биомаркера РСТ у интактных животных составлял от – 45,7 и до – 77,7 пг/мл.

Средний показатель РСТ в Sham - группе зафиксирован в первые сутки на уровне $45,2 \pm 20,4$ пг/мл. В группе же с кишечной непроходимостью отмечается резкое повышение этого биомаркера в 5,4 раз по сравнению с группой сравнения ($p = 0,05$), что в общей картине подтверждает циркуляцию микроорганизмов в системном кровотоке, соответственно наличие факта БТ (таблица 4).

На 3-и сутки в группе сравнения наблюдается незначительный рост биомаркера в течение всего периода эксперимента с достижением максимальных цифр на 7 сутки.

В основной группе отмечается постепенный рост РСТ в сыворотке крови, как ответ на повышение проницаемости кишечного барьера и массивную транслокацию микроорганизмов с достижением максимальных цифр на 5-ые сутки эксперимента. Увеличение разницы показателей РСТ в группе с кишечной непроходимостью в 8,4 раза по сравнению с группой Sham ($p=0,08$) (таблица 4).

На 7-ые сутки кишечной непроходимости уровень биомаркера незначительно снижается на 19,1% в сравнении с показателем РСТ на 5 сутки, однако его уровень в 5,6 раз выше, чем в группе сравнения ($p=0,03$) (таблица 5).

Таблица 5 – Показатели биомаркера прокальцитонина (РСТ) пг/мл на 1,3,5 и 7 сутки

Сутки	N	Sham		95% CI	N	ОКН		95% CI	Z	p
		M	SD			M	SD			
1 день	10	45,2	20,4	-5,4 - 95,8	25	245,2	265,8	127,4 - 363,1	-1,92	0,05
3 день	10	58,4	11,9	-48,4 - 165,3	25	264,4	276,3	141,9 - 387,0	-0,94	0,41
5 день	10	61,7	22,6	-141,6 - 265,1	24	517,8	363,1	347,9 - 687,8	-1,08	0,08
7 день	10	75,0	11,6	-29,0 - 179,0	17	419,4	245,0	244,2 - 594,7	-2,15	0,03

Внутри группы сравнения значимых различий в зависимости от длительности послеоперационного периода (Sham операции) не выявлено ($\chi^2=2,57$; $p=0,46$).

Значимые различия между уровнем РСТ внутри основной группы имеются в различные периоды развития ОКН ($p=0,013$). Главным образом, значимые различия наблюдаются между 1 и 5 сутками ($z= -2,54$; $p=0,011$); 1 и 7 сутками ($z= -2,20$; $p=0,028$); 3 и 5 сутками ($z= -2,44$; $p=0,015$) (таблица 6).

Таблица 6 – Сравнение показателей РСТ основной группы по суткам

Сутки	РСТ			χ^2	k	p
	M	SD	95% CI			
1	245,2	265,8	127,4 - 363,1	10,8	3	0,013
3	264,4	276,3	141,9 - 387,0			
5	517,8	363,1	347,9 - 687,8			
7	419,4	245,0	244,2 - 594,7			
Примечание - χ^2 -значение критерия Краскела-Уоллиса для k-независимых групп						

Динамическое снижение уровня РСТ к 7 суткам, вероятно, объясняется снижением реактивности и иммунного ответа на бактериальную транслокацию, с редукцией факторов защиты. Более наглядно динамика РСТ в группах, представлена на рисунке 51.

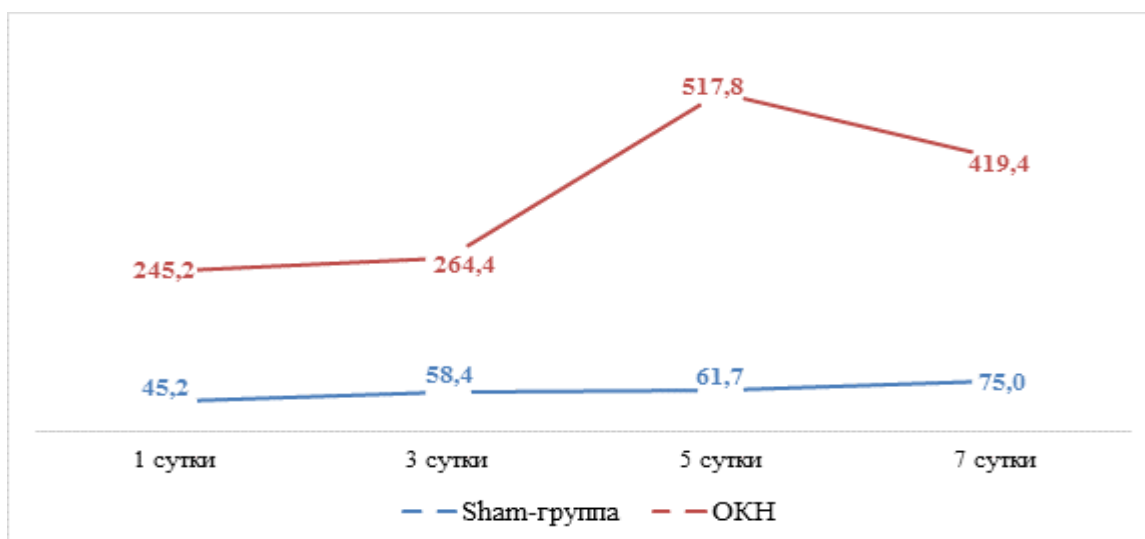


Рисунок 51 – Динамика уровня РСТ в группе ОКН и Sham – группе на 1-ые, 3-ие, 5-ые и 7-ые сутки у крыс

У интактной группы доверительный интервал (95% CI) биомаркера LBP составлял от – 56,2 и до – 94,5 нг/мл.

LBP в обеих группах в первые сутки эксперимента практически не отличались, и достигали максимальных значений по сравнению с последующими сроками. В остальные дни наблюдения динамика изменения имела свою специфику в опытной и группе Sham.

В группе сравнения его уровень повышается на первые сутки, что можно расценивать, как стрессовую реакцию на операционную травму, контакт брюшины с внешней средой, и механическое раздражение кишечника инструментом, в последующем его уровень снижается двукратно в каждые двое суток эксперимента, которая в динамике регрессировала с некоторым повышением на 7 сутки, что вероятно связано с вторичной реакцией послеоперационной раны (таблица 7).

В группе же с кишечной непроходимостью на 3 сутки показатели LBP снижаются в среднем на 19,5% в сравнении с показателями первых суток, но при сравнении с Sham - группой уровень изучаемого протеина повышен в 1,8 раз, однако данное снижение не показывает существенной статистической разницы ($p > 0,05$) (таблица 7).

На отметке 5-ти суток ОКН уровень LBP сохраняется повышенным в 3,2 раза в сравнении с контрольной группой ($p = 0,01$), и незначительно уменьшается в сравнении с 1 и 3 сутками. В то же время, прослеживается четкая тенденция к снижению данного биомаркера в динамике (таблица 7).

Таблица 7 – Показатели биомаркера липополисахарид-связывающего белка (LBP) на 1,3,5 и 7 сутки

Сутки	N	Sham		95% CI	N	ОКН		95% CI	Z	p
		M	SD			M	SD			
1 день	3	354,9	121,4	53,26- 656,53	22	371,5	158,2	301,36- 441,62	- 0,25	0,80
3 день	3	167,7	21,8	113,47-221,85	22	299,1	121,6	245,14-353,01	-1,42	0,15
5 день	3	88,6	22,9	53,52-123,59	20	289,7	127,7	229,90-349,42	-1,94	0,01
7 день	3	156,9	37,9	-69,78 -383,54	10	212,2	90,6	147,37-276,97	-0,21	0,83

На 7 сутки эксперимента наблюдается значительное снижение уровня LBP относительно 1 и 3 суток в группе с кишечной непроходимостью, так значение LBP к 7 суткам снизилось в 1,75 раз в сравнении с первыми сутками, однако данное различие статистически незначимо ($p>0,05$) (рисунок 52).

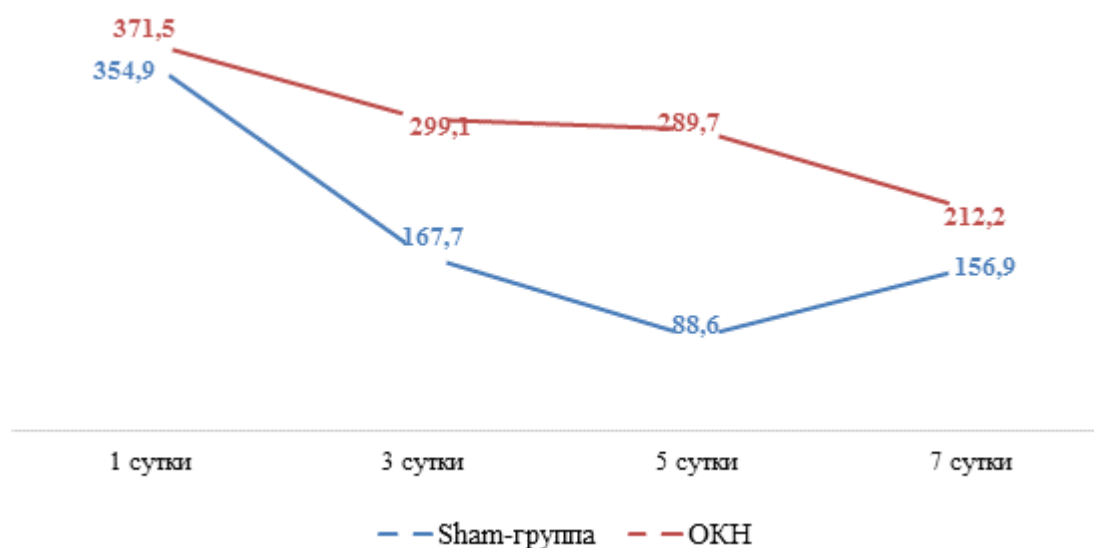


Рисунок 52 – Динамика уровня LBP в группе ОКН и Sham – группе на 1-ые, 3-ие, 5-ые и 7-ые сутки

У интактной группы доверительный интервал (95% CI) биомаркера CD-14 составлял от - 33,2 до - 56,1 нг/мл.

В первые сутки проводимого исследования средний показатель маркера CD-14 в группе Sham был выше почти в 1,5 раза, чем в группе с ОКН. Данное различие по статистическим расчетам незначимо ($p>0,05$). В динамике колебания исследуемого белка в группе контроля были незначительны, в целом оставаясь в пределах физиологической нормы, как изображено на рисунке 53.

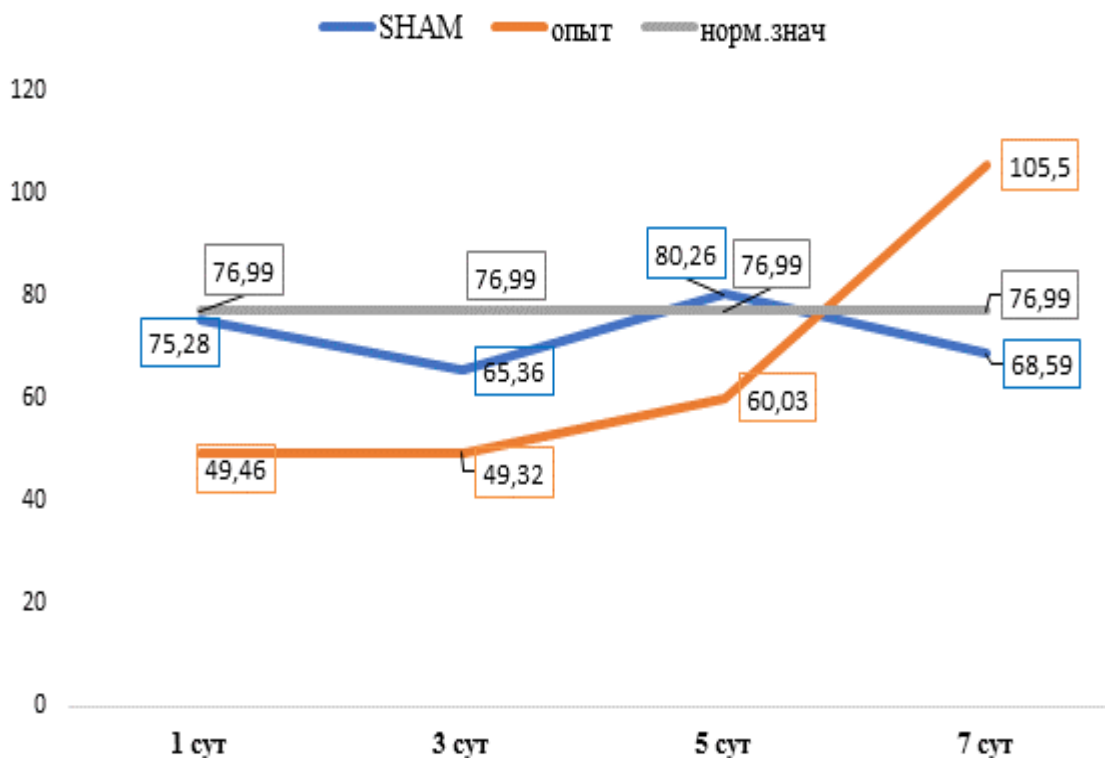


Рисунок 53 – Динамика средних значений CD-14 в обеих группах (ng/ml)

В опытной группе с первых суток эксперимента уровень маркера крови CD-14 изменялся незначительно.

На 3 сутки эксперимента показатель CD-14 в группе ОКН остался неизменным. Однако следует отметить, что в сравнении с группой Sham, найденное значение меньше в 1,3 раза.

На протяжении 1-5 суток кишечной непроходимости, значение CD-14 сохранялось ниже контрольного уровня, измеренного в группе Sham. Также, в группе ОКН на 3 сутки эксперимента и в группе Sham, отмечался наиболее высокий уровень биомаркера крови за весь период.

В группе ОКН в динамике с 5-х суток непроходимости уровень изучаемого протеина в сыворотке крови умеренно повышается в 1,2 раза. Однако, в сравнении с группой Sham, уровень данного биомаркера сохраняет свое значение ниже в 1,2-1,3 раза. Тенденция к повышению в группе ОКН сохраняется вплоть до 7-х суток непроходимости, когда зафиксировано максимальное повышение CD-14 в 1,75 раза. В группе контроля на 7 сутки значение CD-14 снижается, данное значение также значительно ниже уровня, наблюдаемого в опытной группе животных в 1,5 раза.

Как продемонстрировано на рисунке 54, на всем протяжении эксперимента различия в обеих группах статистически незначимы ($p > 0,05$).

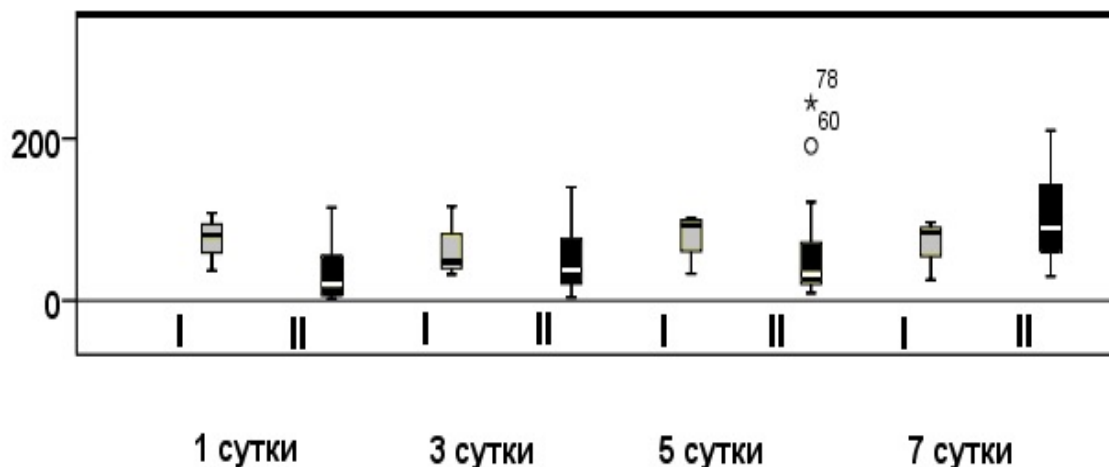


Рисунок 54 – Основные показатели колебания уровня CD-14 в динамике в группах сравнения (I – Sham, II – ОКН)

Таблица 8 – Статистические показатели биомаркеров в течение экспериментальной ОКН

Группа	Сутки	LPB				z	p	PCT				z	p	CD-14				z	p
		M	SD	95% CI				M	SD	95% CI				M	SD	95% CI			
I	1	354,8 9	121,4 3	53,26	656,5 3	- 0,25	0,80	45,20	20,36	-5,38	95,77	- 1,92	0,05	75,2 8	35,81	- 13,6 8	164,2 4	- 1,84	0,07
II	1	371,4 9	158,1 8	301,3 6	441,6 2			245,2 3	265,8 5	127,3 5	363,1 0			49,4 6	101,9	4,24	94,67		
I	3	167,6 6	21,81	113,4 7	221,8 5	- 1,42	0,16	348,0 1	501,6 8	- 898,2 2	1594, 2	- 0,08	0,93	65,3 6	44,63	- 45,5 0	176,2 2	- 0,92	0,36
II	3	299,0 7	121,6 5	245,1 4	353,0 1			264,4 4	276,3 2	141,9 3	386,9 5			49,3 2	41,33	30,9 9	67,64		
I	5	88,55	22,02	53,52	123,5 9	- 2,75	0,01	454,1 2	506,5 5	- 351,9 1	1260, 1	- 0,39	0,70	80,2 6	31,82	29,6 3	130,9 0	- 1,67	0,10
II	5	289,6 6	127,6 9	229,9 0	349,4 2			517,8 4	363,1 5	347,8 8	687,8 0			60,0 3	61,83	31,0 9	88,97		
I	7	156,8 8	91,24	- 69,78	383,5 4	- 0,68	0,50	219,8 3	250,9 9	- 403,6 6	843,3 2	- 1,69	0,09	68,5 9	37,72	- 25,1 1	162,3 0	- 0,85	0,40
II	7	212,1 7	90,58	147,3 7	276,9 7			419,4 2	244,9 8	244,1 8	594,6 7			105, 5	64,46	59,3 9	151,6 1		

Примечания:
Группа I – контроль (Sham операция, n=40)
Группа II – опытная (модель ОКН, n=91)
Z - критерий Манна-Уитни для 2 независимых групп.

4.3 Динамика энтероперитонеальной транслокации в динамике кишечной непроходимости в эксперименте

В ходе эксперимента всего было проведено 141 валидное исследование на микробную флору, из них: с Sham-операцией 40 (28,4%), интактных 10 (7,1%), с созданием модели ОКН 91 (64,5%), которые были поделены на подгруппы: 1 сутки – 25 (27,5%), 3 сутки – 25 (27,5%), 5 сутки – 24 (26,4%) и 17 сутки (18,7%).

4.3.1 Спектр микробной флоры в интактной, Sham – группе и в группе с острой кишечной непроходимостью

4.3.1.1 Спектр микробной флоры интактной, Sham – группе и в группе с ОКН в кишечном содержимом

В результате исследования содержимого дистального отдела тонкой кишки над уровнем создания обструкции из просвета кишки рост микроорганизмов получен у 135 из 141 крыс (95,7%). Из 142 случаев выявленного роста микроорганизмов чаще всего выявлялись энтеробактерии, среди которых преобладали микроорганизмы родов *Escherichia* – 72 (50,7%) и *Klebsiella* 42 (29,6%) (рисунок 55).

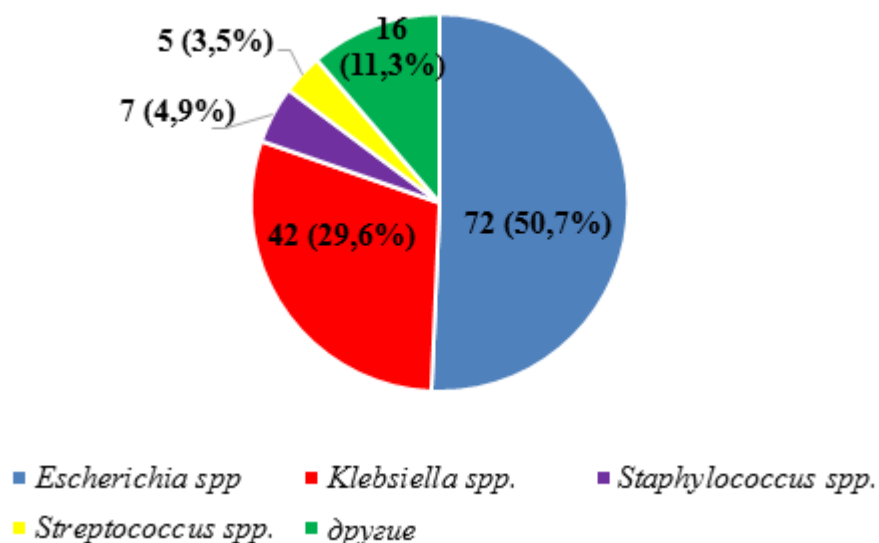


Рисунок 55 – Процентное соотношение микроорганизмов, высеянных их просвета кишечника

В посеве из просвета кишки 10 интактных крыс, в 3 случаях, роста микрофлоры не получено, в остальных 7 случаях, получен рост *клостридий* - 1, *лактобактерий* - 3 и *стрептококка* – 3 (рисунок 56).

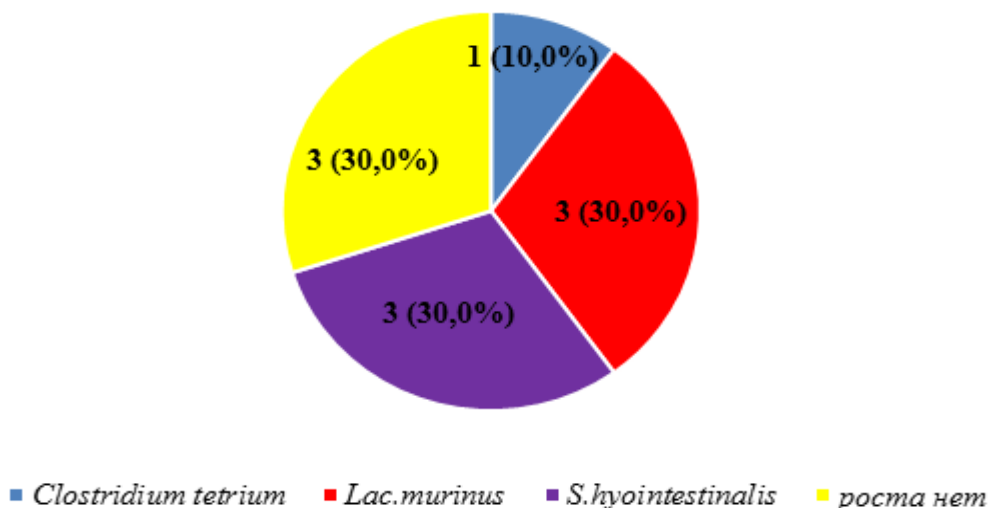


Рисунок 56 – Процентное соотношение микроорганизмов, высеянных из просвета кишечника у интактных крыс

В Sham-группе (лапаротомия без модели ОКН) из 40 крыс у 3 роста микрофлоры не получено, у 37 крыс из просвета кишки получен рост 18 бактерий. Преобладала кишечная палочка 8 (44,4%) (рисунок 57).

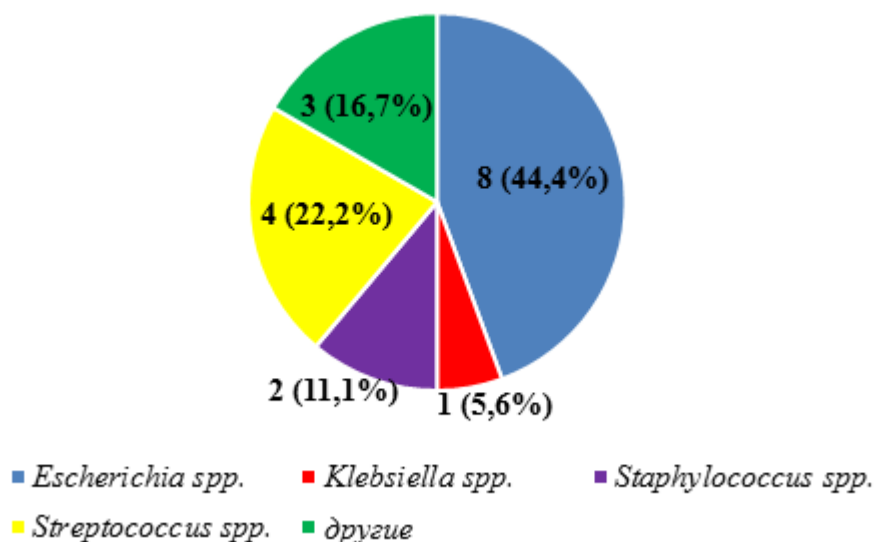


Рисунок 57 – Процентное соотношение микроорганизмов, высеянных из просвета кишечника у контрольной группы

На 1 сутки развития ОКН у всех 25 крыс из просвета кишки выше места обструкции выявлена микрофлора, всего 25 различных микроорганизмов в основном грамотрицательные бактерии родов *Escherichia* и *Klebsiella* составляющие вместе более 88% всех обнаруженных микроорганизмов.

На 3 сутки развития ОКН у всех 25 крыс из просвета кишки выше места обструкции выявлена микрофлора, в 8 случаях в ассоциациях, всего 41 различных микроорганизмов, также преобладали грамотрицательные бактерии родов *Escherichia* 52,5% и *Klebsiella* 35,0%.

На 5 сутки развития ОКН из 24 крыс у всех из просвета кишки выше места обструкции выявлена микрофлора, в 3 случаях в ассоциациях, всего 25 микроорганизмов, также заметно преобладание грамотрицательных бактерии родов *Escherichia* 60,0% и *Klebsiella* 32,0%.

На 7 сутки развития ОКН из 17 крыс у всех из просвета кишки выше места обструкции выявлена микрофлора, в 3 случаях в ассоциациях, всего 27 микроорганизмов, также заметно преобладали грамотрицательные бактерии: *Escherichia* 55,6% и *Klebsiella* 33,3%, грамположительные кокки - 7,4% (рисунок 58).

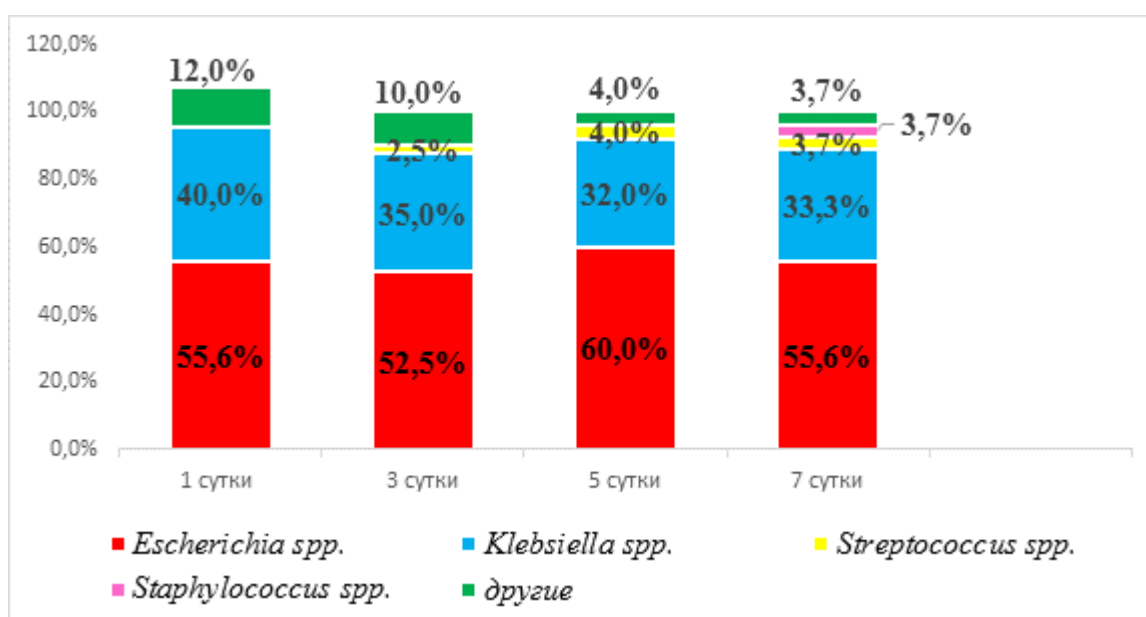


Рисунок 58 – Процентное соотношение микроорганизмов, высеянных из просвета кишечника у группы с острой кишечной непроходимостью на 1, 3, 5 и 7 сутки

4.3.1.2 Спектр микробной флоры интактной, Sham – группе и в группе с ОКН в перитонеальном выпоте брюшной полости

Всего из брюшной полости микробная культура выделена у 36 (25,5%) из 141 крыс, причем в 21 (14,9%) наблюдениях ассоциации 2 бактерий. Из 44 определенных микроорганизмов преобладали грамотрицательные бактерии родов *Escherichia* – 24(54,5%) и *Klebsiella* - 12(27,3%) (таблица 9).

Таблица 9 – Распределение микроорганизмов, высеянная из брюшной полости в группе с ОКН

Микроорганизмы	абс	%
<i>Escherichia sp.</i>	24	54,5
<i>Klebsiella sp.</i>	12	27,3
<i>Staphylococcus sp.</i>	4	9,1
<i>другие</i>	4	9,1
Итого	44	100,0

В посеве из брюшной полости у всех 10 интактных и из 40 крыс Sham группы роста микрофлоры не получено.

В группе с моделью ОКН на 1 сутки развития непроходимости в выпоте из брюшной полости получен рост микробов у 8 (32,0%) из 25 крыс, из них у 2 в ассоциациях. Из 9 бактерий в 5 (55,6%) случаях выявлена *кишечная палочка*, в 1(11,1%) – *клебсиелла*, 1(11,1%) – *ацинетобактер*, 1(11,1%) – *стафилококк* и 1(11,1%) – *лактобацилла*.

На 3 сутки развития ОКН в выпоте из брюшной полости получен рост микробов у 11 (44,0%) из 25 крыс, из них в 1 случае в ассоциации. Все 16 бактерий являются грамотрицательными: 50% - *кишечная палочка* и 43,7% – *клебсиелла* (таблица 10).

На 5 сутки развития ОКН в выпоте из брюшной полости получен рост микроорганизмов у 11 (45,8%) из 24 крыс, из них в 1 случае в ассоциации. Из 14 бактерий преобладала грамотрицательная флора 57,1% - *кишечная палочка* и 21,4% – *клебсиелла* (таблица 10).

Таблица 10 – Процентное соотношение микроорганизмов, высеянных из брюшной полости у группы с ОКН на 3 и 5 сутки

Микроорганизмы	3 сутки		5 сутки	
	абс	%	абс	%
<i>Escherichia sp.</i>	8	50	8	57,1
<i>Klebsiella sp.</i>	7	43,7	3	21,4
<i>Staphylococcus sp.</i>	1	6,3	1	7,1
<i>другие</i>	0	0	2	14,3
Итого	16	100,0	14	100,0

На 7 сутки развития ОКН в выпоте из брюшной полости получен рост микроорганизмов у 6 (35,3%) из 17 крыс, из них в 1 случае в ассоциации. Из 5

случаев бактериального роста в 3 (60%) случаях – *E. coli*, 1 (20%) – *Klebsiella sp*, и в 1 (20%) – *S. aureus*.

4.3.2 Динамика микрофлоры в кишечнике в группе с ОКН и Sham группе

По наличию микрофлоры в просвете кишечника отличия в группе интактных крыс и группе Sham, а также в группе ОКН не значимые (таблица 11).

Таблица 11 – Наличие роста микроорганизмов в просвете кишечника в группах

Результат посева	Интактные N=10		Sham N=40		1 сутки N=25		3 сутки N=25		5 сутки N=24		7 сутки N=17		ВСЕГО N=141	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Роста нет	3	30	3	7,5	0	0	0	0	0	0	0	0	6	4,3
Рост есть	7	70	37	92,5	25	100	25	100	24	100	17	100	135	95,7

Средний показатель LgКОЕ кишечного содержимого в интактной группе составил 7,0 (SD=1,58).

При сравнении группы с кишечной непроходимостью и Sham-группы микробная обсемененность просвета кишки над уровнем обтурации резко возрастает в группе с ОКН и на 1-е сутки составляет 9,82 LgКОЕ/мл, что в 1,6 раз выше, чем в группе сравнения, с последующим сохранением значений КОЕ/мл на этом же уровне на протяжении всего периода наблюдения (7 суток). При этом статистически значимая разница в показателях LgКОЕ между основной группой и группой сравнения отмечается на 1-е (p=0,03) и 5-е сутки (p=0,04) соответственно (таблица 12). Также при сравнении уровней КОЕ/мл внутри групп, как в основной, так и в Sham-группе значимых различий не выявлено (p>0,05) (таблица 12).

Таблица 12 – Количество колониеобразующих единиц (Lg КОЕ/мл) кишечного содержимого в динамике течения экспериментальной группы Sham и группы с ОКН

Группа	1 сутки		3 сутки		5 сутки		7 сутки		k	χ^2	p
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD			
Sham	6,0	2,8	7,5	1,15	6,0	2,0	8,3	2,08	3	7,12	0,15
ОКН	9,82	1,65	9,82	1,30	9,15	2,18	9,3	1,83	3	1,99	0,57
z	-2,17		-1,16		-2,10		-0,52				
p	0,03		0,31		0,04		0,69				
Примечания: χ^2 -критерий Краскела-Уоллиса для k-независимых групп (сравнение между различными сутками после операции) z- критерий Манна-Уитни для 2 независимых групп (контроль-основная)											

Проведенный анализ уровня микробной обсемененности кишечного содержимого в группе с выявленной транслокацией показал, что в динамике она изменяется не значимо (таблица 13), что указывает на стабильность кишечного микробиоценоза даже при критических состояниях.

Таблица 13 – Количество LgКОЕ в просвете кишки в зависимости от длительности ОКН (положительные посева)

Сутки	LgКОЕ/мл в кишечнике		F	p
	m	SD		
1 сутки (n=25)	10,17	0,983	1,06	0,381
3 сутки (N=25)	9,46	1,127		
5 сутки (N=24)	9,91	1,700		
7 сутки (N=17)	8,50	3,000		

Таблица 14 – Зависимость наличия энтероперитонеальной транслокации при экспериментальной ОКН от уровня кишечной флоры у лабораторных крыс

Группы	N	M	SD	F	p
		Lg КОЕ/мл в кишечнике	Lg КОЕ/мл в кишечнике		
Транслокации нет	55	9,39	1,830	0,375	0,542
Транслокация есть	36	9,62	1,596		

Как видно из таблицы 10, средние значения и распределения десятичного логарифма значения КОЕ/мл в просвете кишки практически одинаковые в группе, где выявлена транслокация бактерий в брюшную полость и в группе,

где посев из брюшной полости оказался стерильным. То есть, вероятно, наличие энтероперитонеальной транслокации у лабораторных крыс, значимо не зависит от количества микроорганизмов в просвете кишки, над уровнем ее обтурации.

4.3.3 Динамика микрофлоры в брюшной полости в группе с ОКН и Sham группе

При определении микрофлоры в брюшной полости наибольший уровень энтероперитонеальной транслокации выявлен на 3 и 5 сутки (44% и 45,8% соответственно) (таблица 15).

Таблица 15 – Наличие роста микроорганизмов в брюшной полости в группах

Результат посева	Интактные N=10		Sham N=40		1 сутки N=25		3 сутки N=25		5 сутки N=24		7 сутки N=17		ВСЕГО 141	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
Роста нет	10	100	40	100	17	68	14	56	13	54,2	11	64,7	105	74,5
Рост есть	0	0	0	0	8	32	11	44	11	45,8	6	35,3	36	25,5

При сравнении группы Sham с группой ОКН по наличию микрофлоры в брюшной полости в зависимости от длительности течения ОКН имеется статистически значимая разница ($p=0.017$), что свидетельствует о наличии энтероперитонеальной транслокации (таблица 16).

Таблица 16 – Наличие роста микрофлоры в брюшной полости в зависимости от длительности ОКН

Результат посева	Sham	1 сутки	3 сутки	5 сутки	7 сутки	k	χ^2	p
Роста нет	40	17	14	13	11	4	12,05	0,017
Рост есть	0	8	11	11	6			
Всего	40	25	25	24	17			

Примечания:
k - количество степеней свободы
 χ^2 - критерий Хи-квадрат Пирсона

Что касается динамики количества микрофлоры в брюшной полости, то из-за того, что транслокация была выявлена в среднем только в 39,6% случаев, мы не выявили значимой разницы в динамике уровня КОЕ/мл на протяжении 7 суток ($p>0,05$) (таблица 17).

Таблица 17 – Уровень бактериальной обсемененности (Lg КОЕ/мл) перитонеального выпота у крыс в динамике течения экспериментальной острой кишечной непроходимости

ОКН	LgКОЕ в БП		F	p
	M	SD		
1 сутки (N=25)	1,41	2,56	2,19	0,07
3 сутки (N=25)	1,55	2,26		
5 сутки (N=24)	1,70	3,05		
7 сутки (N=17)	2,20	1,87		

Анализ уровня КОЕ/мл только в группе с выявленной транслокацией выявил статистически значимую разницу в уровне микробной обсеменённости в группе ОКН уже в первые сутки. При этом установлено, что имеется значимая разница уровня КОЕ/мл в зависимости от длительности ОКН ($p=0,02$). При этом максимальный рост микрофлоры отмечается на 1 сутки, а минимальный – на 7 сутки (таблица 18), что очевидно указывает на постепенное конкурентное вытеснение группы аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов группой облигатных микроорганизмов, которые часто являются трудно-культивируемыми или некультивируемыми [217, с. 9628].

Таблица 18 – Количество КОЕ/мл брюшной полости с выявленной транслокацией в зависимости от длительности ОКН

Сутки	LgКОЕ в БП		F	p
	M	SD		
1 сутки (N=8)	5,17	2,04	3,504	0,027
3 сутки (N=11)	4,25	1,49		
5 сутки (N=11)	4,86	3,38		
7 сутки (N=6)	3,14	1,34		

Заключение. При развитии ОКН у экспериментальных животных наибольший уровень энтероперитонеальной транслокации выявлен на 3 и 5 сутки (44% и 45,8% соответственно).

Статистически значимый рост микрофлоры в просвете кишки над уровнем обтурации наблюдался в 1-е сутки 10,05 LgКОЕ и удерживался на уровне 9,63 LgКОЕ на протяжении всего периода наблюдения.

Было выявлено, что уровень КОЕ/мл в брюшной полости зависит от длительности ОКН, своего максимума он достигает в 1-ые сутки 5,17 LgКОЕ и минимума к 7-ым суткам 3,14 LgКОЕ.

Таким образом, мы не выявили зависимости уровня микробной обсемененности в брюшной полости от количества микроорганизмов в просвете кишки.

4.4 Взаимосвязь внутрибрюшного давления, энтероперитонеальной и системной транслокации микроорганизмов в группе с острой кишечной непроходимостью, где выявлена бактериальная транслокация

Отобран 21 результат моделей ОКН, при которых уровень КОЕ в перитонеальном выпоте был выше 0, то есть случаи, где произошла транслокация кишечной флоры. Проведена оценка силы корреляционной зависимости между изучаемыми показателями.

Таблица 19 - Корреляция в группе ОКН между ВБД и энтероперитонеальной транслокацией

Показатели		ВБД до ОКН (рт. ст.)	ВБД после ОКН (рт. ст.)
КОЕ выпота	Корреляция Пирсона	0,571**	-0,283
	Знач. (2-сторон)	0,007	0,213
КОЕ кишечника	Корреляция Пирсона	-0,744**,*	0,315
	Знач. (2-сторон)	0,000	0,164
Примечания: * - Корреляция значима на уровне 0.05 (2-сторон) ** - Корреляция значима на уровне 0.01 (2-сторон)			

Как видно из таблицы 19, исходный уровень ВБД имеет прямую среднюю корреляцию с уровнем КОЕ/мл в перитонеальном выпоте и обратную высокую корреляционную зависимость с уровнем КОЕ/мл в просвете кишки. Соответственно, чем выше ВБД исходное, тем выше уровень КОЕ/мл выпота после развития ОКН и тем ниже уровень КОЕ/мл в просвете кишки.

При проведении корреляционной связи в группе с кишечной непроходимостью между уровнем КОЕ/мл кишечного содержимого, а также выпота из брюшной полости и уровнем ВБД после моделирования ОКН статистически значимой зависимости не было выявлено ($p > 0,05$).

Таблица 20 - Корреляция в группе ОКН между уровнем КОЕ/мл и показателями энтерогематической транслокации

Показатели		LBP	PCT	CD14	КОЕ кишки
LBP	Корреляция Пирсона	1			
	Знач. (2-сторон)				
PCT	Корреляция Пирсона	-0,19	1		
	Знач. (2-сторон)	0,41			
CD14	Корреляция Пирсона	-0,39	0,49*	1	
	Знач. (2-сторон)	0,08	0,02		
КОЕ кишки	Корреляция Пирсона	0,49*	-0,26	-0,74**	1
	Знач. (2-сторон)	0,02	0,26	0,001	0,183
Примечания: * - Корреляция значима на уровне 0.05 (2-сторон) ** - Корреляция значима на уровне 0.01 (2-сторон)					

Как видно из таблицы 20, между уровнями CD14 и PCT в сыворотке крови, а также между уровнем LBP и КОЕ/мл в просвете кишки имеется прямая средней силы корреляционная связь. А также между уровнями CD14 и КОЕ/мл в просвете кишечника при ОКН выявлена обратная высокая корреляционная зависимость.

Соответственно, чем выше уровень КОЕ/мл в просвете кишки, тем выше уровень липополисахарид-связывающего белка, но ниже уровень CD14 в сыворотке крови. А также при увеличении уровня CD14, увеличивается уровень PCT.

Между показателями PCT, CD14 и LBP статистически значимой корреляционной связи не было выявлено ($p > 0,05$). Также статистически значимой корреляционной связи не обнаружено между PCT и уровнем КОЕ/мл кишечного содержимого ($p > 0,05$).

Также имеется средняя корреляционная зависимость между CD14 в крови и уровнем КОЕ/мл в перитонеальном выпоте при ОКН. С показателями же LBP и PCT корреляционная связь отсутствует (таблица 21).

Таблица 21 - Корреляция в группе ОКН между энтероперитонеальной и энтерогематической транслокацией

Показатели		LBP	PCT	CD14
КОЕ выпота	Корреляция Пирсона	-0,195	0,278	0,571**
	Знач. (2-сторон)	0,397	0,223	0,007
Примечания: * - Корреляция значима на уровне 0.05 (2-сторон) ** - Корреляция значима на уровне 0.01 (2-сторон)				

Таблица 22 - Корреляция между микрофлорой кишечника и брюшной полости

Показатели		КОЕ кишки
КОЕ выпота	Корреляция Пирсона	-0,302
	Знач. (2-сторон)	0,183
	N	21

Как видно из таблицы 22, в группе ОКН, где выявлена энтероперитонеальная транслокация, проведена корреляция между содержанием микроорганизмов в просвете кишки и в брюшной полости. Полученные данные свидетельствуют, что статистически значимой зависимости между уровнем КОЕ/мл в просвете кишки и уровнем КОЕ/мл в брюшной полости нет ($p > 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование было посвящено изучению влияния острой тонкокишечной непроходимости на уровень энтерогематической и энтероперитонеальной транслокации в эксперименте. Исходя из обзора литературных данных, в патогенезе развития БТ при кишечной непроходимости, немаловажное значение имеет ВБД, которое запускает каскад других патологических изменений. Большой интерес в изучении данной темы, также представлен поиском биомаркеров бактериальной миграции, для детекции явления БТ, и которые еще могут выступать как предикторы септических осложнений при кишечной непроходимости. На сегодняшний день, наиболее известными биомаркерами являются прокальцитонин и липополисахарид-связывающий белок.

В результате анализа, измеренного внутрибрюшного давления при острой тонкокишечной непроходимости, отмечается значимое увеличение показателей внутрибрюшного давления в сравнении с исходными значениями на протяжении всего периода наблюдения ($p < 0,0001$). Уровень внутрибрюшного давления на 1 сутки развития острой тонкокишечной непроходимости в 4,8 раза выше в сравнении с Sham-группой ($p = 0,001$). И поскольку патологическое влияние повышенного ВБД, зависит от сроков и выраженности, то постоянный его контроль позволит предупредить и избежать послеоперационные осложнения тромбозомболического характера [218], развития абдоминального компартмент-синдрома, гнойно-воспалительных осложнений [219, 220].

Значительное изменение уровня РСТ в первые сутки развития ОКН в эксперименте, с постепенным повышением до максимальных значений к 5 суткам течения кишечной непроходимости, в сравнении с исходными показателями, не противоречит литературным данным, где отмечается роль прокальцитонина, как маркера начальной стадии бактериемии и микробной транслокации [183, с. 156]. Динамическое снижение уровня РСТ к 7 суткам, вероятно, объясняется снижением реактивности и иммунного ответа на бактериальную транслокацию с редукцией факторов защиты. РСТ, являясь надежным индикатором попадания в кровеносное русло Грамотрицательных микроорганизмов, позволяет эффективно регистрировать начальные этапы транслокации микроорганизмов. Учитывая вышеизложенное, изученный биомаркер может служить достоверным ранним маркером бактериальной миграции и транслокации в начальном периоде острой тонкокишечной непроходимости, а также предиктором ранних септических осложнений данной патологии.

По данным литературы, LBP является наиболее ранним маркером бактериальной миграции в системный кровоток, уровень которого, значительно повышается в начальные сроки развития патологии брюшной полости [221]. По итогам настоящего исследования, в ходе которого, в первые сутки развития непроходимости, зафиксирован повышенный уровень данного биомаркера в группах ОКН и Sham, причем статистически различия незначительны.

Очевидно, что уровень LBP в первые сутки реагирует повышением как на операционную травму и лапаротомию, в частности, без развития непроходимости, так и непосредственно на развитие бактериемии при длительно текущей кишечной непроходимости. Можно предположить, что максимальное статистическое различие в показателях LBP выявляется не в первые сутки, а в первые часы развития заболевания, что в рамках настоящего исследования не изучалось. Тем не менее, наиболее высокий уровень LBP в начальные сроки заболевания и последующее его снижение в динамике, позволяет сделать заключение о роли LBP, как раннего агента транслокации, действительно указывающего на миграцию микробных агентов из кишечника в системный кровоток с последующим развитием генерализованных осложнений.

Низкое значение биомаркера CD-14 в течение всего периода острой тонкокишечной непроходимости, с умеренным повышением к 7-м суткам эксперимента, а также незначительные различия показателей в группах ОКН и Sham, а в ранние сроки, данные изменения зафиксированы в пользу Sham группы, что в целом говорит о низкой специфичности указанного маркера в детекции бактериальной транслокации. Изученная фракция данного белка является общим воспалительным белком, белком «стрессового» характера, реагирующим на операционную травму и повреждение тканей [222]. Максимальное повышение уровня биомаркера к 7м суткам непроходимости в группе ОКН, указывает на развитие синдрома системной воспалительной реакции с вовлечением всех гуморальных факторов фагоцитоза. В изучении явления микробной транслокации при острой тонкокишечной непроходимости биомаркер CD-14 мало информативен, и использование его нецелесообразно.

При изучении энтероперитонеальной БТ уже на 1-ые сутки ($p=0,03$), а также и на 5-ые сутки ($p=0,04$), отмечается достоверное увеличение числа микробных клеток в просвете участка кишечника над уровнем обтурации в сравнении с группой Sham (9,82Lg КОЕ/мл), с последующим сохранением значений КОЕ/мл на этом же уровне на протяжении всего периода наблюдения. При сравнении группы Sham с группой ОКН по наличию микрофлоры в брюшной полости, наибольшая частота энтероперитонеальной транслокации, выявлена на 3 и 5 сутки (44% и 45,8% соответственно) ($p=0.017$). При проведении анализа уровня КОЕ/мл только в группе с выявленной транслокацией, было установлено, что имеется значимая разница уровня КОЕ/мл в зависимости от длительности ОКН ($p=0,02$). Таким образом, анализ результатов исследования показал, что в группе лабораторных животных с моделированием тонкокишечной непроходимости развивался синдром избыточного бактериального роста, что подтверждается повышенной концентрацией аэробных бактерий и повышенной бактериальной обсемененностью в кишечном содержимом, а также в перитонеальном содержимом, что является показательным индикатором бактериальной транслокации.

Разработанный дизайн эксперимента и экспериментальная модель ОКН и примененные современные методы исследования позволили полностью решить

поставленную цель - изучить в эксперименте влияние острой тонкокишечной непроходимости на уровень энтерогематической и энтероперитонеальной транслокации микроорганизмов.

Полученные результаты показали статистическую значимость изменений отдельных показателей ВВД, РСТ, LBP, микрофлоры кишечного и перитонеального содержимого в зависимости от продолжительности острой тонкокишечной непроходимости и позволили сформулировать следующие **выводы:**

1. Разработанная модель острой тонкокишечной непроходимости у лабораторных животных не приводит к развитию некроза и перфорации в зоне обтурации на протяжении 7 суток, быстро воспроизводима по времени и проста в исполнении. Четкие ориентиры для наложения клипсы (илеоцекальный угол), обеспечивают стандартность воспроизведения модели острой тонкокишечной непроходимости.

2. Выявлено статистически значимое увеличение показателей внутрибрюшного давления при острой тонкокишечной непроходимости в сравнении с исходными значениями на протяжении всего периода наблюдения ($p < 0,0001$). Уровень внутрибрюшного давления на 1 сутки развития острой тонкокишечной непроходимости в 4,8 раза выше в сравнении с Sham-группой ($p = 0,001$). Между исходным уровнем внутрибрюшного давления и уровнем обсемененности (КОЕ) в брюшной полости при развитии непроходимости выявлена прямая средняя корреляционная связь ($R = 0,57$; $p = 0,007$).

3. На протяжении 7 суток развития острой тонкокишечной непроходимости уровень прокальцитонина остается повышенным, при этом в сравнении с группой Sham, уровень данного маркера в 5,4 раза выше на 1-ые ($p = 0,05$) и в 5,6 раз на 7-ые сутки ($p = 0,03$). Также отмечены статистически значимые различия уровня прокальцитонина, между 1 и 5 сутками ($p = 0,011$); 1 и 7 сутками ($p = 0,028$); 3 и 5 сутками ($p = 0,015$) в динамике развития острой тонкокишечной непроходимости. Между уровнями биомаркеров CD14 и прокальцитонина в сыворотке крови выявлена значимая прямая средней силы корреляционная связь ($R = 0,49$; $p = 0,002$).

4. Максимальное увеличение липополисахарид-связывающего белка в группах сравнения, отмечается на первые сутки эксперимента (Sham - 354,9 нг/мл и ОКН - 371,5 нг/мл) с постепенным снижением к 7 суткам. При этом на 5-е сутки уровень липополисахарид-связывающего белка в группе с острой кишечной непроходимостью в 3,2 раза выше, чем в Sham группе ($p = 0,01$).

5. Выявлен статистически значимый рост микрофлоры в просвете кишечника над уровнем непроходимости на 1-ые сутки ($p = 0,03$) и 5-ые сутки ($p = 0,04$) в сравнении с Sham группой, при этом повышенный уровень обсемененности сохранялся в течение 7 суток развития острой тонкокишечной непроходимости (КОЕ = $10^9 - 10^{10}$ /мл.). Наибольшая частота энтероперитонеальной транслокации выявлена на 3 и 5 сутки (44% и 45,8% соответственно, $p = 0,017$). В группе животных с выявленной энтероперитонеальной транслокацией уровень КОЕ в брюшной полости

составляет 10^3 - 10^5 /мл. в зависимости от сроков развития непроходимости. В спектре микроорганизмов как в просвете кишки, так и в брюшной полости преобладают грамотрицательные бактерии родов *Escherichia* и *Klebsiella*, суммарная доля которых, составляет свыше 90%. Имеется прямая корреляционная зависимость между уровнем липополисахарид-связывающего белка и уровнем КОЕ в просвете кишки ($R= 0,49$; $p=0,02$), а также между уровнем обсемененности в брюшной полости и CD14 ($R= 0,57$; $p=0,007$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанная модель острой тонкокишечной непроходимости может быть использована в различных экспериментальных исследованиях для изучения основных патогенетических механизмов развития заболевания и его осложнений.

2. Мониторинг внутрибрюшного давления может быть использован в клинической практике для диагностики осложнений острой кишечной непроходимости.

3. Результаты исследования позволяют рекомендовать прокальцитонин и липополисахарид-связывающего белок для детекции энтерогематической транслокации микроорганизмов при острой тонкокишечной непроходимости в эксперименте.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Wiest R., Lawson M., Geuking M. Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis // *J Hepatol.* – 2014. – № 60. – P. 197-209.
- 2 Schnabl B., Brenner D.A. Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases // *Gastroenterology.* – 2014. – № 146. – P. 1513-1524.
- 3 Andrade M.E., Araújo R.S., de Barros P.A. et al. The role of immunomodulators on intestinal barrier homeostasis in experimental models // *Clin. Nutr.* – 2015. – Vol. 34, № 6. – P. 1080-1087.
- 4 Piton G., Capellier G. Biomarkers of gut barrier failure in the ICU // *Curr. Opin. Crit. Care.* – 2016. – Vol. 22, № 2. – P. 152-160.
- 5 Lin Z.L., Yu W.K., Tan S.J. et al. Protective effects of terminal ileostomy against bacterial translocation in a rat model of intestinal ischemia/reperfusion injury // *World J. Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 20, № 47. – P. 17905-17913.
- 6 Mortensen C., Jensen J.S., Hobolth L. et al. Association of markers of bacterial translocation with immune activation in decompensated cirrhosis // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2014. – Vol. 26, № 12. – P. 1360-1366.
- 7 Амаханов А.К. Коррекция энтеральной недостаточности при острой кишечной недостаточности: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / ФГБОУ «Рязанский гос. мед. ун-т». – Рязань, 2016. – 145 с.
- 8 Савельев В.С. Руководство по неотложной хирургии. – М.: Триада-Х, 2004. – 640 с.
- 9 Wang Q., Hu Z.Q., Wang W.J., Zhang J., Wang Y., Ruan C.P. Laparoscopic management of recurrent adhesive small-bowel obstruction: Long-term follow-up // *Surg. Today.* – 2009. – Vol. 39, №6. – P. 493-499.
- 10 Шаповальянц С.Г., Ларичев С.Е., Сажин А.В. и др. Национальные клинические рекомендации «острая неопухолевая кишечная непроходимость» // XII Съезд хирургов России «Актуальные вопросы хирургии». – Ростов-на-Дону, 2015. – 36 с.
- 11 Тотиков В.З., Калицова М.В., Амриллаева В.М. Лечебно-диагностическая программа при острой спаечной обтурационной тонкокишечной непроходимости // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* – 2006. – №2. – С. 38-43.
- 12 Чернов А.В. Криоденервация тонкой кишки в комплексном лечении острой кишечной непроходимости: автореферат дисс. ... канд. мед. наук: 14.00.27 – Екатеринбург, 2006. – 24 с.
- 13 Gowen, G.F. Rapid resolution of small-bowel obstruction with the long tube, endoscopically advanced into the jejunum // *Am. J. Surg.* – 2007. – Vol. 193, №2. – P. 184-189.
- 14 Teixeira P.G., Karamanos E., Talving P. et al. Early operation is associated with a survival benefit for patients with adhesive bowel obstruction // *Annals of surgery.* – 2013. – Vol. 258, №3. – P. 459-465.
- 15 Федорова Н.А. Оптимизация хирургического доступа при тонкокишечной непроходимости в зависимости от типовых особенностей

брюшной полости: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17 / ГБОУВПО «Пермский гос. мед. ун-т». – Пермь, 2016. – 146 с.

16 Пеев Б.И., Довженко А.Н. Бактериальная транслокация и нарушения моторно-эвакуаторной функции тонкой кишки в послеоперационном периоде у больных с острой кишечной непроходимостью // Украинський Журнал Хірургії. – 2009. – №4. – С. 113-116.

17 Жилина А.А., Лузина Е.В., Томина Е.А. и др. Синдром избыточного бактериального роста в кишечнике – современное состояние проблемы // Российский медицинский журнал. – 2014. – №6. – С. 14-18.

18 Бондаренко В.М. Роль условно-патогенных бактерий при хронических воспалительных процессах различной локализации. – М.: Изд-во «Триада», 2011. – 88 с.

19 Затула Д.Г., Резник С.Р. Влияние метаболитов споровых сапрофитных бактерий на организм человека и животных // Наукова Думка. – Киев, 1973. – 119 с.

20 Нуралиев Н.А., Сувонов К.Ж. Феномен бактериальной транслокации – микробиологические аспекты // Вестник проблем биологии и медицины. – 2015. – Т. 1, №2. – С. 41-47.

21 Койшибаев Ж.М., Аманова Д.Е. Феномен бактериальной транслокации при острой кишечной непроходимости // Медицина и Экология. – 2017. – №1(82). – С. 56-65.

22 Berg R.D., Garlington A.W. Translocation of certain indigenous bacteria from the gastrointestinal tract to the mesenteric lymph nodes and other organs in the gnotobiotic mouse model // Infect Immun. – 1979. – Vol. 23, №2. – P. 403-411.

23 Карпенко А.Ю. Изменение трансинтестинальной проницаемости и показателей врожденного иммунитета у онкологических больных в периоперационном периоде: дис. ... канд. биол. наук: 14.03.09 / ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» МЗРФ. – М., 2015. – 101с.

24 Berg R.D. Bacterial translocation from the intestines // Jikken Dobutsu. – 1985. – Vol. 34, №1. – P. 1-16.

25 Агабабова А.А., Авакян Л.А. Значение бактериальной транслокации и ее роль в формировании симбиотических отношений с макроорганизмом // Национальная академия наук Армении. – 2008. – Т. 108, №3. – С. 262-269.

26 Deitch E.A., Xu D., Kaise V.L. Role of the gut in the development of injury- and shock induced SIRS and MODS: the gut-lymph hypothesis, a review // Front Biosci. – 2006. – Vol.11. – P. 520-528.

27 Салато О.В., Попов М.В., Галеев Ю.М. Патологические механизмы бактериального эндотоксикоза при странгуляционной кишечной непроходимости // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – №5. – С. 192-196.

28 Третьяков Е.В., Варганов М.В., Никифорова Е.Е. Современный взгляд на кишечную транслокацию бактерий как основную причину гнойно-септических осложнений при деструктивном панкреатите // Журнал «Успехи современного естествознания». – 2013. – №9 – С. 78-80.

29 Пеев Б.И., Довженко А.Н. Бактериальная транслокация и нарушение моторно-эвакуаторной функции тонкой кишки в послеоперационном периоде у больных с острой кишечной непроходимостью // Украинский журнал хирургии. – 2009. – №4. – С. 113-116.

30 Денисенко В. Л., Гаин Ю.М. Экспериментальная оценка роли бактериальной интестинальной транслокации в патогенезе обтурационной толстокишечной непроходимости // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2011. – Т. 10, №2. – С. 89-96.

31 Апарцин К.А., Лишманов Ю.Б., Галеев Ю.М. и др. Бактериальная транслокация при релапаротомии в условиях распространённого перитонита // Сибирский научный медицинский журнал. – 2009. – №2. – С. 95-99.

32 Григорьев Е.Г., Галеев Ю.М., Попов М.В. и др. Механизмы формирования абдоминального сепсиса при перитоните и странгуляционной кишечной непроходимости // Бюллетень со рамн. – 2012. – Т. 32, №1. – С. 47-56.

33 Парахонский А.П. Роль бактериальной транслокации в развитии хирургического сепсиса // Успехи современного естествознания. – 2007. – №7. – С. 57-58.

34 Федосына Е.А., Жаркова М.С., Маевская М.В. Бактериальная кишечная микрофлора и заболевания печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии. – 2009. – Т. 19, №6. – С. 73-81.

35 Lata J., Stiburek O., Kopacova M. Spontaneous bacterial peritonitis: a severe complication of liver cirrhosis // World J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 15, №44. – P. 5505-5510.

36 Гурьянов А.М. Профилактика и лечение хирургической инфекции при термических ожогах с использованием живого бактериального препарата "споробактерин жидкий»: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / ГОУВПО Оренбургская государственная медицинская академия. – Оренбург, 2008. – 154 с.

37 Салтанов А.И., Ордуханян З.С. Нутритивная поддержка пептидными смесями как мера профилактики острой кишечной недостаточности в ранний послеоперационный период // Онкопедиатрия. – 2014. – №3. – С. 19-24.

38 Сербина Д.В., Магер С.О., Щерба А.Е. и др. Влияние ретроградной реперфузии на риск и выраженность развития ранней дисфункции печеночного трансплантата // Міжнародний науковий журнал. – 2016. – Т.1, №10. – С. 55-57.

39 Григорьев Е.Г., Галеев Ю.М., Попов М.В. Исследование закономерностей бактериальной транслокации при распространенном перитоните с применением меченной радионуклидом кишечной палочки // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2010. – №1. – С. 25-32.

40 Гостищев А.Н., Афанасьев Ю.М., Круглянский Д.Н., Сотников В.К. Бактериальная транслокация в условиях острой непроходимости кишечника // Вестник РАМН. – 2006. – №9-10. – С. 34-38.

41 Никитенко В. И., Бухарин О. В., Никитенко И. К. Явление естествен-

ного защитного бактериального механизма при повреждениях. Заявка на открытие № ОТ 11353, ВНИИГПЭ, 1986.

42 Волков В.И. Значение и механизмы транслокации кишечной микрофлоры в развитии синдрома системного воспалительного ответа и сепсиса // Военная медицина. – 2010. – №3. – С. 109-112.

43 Шмойлов Д.К., Каримов И.З., Одинец Т.Н. Патогенетическая роль эндогенной интоксикации // Лабораторна діагностика. – 2012. – №2. – С. 65-69.

44 Daurea A. De-Souza, Lewis J. Greene. Intestinal permeability and systemic infections in the critical care patients. Effects of glutamine // Critical Care Med. – 2005. – Vol. 33, № 5. – P. 1125-1135.

45 Wells C.L., Maddaus M.A., Simmons R.L. Proposed mechanisms for the translocation of intestinal bacteria // Rev. infect. Dis. – 1988. – Vol. 10, №5. – P. 958-979.

46 Титов В.Н., Дугин С.Ф. Синдром транслокации, липополисахариды бактерий, нарушения биологических реакций воспаления и артериального давления (лекция) // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – №4. – С. 21-37.

47 Смирнов В.В., Резник С.Р., Сорокулова И.Б. и др. О некоторых механизмах возникновения бессимптомной бактериемии // Журнал «Микробиология». – 1988. – Т. 50, №5. – С. 56-59.

48 Бердичевский Б.А. и др. Значение аутогенного инфицирования в развитии послеоперационных осложнений // Хирургия. – 1993. – №5. – С. 63-66.

49 O'Boyle C.J. et al. Microbiology of bacterial translocation in humans // Gut. – 1998. – Vol. 42(1). – P. 29-35.

50 Бондаренко В.М. Механизмы транслокации бактериальной аутофлоры в развитии эндогенной инфекции // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). – 2013. – №3. – С. 1-21.

51 Tancrede C.H., Andremont A.O. Bacterial translocation and gram-negative bacteremia in patients with hematological malignancies // J. Infect. Dis. – 1985. – Vol. 152, №1. – P. 99-103.

52 Steffen E.K., Berg R.D. Relationship between cecal population levels of indigenous bacteria and translocation to the mesenteric lymph nodes // Infect. Immun. – 1983. – Vol. 39, №3. – P. 1252-1259.

53 Maejima K., Deitch E.A., Berg R.D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of rats receiving thermal injury // Infect. Immun. – 1984. – Vol. 43, №1. – P. 6-10.

54 Deitch E.A. Bacterial translocation or lymphatic drainage of toxic products from the gut: what is important in human beings? // Surgery. – 2002. – Vol. 131. – P. 241-244.

55 Hofer U., Schlaepfer E., Baenziger S. et al. Inadequate Clearance of Translocated Bacterial Products in HIV-Infected Humanized Mice // PLoS Pathogens. – 2010. – Vol. 6. – P. 1-10.

56 Гостищев В.К., Афанасьев А.Н., Круглянский Ю.М., Сотников Д. Н. Бактериальная транслокация в условиях непроходимости кишечника // Вестник

Российской АМН. – 2006. – №9-10. – С. 34-37.

57 Никитенко В.И., Захаров В.В., Бородин А.В. и др. Роль транслокации бактерий в патогенезе хирургической инфекции // Хирургия. – 2001. – №2. – С. 63-65.

58 Lemaire L.C., van Lanschot J.J., Stoutenbeek Metal C.P. Bacterial translocation in multiple organ failure: cause or epiphenomenon still unproven // Br. J. Surg. – 1997. – Vol. 84. – P. 1340-1350.

59 С.А. Пашков, Плечев В.В., Мурысева Е.М. Интраперитонеальная транслокация бактерий и антибиотикотерапия при острой спаечной кишечной непроходимости // Казанский медицинский журнал. – 2004. – Т. 85, №5. – С. 346-350.

60 Парфенов А. И. «Энтерология». – М.: Триада-Х, 2002. – 125 с.

61 Tokuyasu R. Mesenteric lymphadenectomy prevents postburn systemic spread of translocated bacteria // Arch. Surg. – 1992. – Vol.127, №4. – P. 384-388.

62 Ljungdahl M., Lundholm M., Katouli M. et al. Bacterial translocation in experimental shock is dependent on the strains in the intestinal flora // Scandinavian journal of gastroenterology. – 2000. – Vol. 35, №4. – P. 389-397.

63 Deitch E. A. Effect of hemorrhagic shock on bacterial translocation, intestinal morphology, and intestinal permeability in conventional and antibiotic-lack of correlation between failure of gut barrier function and septic complications after major upper gastrointestinal surgery // Ann. Surg. – 2000. – №231. – P. 88-95.

64 Lemaire L.C. et al. Thoracic duct in patients with multiple organ failure: no major route of bacterial translocation // Ann. Surg. – 1999. – Vol. 229, №1. – P. 128-136.

65 Rombeau, J.L., Takala J. Summary of round table conference: Gut dysfunction in critical illness // Intensive Care Med. – 1997. – Vol. 23, №4. – P. 476-479.

66 Deitch E.A. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man // Arch Surg. – 1989. – Vol. 124. – P. 699-701.

67 Deitch E.A. Role of the gut lymphatic system in multiple organ failure // Curr. Opin. Crit. Care. – 2001. – Vol. 7. – P. 92-98.

68 Koike K., Moore E.E., Moore F.A., Read R.A., Carl V.S., Banerjee A. Gut ischemia/reperfusion produces lung injury independent of endotoxin // Crit. Care Med. – 1994. – Vol. 22 – P. 1438-1444.

69 Llamas M.A., Aller M.A., Marquina D. et al. Bacterial translocation to mesenteric lymph nodes increases in chronic portal hypertensive rats // Dig. Dis. Sci. – 2010. – Vol. 55, №8. – P. 2244-2254.

70 Nishigaki E., Abe T., Yokoyama Y. et al. The detection of intraoperative bacterial translocation in the mesenteric lymph nodes is useful in predicting patients at high risk for postoperative infectious complications after esophagectomy // Ann. Surg. – 2014. – Vol. 259, №3. – P. 477-484.

71 Савельев В.С., Петухов В. А. Перитонит и эндотоксиновая агрессия. – М., 2012. – 326 с.

72 Gatt M., Reddy B.S., MacFie J. Review article: bacterial translocation in

the critically ill – evidence and methods of prevention // *Aliment Pharmacol. Ther.* – 2007. – Vol. 25. – P. 741-757.

73 Довженко А.Н., Пеев Б.И., Бильченко В.И. и др. Коррекция барьерной и моторно-эвакуаторной функций тонкой кишки у больных с острой кишечной непроходимостью в послеоперационном периоде // *Український Журнал Хірургії.* – 2011. – №3. – С. 74-78.

74 Галеев Ю.М., Попов М.В., Салато О.В. и др. Маркировка бактерий *Escherichia coli* технецием-99m для сцинтиграфической оценки бактериальной транслокации в эксперименте // *Медицинская радиология и радиационная безопасность.* – 2007. – Т. 52, №2. – С. 23-30.

75 Гавриленко Д.И. Интестинальная бактериальная транслокация при циррозе печени // *Здравоохранение.* – 2013. – №1. – С. 21-25.

76 Lata J., Stiburek O., Kopacova M. Spontaneous bacterial peritonitis: a severe complication of liver cirrhosis // *World J. Gastroenterol.* – 2009. – Vol. 15, №44. – P. 5505-5510.

77 Kumagai Y., Takeuchi O., Akira S. Pathogen recognition by innate receptors // *J. Infect. Chemother.* – 2008. – Vol. 14, №2. – P. 86-92.

78 Галеев Ю.М., Попов М.В., Салато О.В. Методы исследования распространения бактериальных клеток // *Сибирский медицинский журнал.* – 2011. – №3. – С. 18-23.

79 Samell S., Keese M., Kleczka M. et al. Microscopy of bacterial translocation during small bowel obstruction and ischemia in vivo – a new animal model // *BMC surgery.* – 2002. – Vol. 2, №6. – P. 39-44.

80 Галеев Ю.М., Попов М.В., Салато О.В. и др. Радионуклидные методы исследования транслокации кишечной микрофлоры при острой непроходимости кишечника в эксперименте // *Second International Scientific Teleconference "New Technology in Medicine".* – Saint-Petersburg, Russia. – 2005. – С. 114-115.

81 Marshall J.C., Reinhart K. Biomarkers of sepsis // *Critical Care Medicine.* – 2009. – Vol. 37. – P. 2290-2298.

82 Lippi G., Sanchis-Gomar. F. Procalcitonin in inflammatory bowel disease: Drawbacks and opportunities // *World Journal Gastroenterology.* – 2017. – Vol. 23, №47. – P. 8283-8290.

83 Вершинина М.Г., Кухтина Н.Б., Витько Н.К. Лабораторная диагностика сепсиса в условиях многопрофильного стационара: литературный обзор // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* – 2014. – №6. – С. 74-76.

84 Peyrin-Biroulet L., Gonzalez F., Dubuquoy L. Mesenteric fat as a source of C reactive protein and as a target for bacterial translocation in Crohn's disease // *Gut.* – 2012. – Vol. 61. – P. 78-85.

85 Павлушкина Л.В., Черневская Е.А., Дмитриева И.Б. и др. Биомаркеры в клинической практике // *Специальный Выпуск «Лаборатория».* – 2013. – №3. – С. 10-14.

86 Ciriello V., Gudipati S., Stavrou P. Z. et al. Biomarkers predicting sepsis in polytrauma patients: Current evidence // *Injury*. – 2013. – Vol. 44, № 12. – P. 1680-1692.

87 Вельков В.В. Прокальцитонин и С-реактивный белок в современной лабораторной диагностике // *Журнал «Клинико-лабораторный консилиум»*. – 2009. – №1. – С. 34-48.

88 Вельков В.В. Прокальцитонин и С-реактивный белок в современной лабораторной диагностике // *Журнал «Клинико-лабораторный консилиум»*. – 2008. – Т.1, №6. – С. 46-52.

89 Okamura Y., Yokoi H. Development of a point-of-care assay system for measurement of presepsin (sCD14-ST) // *Clin. Chim. Acta*. – 2011. – Vol. 412, №23-24. – P. 2157-2161.

90 Vincent J.L., Donadello K., Schmit X. Biomarkers in the critically ill patient: C-reactive protein // *Crit. Care Clin*. – 2011. – Vol. 27. – P. 241-251.

91 Гельфанд Б.Р., Бурневич С.З., Гельфанд Е.Б. и др. Биохимические маркеры системной воспалительной реакции: роль прокальцитонина в диагностике сепсиса // *Инфекции в хирургии*. – 2007. – № 1. – С. 19-24.

92 Кочетков А.В., Гудилов М.С. Клинико-лабораторная диагностика и мониторинг гнойно-септических осложнений после операций на органах брюшной полости // *Новости хирургии*. – 2015. – Т. 23, №1. – С. 105-111.

93 Petrakos C., Vincent J.L. Sepsis biomarkers: are view // *Crit. Care*. – 2010. – Vol. 14. – 15 p.

94 Samraj R.S., Zingarelli B., Wong H.R. Role of biomarkers in sepsis care // *Shock*. – 2013. – Vol. 40. – P. 358-365.

95 Вельков В.В. Пресепсин – эффективный биологический маркер для диагностики сепсиса и мониторинга системных инфекций // *Здоровье. Медицинская Экология. Наука*. – 2016. – №64. – С. 4-21.

96 Варюшина Е.А. Провоспалительные цитокины в регуляции процессов воспаления и репарации: дис. ... док. биол. наук: 03.03.03 / ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов». – Санкт-Петербург, 2012. – 256 с.

97 Kim S.J., Kim H.M. Dynamic lipopolysaccharide transfer cascade to TLR4/MD2 complex via LBP and CD14 // *BMB Reports*. – 2017. – Vol. 50, №2. – P. 55-57.

98 Копылов В.А. Значение феномена транслокации бактерий из желудочно-кишечного тракта в патогенезе хирургической инфекции при повреждениях: автореф. ... док. мед. наук: 14.00.27 – Оренбург, 2005. – 26 с.

99 Kelsall B. Interleukin-10 in inflammatory bowel disease // *New England Journal Medicine*. – 2009. – Vol. 361, №21. – P. 2091-2093.

100 Свиридова В.С., Кологривова Е.Н., Пронина Н.А. и др. Цитокиновая регуляция иммунных реакций при ревматоидном артрите // *Цитокины и воспаление*. – 2010. – Т. 9, №2. – С. 3-6.

101 Nierhaus A., Klatter S., Linssen J., Eismann N.M., Wichmann D., Hedke J., Braune S.A., Kluge S. Revisiting the white blood cell count: immature

granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between SIRS and sepsis--a prospective, observational study // *BMC Immunology*. – 2013. – Vol. 14. – 8 p.

102 Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж., Семенов Н.В., Гузовская Е.В. Интерлейкин-1, интерлейкин-10 в регуляции воспалительного процесса // *Сибирский медицинский журнал*. – 2012. – №8. – С. 5-6.

103 Карпова М.И. Изучение уровня цитокинов у больных с мигренью и головной болью напряжения // *Цитокины и воспаление*. – 2011. – Т. 10, №1. – С. 32-36.

104 Beytler V.A. TLRs and innate immunity // *Blood*. – 2009. – Vol. 113. – P. 1399-1407.

105 Zweigner J., Schumann R.R., Weber J.R. The role of lipopolysaccharide-binding protein in modulating the innate immune response // *Microbes and Infection*. – 2006. – Vol. 8, №3. – P. 946-952.

106 Ленгелер Й., Древис Г., Шлегель Г., Лебединского А.В., Тарасова К.Л., Нетрусов А.И. Современная микробиология. Прокариоты / Пер. с англ. И.В. Алферовой. – М: Мир, 2005. – Т.2. – 496с.

107 Самуилова Д.Ш., Боровкова У.Л. Липополисахарид-связывающий белок: основные функции и их значение // *Клиническая физиология кровообращения*. – 2013. – №4. – С. 5-9.

108 Gonzalez-Quintela A., Alonso M., Campos J. Determinants of serum concentrations of Lipopolysaccharide-Binding Protein (LBP) in the adult population: the role of obesity // *Plos One*. – 2013. – Vol. 8, №1. – P. 1-8.

109 Prochinar P., Re F., Widstrom R. Specific high affinity interactions of monomeric endotoxin protein complexes with Toll-like receptor // *Journal Biological Chemistry*. – 2007. – Vol. 282. – P. 1010-1017.

110 Takeuchi O., Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation // *Cell*. – 2010. – Vol. 140. – P. 805-820.

111 Кучеров Ю.И., Жиркова Ю.В., Чеботаева Л.И., Шишкина Т.Н. Лабораторные маркеры ранней диагностики неонатального сепсиса // *Анестезиология и реаниматология*. – 2015. – №60 (3). – С. 11-15.

112 Gaini S., Koldkajer O.G., Pedersen S.S. Procalcitonin, lipopolysaccharide-binding protein, interleukin-6 and C-reactive protein in community-acquired infections and sepsis: a prospective study // *Critical Care*. – 2006. – Vol. 10. – 53 p.

113 Stehle J.R., Leng X., Kitzman D.W. Lipopolysaccharide-binding protein, a surrogate marker of microbial translocation is associated with a physical function in healthy older adults // *Journal Gerontology and Biological Science*. – 2012. – Vol. 67, №11. – P. 1212-1218.

114 Schumann R.R. Old and new findings on lipopolysaccharide-binding protein: a soluble pattern-recognition molecule // *Biochemical Society Transactions*. – 2011. – Vol. 39, №4. – P. 989-993.

115 Pavare J., Grope I., Kalnins I., Gardovska D. High-mobility group box-1 protein, lipopolysaccharide-binding protein in children with community acquired

infections and bacteriemia: a prospective study // BMC infection diseases. – 2010. – Vol. 10. – 28 p.

116 Volmer T., Piper C., Kleesiek K., Dreier J. Lipopolysaccharide-binding protein: a new biomarker for infectious Endocarditis? // Clinical Chemistry. – 2009. – Vol. 55, №2. – P. 295-304.

117 Звягин А.А., Демидова В.С., Смирнов Г.В. Биологические маркеры в диагностике и лечении сепсиса (обзор литературы) // Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б. М. Костюченка. – 2016. – Т. 3, №2. – С. 19-23.

118 Вельков В.В. Клинические рекомендации // Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б.М. Костюченка. – 2015. – Т. 2. – 79 с.

119 Reinhart K., Meisner M. Biomarkers in the critically ill patient: procalcitonin // Crit. Care Clin. – 2011. – №27. – P. 253-263.

120 Моррисон В.В., Божедомов А.Ю. Значение определения концентрации прокальцитонина плазмы крови в диагностике септических состояний // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2010. – Т. 6, №2. – С. 261-267.

121 Limper M., Kruif M.D., Duits A.J., Brandjes D.P., VanGorp E.C. The diagnostic role of procalcitonin and other biomarkers in discriminating infectious from non-infectious fever // Journal Infection. – 2010. – Vol. 60. – P. 409-416.

122 Coelho M.C., Tannuri U., Tannuri A.C., Reingheim C., Troster E.J. Is procalcitonin useful to differentiate rejection from bacterial infection in the early post-operative period of liver transplantation in children? // Pediatr. Transplant. – 2009. – Vol. 13. – P. 1004-1006.

123 Vincent J.L., Sakr Y., C.L., Sprung V.M., Reinhart K., Gerlach H., Moreno R., Carlet J., Le Gall J.R., Payen D. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study // Critical Care Medicine. – 2006. – Vol. 34. – P. 344-353.

124 Uzzan B., Cohen R., Nicolas P., Cucherat M., Perret G.Y. Procalcitonin as a diagnostic test for sepsis adult and after surgery or trauma: a systematic review and meta-analysis // Critical Care Medicine. – 2006. – Vol. 34. – P. 1996-2003.

125 Hunzicker S., Hugle T., Schuchardt K., Groeshi I., Schueltz P., Mueller B., Dick W., Eriksson U., Trampuz A. The value of serum procalcitonin level for differentiation of infectious from noninfectious causes of fever after orthopedic surgery // Journal Bone Joint Surgery American. – 2010. – Vol. 92. – P. 138-148.

126 Schuetz P., Albrich W., Mueller B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decision: past, present and future // BMC Medicine. – 2011. – Vol. 9. – 107 p.

127 Окамура И., Томэ Р. Пресепсин: новый биомаркер для прогнозирования и диагностики сепсиса // «Лаборатория». – 2014. – №1. – С. 9-10.

128 Yaegashi Y., Shirakawa K., Sato N., Suzuki Y., Kojika M., Imai S., Takahashi G., Miyata M., Furusako S., Endo S. Evaluation of a newly identified soluble CD14 subtype as a marker for sepsis // J. Infect. Chemother. – 2005. – Vol. 11, №5. – P. 234-238.

129 Shirakawa K., Naitou K., Hirose J., Takahashi T., Furusako S. Presepsin

(sCD14-ST): development and evaluation of one-step ELISA with a new standard that is similar to the form of presepsin in septic patients // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2011. – Vol. 49, №5. – P. 937-939.

130 Shozushima T., Takahashi G., Matsumoto N. et al. Usefulness of presepsin (sCD14-ST) measurements as a marker for the diagnosis and severity of sepsis that satisfied diagnostic criteria of systemic inflammatory response syndrome // *J. Infect. Chemother.* – 2011. – Vol. 17, №6. – P. 764-769.

131 Spanuth E., Wilhelm J., Loppnow H. et al. Diagnostic and Prognostic Value of Presepsin (Soluble CD14 Subtype) in Emergency Patients with Early Sepsis Using the New Assay PATHFAST Presepsin // *IFCC-WorldLab-EuroMedLab.* – 2011. – P. 3-11.

132 Kojika M., Takahashi G., Matsumoto N. et al. Serum levels of soluble CD14 subtype reflect the APACHE II and SOFA Scores // *Medical Postgraduates.* – 2010. – Vol. 48, №1. – P. 46-50.

133 Vaishnavi C. Translocation of gut flora and its role in sepsis // *Indian J. Med. Microbiol.* – 2013. – Vol. 31. – P. 334-342.

134 Круглянский Ю.М. Бактериальная транслокация при острой обтурационной непроходимости кишечника (экспериментальное исследование): дис. ... канд.мед.наук: 14.00.27 / МЗСР РФ Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова. – М., 2007. – 162 с.

135 Мануйлов А.М., Болоков М.С., Гурмиков Б.Н. Роль барьерной функции желудочно-кишечного тракта в клинической практике. Обзор литературы // *Новые технологии.* – 2012. – №4(153). – С. 302-307.

136 Гераськин В.С. Особенности развития энтеральной недостаточности при паралитической кишечной непроходимости панкреатического происхождения (экспериментальное исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.17, 14.03.03 // ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарева». – Саранск, 2012. – 18 с.

137 Марьянович А.Т. Кишечный барьер, микробиота, микробиом // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* – 2016. – Т. 126. – №2. – С. 64-69.

138 Урсова Н.И. Место энтеросорбентов в терапии синдрома эндогенной интоксикации // *Вопросы современной педиатрии.* – 2012. – Т. 11. – №6. – С. 26-31.

139 Groshwitz K.R., Hogan S.P. Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis // *J. Allergy. Clin. Immunol.* – 2009. – Vol. 124. – P. 3-20.

140 Ильченко А.А., Мечетина Т.А. Синдром избыточного бактериального роста в тонкой кишке: этиология, патогенез, клинические проявления // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* – 2009. – №5. – С. 99-107.

141 Плотникова Е.Ю., Краснова М.В., Баранова Е.Н., Борщ М.В. Непрошенные гости: избыточный бактериальный рост в тонкой кишке. Что делать? // *Consilium medicum. Гастроэнтерология.* – 2013. – №1. – С. 36-41.

- 142 Chowdry S.M., Vaishnavi C. Spontaneous bacterial peritonitis. *Infections of the Gastrointestinal System* // Jaypee Brothers Medical Publishers. – 2013. – P. 532-542.
- 143 Smith P.D., Smythies L.E., Shenetal R. Intestinal macrophages and response to microbial encroachment // *Mucosal Immunology*. – 2011. – Vol. 4. – P. 31-42.
- 144 Brenchley J.M., Douek D.C. Microbial translocation across GI tract // *Annu Rev Immunol*. – 2012. – Vol. 30. – P. 149-173.
- 145 Бухарин О.В. От персистенции к симбиозу микроорганизмов // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. – 2012. – №4. – С. 4-9.
- 146 Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клиничко-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. – М.: Изд-во «ГЭОТАР-Медиа», 2007. – 304 с.
- 147 Pamer E.C. Immune responses to commensal and environmental microbes // *Nat. Immunol*. – 2007. – Vol. 8, №11. – P. 1173-1178.
- 148 Бондаренко В.М. Роль условно-патогенных бактерий кишечника в полиорганной патологии человека. – М.: Изд-во «Триада», 2007. – 64 с.
- 149 Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В. Роль транслокации кишечной бактериальной аутофлоры и ее токсических биомолекул в патологии человека // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2007. – №5. – С. 86-93.
- 150 Меньков А.В., Гаврилов С.В. Острая кишечная непроходимость неопухолевого генеза. Современное состояние проблемы // *Современные технологии в медицине*. – 2013. – Т. 5. – №3. – С. 109-115.
- 151 Stassen N.A., Lukan J.K. et al. Abdominal compartment syndrome // *Scand. Surg* – 2002. – Vol. 91. – P. 104-108.
- 152 Лукоянычев Е.Е., Рябков М.Г., Кудыкин М.Н. Экспериментальное обоснование лаважа тонкой кишки осмотически активным раствором при острой кишечной непроходимости, осложненной интраабдоминальной гипертензией // *Современные технологии в медицине*. – 2011. – №2. – С. 146-149.
- 153 Рябков М.Г., Измайлов С.Г., Лукоянычев Е.Е. и др. Причины формирования кишечных свищей при экстренной абдоминальной патологии, осложненной compartment синдромом (экспериментальное исследование) // *Медицинский альманах*. – 2012. – №2. – С.164-167.
- 154 Matyushko D., Turgunov Y., Tussupbekova M. et al. The influence of intra-abdominal hypertension on the morphological status of the brain // *XXXI International Congress of the international Academy of pathology and 28th Congress of the European Society of Pathology. Virchows Archiv*. – Cologne, Germany, 2016. – Vol. 469. – 321 p.
- 155 Гельфанд Б.Р., Проценко Д.Н., Подачин П.В. Синдром абдоминальной гипертензии: состояние проблемы // *Неотложная медицина*. – 2010. – №3. – С. 34-42.
- 156 Матюшко Д.Н., Тургунов Е.М., Злотник А. Интраабдоминальная

гипертензия и компартмент синдром: обзор литературы // Наука и Здравоохранение. – 2015. – №1. – С. 22-32.

157 Шеянов С.Д., Харитоновна Е.А. Острая кишечная непроходимость и внутрибрюшная гипертензия (обзор литературы) // Вестник СПбГУ. Сер.11. – 2009. – № 4. – С. 150-160.

158 Предко В.А., Якубцевич Р.Э., Спас В.В. Кишечник, как источник бактериемии, токсинемии и развития синдрома полиорганной недостаточности // Журнал ГрГМУ. – 2007. – №4. – С. 3-7.

159 Лузин В.В., Староконь П.М., Телегин А.П. и др. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке микроциркуляторных нарушений кишечной стенки при острой кишечной непроходимости в эксперименте // Медицинский альманах. – 2009. – №3. – С. 48-49.

160 Лубянский В.Г., Жариков А.Н. Основные патогенетические механизмы развития острых перфораций кишечника у больных с послеоперационным // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – №4. – Т. 1. – С. 51-55.

161 Grace E. et al. Small Intestinal Bacterial Overgrowth // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2013. – Vol. 38, №7. – P. 674-688.

162 Бондаренко В.М. Механизмы транслокации бактериальной атофлоры в развитии эндогенной инфекции // Бюллетень Оренбургского научного центра УРО РАН. –2013. -№3 – С. 1-3.

163 Косинец В.А. Синдром энтеральной недостаточности: патогенез, современные принципы диагностики и лечения // Новости хирургии. – 2008. – Т. 16. – №2. – С. 130-138.

164 Тимербулатов В.М., Фаязов Р.Р., Тимербулатов Ш.В. и др. Диагностика и лечение ишемически-реперфузионных нарушений при синдроме интраабдоминальной гипертензии // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2012. – №7. – С. 58-63.

165 Дибиров М.Д., Костюченко М.В., Юанов А.А. Профилактика и лечение гепаторенального синдрома при острой кишечной непроходимости // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2010. – №8. – С. 33-37.

166 Дибиров М.Д., Костюченко М.В. Коррекция белково-энергетического метаболизма при гепаторенальной дисфункции у хирургических больных // Хирургическая гастроэнтерология. – 2009. – №6. – С. 77-81.

167 Угольник Д.В. Роль антиоксидантов в патогенезе и лечении острой кишечной непроходимости (обзор литературы) // Проблемы здоровья и экологии. – 2013. – Т. 38. – №4. – С. 40-43.

168 Магомедов М.М., Бациков Х.А., Иманалиев М.Р. и др. Роль окислительного стресса как компонента реперфузионного синдрома при острой кишечной непроходимости // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – №6 // scienceeducation.ru/ru/article/view?id=25746.

169 Угольник Д.В., Козловская Т.В. Динамика антиоксидантной активности сыворотки крови и кишечного содержимого у экспериментальных

животных при моделировании острой кишечной непроходимости // Проблемы здоровья и экологии. – 2014. – №3. – С. 125-129.

170 Волков Д.В., Тарасенко В.С., Фадеев С.Б. и др. Влияние перфторана и супероксиддисмутазы на процессы свободно-радикального окисления и антиоксидантный статус у больных с острой кишечной непроходимостью // Фундаментальные исследования. – 2013. – №9. – С. 340-345.

171 Тимербулатов Ш.В., Тимербулатов М.В., Султанбаев А.У. Реперфузионный синдром в абдоминальной хирургии // Медицинский вестник Башкортостана. – 2010. – Т. 5. – №4. – С. 145-151.

172 Плечев В.В., Пашков С.А., Латыпов Р.З., Гумеров А.А., Изосимов А.Н. Острая спаечная кишечная непроходимость (проблемы, решения). – Уфа: издательство «Башкортостан», 2004. – 280 с.

173 Ерюхин И.А., Петров В.П., Ханевич М.Д. Кишечная непроходимость: Руководство для врачей. – СПб.: Питер, 1999. – 448 с.

174 Стручков Ю.В., Сотников Д.Н., Курилов В.П. Коррекция энтеральной недостаточности при острой кишечной непроходимости // Медицинские науки. – 2010. – №5. – С. 29-34.

175 Шибитов В.А., Царьков И.В., Власов А.П. Оптимизация терапии острой кишечной непроходимости // Журнал МедиАль. – 2012. – №1. – С. 23-25.

176 Кевра М.К. Сепсис: новый взгляд на старую проблему // Белорусский медицинский журнал. – 2003. – №4. – С. 25-32.

177 Чеснокова Н.П., Невважай Т.А., Моррисон В.В. и др. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и заболеваний / под ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова. – Саратов: Изд-во СГМУ, 2012. – 275 с.

178 ИС 003855. Аппарат для измерения интраабдоминального давления / Тургунов Е.М., Матюшко Д.Н., Колесников В.А. и др.; опубликовано 25.02.2016, Бюллетень №0359.

179 Vijayan Ashitha L., Vanimaya, Ravindran Shilpa et al. Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy // J. Intensive Care. – 2017. – Vol. 5. – 51 p.

180 Ding P.H., Jin L.J. The role of lipopolysaccharide-binding protein in innate immunity: a revisit and its relevance to oral periodontal health // J. Periodontal Res. – 2014. – Vol. 49(1). – P. 1-9.

181 Liu A., Weiss S., Fang H. et al. Lipopolysaccharide-binding protein (LBP) blockade augments the protective effect of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) in a rat sepsis model // Shock. – 2015. – Vol. 43(5). – P. 497-503.

182 Фельдман Ю.М. и др. Количественное определение бактерий в клиническом материале // Лабораторное дело. – 1984. – № 10. – С. 616-619.

183 Азизов И.С. Основы клинической микробиологии. Учебное пособие. – Караганда, 2005. – 280с.

184 Скала Л. З., Сидоренко С. В., Нехорошева А.Г. и др. Практические аспекты современной клинической микробиологии. –М.: ТОО «ЛАБИНФОРМ», 1997. – 184 с.

185 Клиническая лабораторная аналитика. Под ред. Меньшикова В.В // М: Агат-Мед, 2003. – Т4. – 815 с.

186 Van Herendael B.H., Bruynseels P., Bensaid M. et al. Validation of a modified algorithm for the identification of yeast isolates using matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2012. – Vol. 31(5). – P. 841-849.

187 ИС 007385. Моделирование острой кишечной непроходимости в эксперименте / Тургунов Е.М., Телеуов М.К., Койшибаев Ж.М. и др.; опубликовано 15.02.2017, Бюллетень №278.

188 Койшибаев Ж.М., Жумакаев А.М., Изисов А.Е. и др. Разработка и оценка эффективности экспериментальной модели острой кишечной непроходимости (экспериментальное исследование) // Материалы XX международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина - человек и его здоровье». – Санкт-Петербург, 2017. – С. 274-275.

189 Койшибаев Ж.М., Изисов А.Е., Тлеуқұлова А.Е. Разработка новой экспериментальной модели острой кишечной непроходимости // Международная конференция молодых ученых и студентов «Мир науки и молодежь: тенденции и новые горизонты». – КГМУ, Караганда, Апрель 2017. – С. 244-245.

190 Способ моделирования обтурационной кишечной непроходимости нехирургическим путем: Пат. 2335020 Рос. Федерация. МПК G09B 23/28/ Исмагилов Ф.А, Исмагилова А.Ф., Исмагилов Б.Ф.; № 2007115657/14; заявл. 17.04.2007; опубли. 27.09.200, Бюл. № 27 - 4 с.

191 Набока Л.А., Чубин А.Н., Корнилова А.В. Экспериментальная модель низкой обтурационной кишечной непроходимости у собак // Аграрный вестник Урала. – 2011. – №3(82). – С. 35-36.

192 С.А. Шалимов, А.П. Радзиховский, Л.В. Кейсевич. Руководство по экспериментальной хирургии. – М.: Медицина, 1989. – 272 с.

193 Пучков К.В. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на регионарную гемодинамику тонкой кишки у больных с острой кишечной непроходимостью: автореф. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / НИИ лазерной мед. – М., 1992. – 21 с.

194 Ю.Л. Шальков, С.Н. Кобландин. Послеоперационный илеус. – Алматы, 1993. – 194 с.

195 Денисенко В.Л., Медведев М.Н., Гаин Ю.М., Малашенко С.В. Патогистологическое исследование изменений в кишечнике при экспериментальной острой обтурационной толстокишечной непроходимости. Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации // Материалы 69-й научной сессии сотрудников университета УО «Витебский государственный медицинский университет». – 2014. – С. 5-6.

- 196 Арутюнян В. Р., Сухоруков А. М., Кочетова Л. В., Пахомова Р. А. Клиническое течение низкой обтурационной толстокишечной непроходимости в эксперименте // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 5. – С.1-8.
- 197 Способ моделирования острой кишечной непроходимости: Пат. 2422913 Рос. Федерация. МПК G09B 23/28 / Леонов С.Д., Родин А.В.; № 2009145348/14; заявл. 07.12.2009; опубл. 27.06.2011, Бюл. № 18 – 5с.
- 198 Авторское свидетельство №1679530. Способ моделирования странгуляционной кишечной непроходимости / С.Д. Леонов, А.В. Родин.; опубликовано 27.06.2011, Бюл. № 18. – 5с.
- 199 SU 1679530 A1. Способ моделирования странгуляционной кишечной непроходимости / К.В. Пучков, Б.Я. Гаусман, П.А. Чумаченко; опубликовано 23.09. 91, Бюл. №35. – 2с.
- 200 SU 1534494 A1. Способ моделирования обтурационной кишечной непроходимости / В.Н. Ватаман, И.А. Винниченко, В.Н. Круцяк, Е.П. Малеваная, А.А. Кругляк, О.Я. Сумко, Ф.Д. Марчук, В.И. Проняев, А.Б. Брызицкий; опубликовано 07.01.90, Бюл. № 1. – 2с.
- 201 Способ создания низкой обтурационной кишечной непроходимости у лабораторных животных: Пат. 2376649 Рос. Федерация. МПК G09B 23/28 / Л.А. Набока, А.Н. Чубин, Е.А. Томилова, О.А. Адаменко; опубликовано 20.12.2009, Бюл. № 35. – 6 с.
- 202 Матяшин И.М., Глузман А.М. Справочник хирургических операций. – Киев: Здоров'я. – 1979. – 234 с.
- 203 Шалимов С.А. Руководство по экспериментальной хирургии. – М.: Медицина, 1989. – 206 с.
- 204 Turgunov Y., Matyushko D.N., Koishibayev Z.M. et al. Influence of intra-abdominal hypertension on the marker presepsins-sCD14 // Critical Surgical Abdomen Consensus Conference. – Dublin, Ireland, 2016 – P. 22-23.
- 205 Turgunov E., Koishibaev Z., Matyushko D. et al. Level of bacterium translocation biomarker at experimental compartment syndrome // European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. – 2017. – Session: P21, Category: 9b. Host-pathogen interaction.
- 206 Матюшко Д.М., Тургунов Е.М., Злотник А., Койшибаев Ж.М. Интраабдоминальная гипертензия. Состояние проблемы в Казахстане // Экология и гигиена. – 2015. – №2(75). – С. 43-46.
- 207 Койшибаев Ж.М., Тургунов Е.М., Азизов И.С. и др. Уровень внутрибрюшного давления в динамике развития острой кишечной непроходимости // Вестник СГМА. – 2018. – Т. 17. – №1. – С. 43-47.
- 208 Койшибаев Ж.М., Тлеуқұлова А.Е., Халмуминов Д.Д. Уровень биомаркеров бактериальной транслокации при экспериментальной модели острой кишечной непроходимости // XIII Международная (XXII Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых. – М., 2018. – 184 с.

209 Койшибаев Ж.М., Аманова Д.Е. Динамика уровня липополисахарид-связывающего белка сыворотки крови и характера кишечной микрофлоры при экспериментальной непроходимости кишечника // 72-ая Международная научно-практическая конференция студентов и молодых учёных «Актуальные проблемы современной медицины и фармации». – Минск, 2018. – 1584 с.

210 Amanova D., Koishibayev Zh. Dynamic of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) during experimental intestinal obstruction // The international scientific conference for students and young researchers in English «Topical issues of medicine» devoted to the 80-th anniversary of Stavropol state medical university. – Stavropol, 2018. – 117 p.

211 Койшибаев Ж.М., Тургунов Е.М., Сандблум Г. и др. Динамика энтероперитонеальной транслокации микроорганизмов на экспериментальной модели острой кишечной непроходимости // Georgian Medical News. – 2017. – №9. – С. 108-115.

212 Koishibayev Zh., Turgunov Y., Lavrinenko A. et al. Bacterial translocation from bowel to peritoneal cavity in experimental intestinal obstruction // Abstractbok Kirurgveckan JKPG. – 2017. – 286 p.

213 Койшибаев Ж.М., Жумакаев А.М., Аманова Д.Е. и др. Развитие бактериальной транслокации на модели острой кишечной непроходимости // Вестник хирургии Казахстана. – 2017. – №2. – 36 с.

214 Койшибаев Ж.М., Жумакаев А.М., Лавриненко А.В. и др. Энтероперитонеальная транслокация микроорганизмов при острой кишечной непроходимости в эксперименте // Материалы международной LVII научной конференции студентов и молодых учёных, посвященной 60-летию Западно-Казахстанского государственного медицинского университета имени Марата Оспанова. – Актобе, 2017. – С. 265-266.

215 Гаин Ю.М., Богдан В.Г., Попков О.В. Абдоминальный компартмент-синдром // Новости хирургии. – 2009. – Т. 17, №3. – С. 168-182.

216 Шеянов С.Д., Харитонов Е.А. Острая кишечная непроходимость и внутрибрюшная гипертензия (обзор литературы) // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер.11. – 2009. – №4. – С. 150-160.

217 Kowarsky M., Camunas-Soler J., Kertesz M., et al. Numerous uncharacterized and highly divergent microbes which colonize humans are revealed by circulating cell-free DNA // PNAS. – 2017. – Vol. 114, №36. – P. 9623–9628.

218 Ниязов Б.С., Турдуев Д.А. Методы диагностики синдрома повышенного внутрибрюшного давления у больных с острой кишечной непроходимостью // Вестник КРСУ. – 2016. – Т. 16, №11. – С. 130-133.

219 Гинзбург Л.Б. Профилактика и лечение повышенного внутрибрюшного давления у больных с перитонитом и острой кишечной непроходимостью: автореф. ... канд. мед. наук: 14.00.27. – Самара, 2009. – 23 с.

220 Измайлов С.Г., Лукоянычев Е.Е., Орлинская Н.Ю. Алгоритм коррекции высокого внутрибрюшного давления при острой кишечной непроходимости // Медицинский альманах. – 2012. – №2(21). – С. 171-174.

221 Mierzchala M., Krzystek-Korpacka M., Gamian A., Durek G. Quantitative indices of dynamics in concentrations of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) as prognostic factors in severe sepsis/septic shock patients-comparison with CRP and procalcitonin // *Clinical Biochemistry*. – 2011. – Vol. 44, №5–6. – P. 357-363.

222 Fan W. C., Liu C. W., Huang S. M., Li C. C., Lee K. C., Huang S. F. TLR4/CD14 Variants-Related Serologic and Immunologic Dys-Regulations Predict Severe Sepsis in Febrile De-Compensated Cirrhotic Patients // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11, №11 // [journal.pone.0166458](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166458).

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Стандартная операционная процедура анестезии крыс

1. Материалы

- 1.1. Диэтиловый эфир;
- 1.2. «Кетамин», 50 мг/мл раствор для инъекций.

2. Процедуры

2.1. В хвостовую вену лабораторного животного ввести кетамин 50 мг/мл в количестве 0,50 мл однократно, рассчитанный исходя из массы тела.

2.2. Животное укладывается на операционный стол и фиксируется.

2.3. Критериями нахождения крысы в наркозе считаются отсутствие реакции на прикосновение, болевой раздражитель, отрицательный рефлекс, брадикардия и участие вспомогательной мускулатуры в акте дыхания.

2.3.1. Восстановление:

Продолжительность наркоза около 30 мин. Выход из наркоза сопровождается двигательной активностью крысы.

Стандартная операционная процедура моделирования ОКН на животных (крысы)

1. Материалы

- 1.1. Анестетики;
- 1.2. Стерильные хирургические инструменты (скальпель, зажимы, пинцеты, цапки, иглодержатели, ножницы полостные);
- 1.4. ножницы обычные;
- 1.5. марля;
- 1.6. 70% спирт;
- 1.7. Раствор перекиси водорода 3%;
- 1.8. Стерильные ватные шарики;
- 1.9. Шовный материал.
- 1.10. Стерильное обкладочное белье

2. Процедуры

2.1. Выполнение предоперационных процедур проводится на безопасном расстоянии от стерильной хирургической зоны в целях предотвращения ее загрязнения.

2.2. Предоперационные мероприятия:

2.2.1. Провести анестезию и анальгезию животного (крысы) в соответствии с СОП анестезии крыс.

2.2.2. Удалить шерсть по срединной поверхности брюшной полости животного (крысы), таким образом, чтобы волосистый край кожи отступал от хирургической раны не менее чем 1 см. (2,0см x 3,0см)

2.2.3. Подготовленный участок кожи обработать раствором хлоргексидина 2%.

2.2.4. Уложить животное на операционный столик.

2.2.5. Обработать операционное поле ватным шариком, смоченным 70% спиртом.

2.2.6. Подготовка хирурга:

2.2.6.1. Помыть руки.

2.2.6.2. одеть маску и чистый хирургический костюм.

2.2.6.3. провести асептическую обработку рук.

2.2.6.4. одеть стерильные перчатки.

2.2.6.5. хирург должен избегать контакта с нестерильными поверхностями.

2.2.7. Накрыть животное стерильным операционным бельем в случае больших разрезов и/или длительной операции, для предотвращения контакта раны с кожей, шерстью вокруг операционного поля. При малых разрезах операционное белье может быть использовано только при ушивании раны.

2.3. Моделирование ОКН:

2.3.1. Убедитесь, что все необходимые материалы под рукой.

2.3.2. Обозначьте стерильную зону на рабочей поверхности для стерильного материала (инструментов, шовного материала, марлевых шариков и т.д.)

2.3.3. Сформировать рану при помощи одноразового скальпеля по шаблону посередине выстриженного участка размером 1мм x 15мм на глубину до мышечного слоя.

2.3.4. Разведите мышцы тупым путем, произвести выделение кишок.

2.3.5. Подготовить клипатор с заряженной пластиковой клипсой.

2.3.5.1. Определится аподактильно с местом клипирования и наложить клипсу.

2.3.6. Послойное ушивание раны.

2.3.7. Асептическая повязки

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Решение комитета по биоэтике КГМУ

Решение Комитета по биоэтике

Карагандинского государственного медицинского университета

Заседание № 98 _____

Дата (Д/М/Г) 02.09.2016г.

Протокол № 98 _____

Присвоенный номер 240 _____

Название протокола: «Изучение особенностей транслокации микроорганизмов при кишечной непроходимости» (экспериментальное исследование).					
Основной исследователь:	Койшибаев Жандос Муратович				
Институт:	Карагандинский государственный медицинский университет				
Рассмотренные элементы	<input type="checkbox"/> Приложены <input type="checkbox"/> Не приложены				
Повторное рассмотрение <input type="checkbox"/> да <input type="checkbox"/> Нет	Дата предыдущего рассмотрения:				
Решение:	<input type="checkbox"/> Разрешено (Р) <input type="checkbox"/> Разрешено с рекомендациями (Рек) <input type="checkbox"/> Повторная заявка (ПЗ) <input type="checkbox"/> Не разрешено (НР)				
№.	Голосование членов КБЭ	решение			
		Р	Рек	ПЗ	НР
1	Бакирова Р.Е.	✓			
2	Нурсултанова С.Д.	✓			
3	Сорокина М.А.	✓			
4	Ауэзова М.Х.	✓			
5	Калиева Ш.С.	✓			
6	Пономарева О.А.	✓			
7	Табриз Н.С.				
8	Тулентаева С.Т.	✓			
9	Абеуова Б.К.	✓			
10	Омаркулов Б.К.	✓			
11	Гитнер Е.С.	✓			
12	Рахметова А.М.	✓			
13	Санаубаева Д.С.	✓			

Примечание: Р – Разрешено; Рек – Разрешено с рекомендациями;
 ПЗ – Повторная заявка; НР – Не разрешено

Подпись: _____

Председатель: **д.м.н.**
Бакирова Р.Е.



Ответственный секретарь
Смаилова А.А.

Дата 02.09.2016 г.

**Қарағанды мемлекеттік медицина университеті
Биоэтика бойынша комитеттің шешімі**

Отырыс № 98 Мерзімі (К/А/Ж) 02.09.2016ж
Хаттама № 98 Тағайындалған нөмір 240

Хаттаманың атауы: «Изучение особенностей транслокации микроорганизмов при кишечной непроходимости» (экспериментальное исследование).

Негізгі зерттеуші:	Койшибаев Жандос Муратович
Институт:	Қарағанды мемлекеттік медицина университеті
Қаралған элементтер	<input type="checkbox"/> Тіркелген <input type="checkbox"/> Тіркелмеген
Қайта қаралуы <input type="checkbox"/> иә <input type="checkbox"/> жоқ	Алдыңғы қараудың мерзімі:
Шешімі:	<input type="checkbox"/> Рұқсат етілді (Р) <input type="checkbox"/> Ұсыныстармен рұқсат етілді (Ұсын.) <input type="checkbox"/> Қайта өтініш (ҚӨ) <input type="checkbox"/> Рұқсат етілмеді (РЕ)

№.	БЭК мүшелерінің дауысы	Шешімі			
		Р	Ұсын.	ҚӨ	РЕ
1	Бакирова Р.Е.	✓			
2	Нұрсұлтанова С.Д.	✓			
3	Сорокина М.А.	✓			
4	Ауэзова М.Х.	✓			
5	Калиева Ш.С.	✓			
6	Пономарева О.А.	✓			
7	Тәбриз Н.С.				
8	Тулугаева С.Т.	✓			
9	Абеуова Б.К.	✓			
10	Омаркулов Б.К.	✓			
11	Гитнер Е.С.	✓			
12	Рахметова А.М.	✓			
13	Санаубаева Д.С.	✓			

Ескерту: Р – Рұқсат етілді; Ұсын. – Ұсыныстармен рұқсат етілді;
ҚӨ – Қайта өтініш; РЕ – Рұқсат етілмеді

Қолтаңбасы:

Төрайым: М.Ғ.Д.
Бакирова Р.Е.

Мерзімі 02.09.2016 г.

Жауапты хатшы:
Смаилова А.А.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Акты внедрения результатов научно-исследовательской работы



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по стратегическому развитию,
науке и международному сотрудничеству

 Турмухамбетова А.А.

« 18 » октября 2017 г.

Акт внедрения результатов научно-исследовательской работы № _____

Научно-исследовательский центр РГП
«Карагандинский государственный медицинский университет»
(наименование учреждения, где внедряется)

Наименование предложения: МЕТОДИКА ПРЯМОГО ИЗМЕРЕНИЯ ВНУТРИБРЮШНОГО ДАВЛЕНИЯ АППАРАТОМ СОБСТВЕННОГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

Работа включена: из проекта МОН РК 0115РК00307 (ГФ 4) «Определение уровня значимости биомаркеров в прогнозировании развития осложнений, ассоциированных с интраабдоминальной гипертензией»

Форма внедрения: Внедрение методики прямого измерения внутрибрюшного давления аппаратом собственного изобретения для экспериментальных научных исследований
(Внедрение метода, аппарата, в лечебно-профилактическое учреждение лекции)

Ответственный за внедрение и исполнители: Матюшко Д.Н., Койшибаев Ж.М., Мугазов М.М., Жумакаев А.М.

Эффективность внедрения: научно-исследовательская, диагностическая
Лечебно-диагностическая, экономическая.

Предложения и замечания учреждения, осуществляющего внедрения

Сроки внедрения: 2016-2017

Председатель комиссии:
директор НИЦ КГМУ, PhD

 Бабенко Д.Б.

Члены ответственные за внедрение:
и.о.доцента кафедры
хирургических болезней №2, PhD

 Матюшко Д.Н.

PhD докторант КГМУ,
магистр медицинских наук

 Койшибаев Ж.М.

PhD докторант КГМУ,
магистр медицинских наук

 Мугазов М.М.

Магистрант КГМУ

 Жумакаев А.М.



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по стратегическому развитию,
науче и международному сотрудничеству

А.А. Турмухамбетова Турмухамбетова А.А.

7 » *сентября* 2018 г.

**Акт
внедрения результатов
научно-исследовательской работы № ___**

Научно-исследовательский центр РГП
«Карагандинский государственный медицинский университет»
(наименование учреждения, где внедряется)

Наименование предложения: СПОСОБ ЗАБОРА КРОВИ У ЛАБОРАТОРНОГО ЖИВОТНОГО ПУТЕМ ПУНКЦИИ СЕРДЦА ПОД ОБЩЕЙ АНЕСТЕЗИЕЙ

Работа включена: из проекта МОН РК «Комплексная оценка феномена бактериальной транслокации в ткани, внутренние органы и системный кровоток на моделях кишечной непроходимости» ИРН АР05134304.

Форма внедрения: Внедрение модели заболевания для экспериментальных научных исследований

(Внедрение метода, аппарата, в лечебно-профилактическое учреждение лекции)

Ответственный за внедрение и исполнители: Матюшко Д.Н., Койшибаев Ж.М., Аманова Д.Е., Ахмалтдинова Л.Л.

Эффективность внедрения: научно-исследовательская
Лечебно-диагностическая, экономическая.

Предложения и замечания учреждения, осуществляющего внедрения

Сроки внедрения: 2018

Председатель комиссии:
директор НИЦ КГМУ, PhD

Д.Б. Бабенко Бабенко Д.Б.

Члены ответственные за внедрение:
и.о. доцента кафедры
хирургических болезней №2, PhD

Д.Н. Матюшко Матюшко Д.Н.

PhD докторант КГМУ,
магистр медицинских наук

Ж.М. Койшибаев Койшибаев Ж.М.

Заведующий лабораторией
коллективного пользования КГМУ, к.м.н.

Л.Л. Ахмалтдинова Ахмалтдинова Л.Л.

Магистрант КГМУ

Д.Е. Аманова Аманова Д.Е.



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по стратегическому развитию,
науче и международному сотрудничеству

 Турмухамбетова А.А.

7 » февраля 2018 г.

Акт

внедрения результатов
научно-исследовательской работы № _____

Научно-исследовательский центр РГП
«Карагандинский государственный медицинский университет»
(наименование учреждения, где внедряется)

Наименование предложения: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ОСТРОЙ
ОБТУРАЦИОННОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ

Работа включена: из проекта МОН РК «Комплексная оценка феномена бактериальной
транслокации в ткани, внутренние органы и системный кровоток на моделях кишечной
непроходимости» ИРН АР05134304.

Форма внедрения: Внедрение модели заболевания для экспериментальных научных
исследований

(Внедрение метода, аппарата, в лечебно-профилактическое учреждение лекции.

Ответственный за внедрение и исполнители: Койшибаев Ж.М., Лавриненко А.В., Аманова
Д.Е., Жумакаев А.М. Тургунов Е.М.

Эффективность внедрения: научно-исследовательская
Лечебно-диагностическая, экономическая.

Предложения и замечания учреждения, осуществляющего внедрения

Сроки внедрения: 2018

Председатель комиссии:
директор НИЦ КГМУ, PhD

 Бабенко Д.Б.

Члены ответственные за внедрение:
PhD докторант КГМУ,
магистр медицинских наук

 Койшибаев Ж.М.

Заведующий кафедрой хирургических
болезней №2 КГМУ профессор

 Тургунов Е.М.

Научный сотрудник лаборатории
коллективного пользования КГМУ,
магистр медицинских наук

 Лавриненко А.В.

Магистрант КГМУ

 Аманова Д.Е.

Магистрант КГМУ

 Жумакаев А.М.



«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по стратегическому развитию,
науке и международному сотрудничеству

Турмухамбетова А.А.

« 18 » октября 2017 г.

**внедрения результатов
научно-исследовательской работы № _____**

Научно-исследовательский центр РГП
«Карагандинский государственный медицинский университет»
(наименование учреждения, где внедряется)

Наименование предложения: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ
ИНТРААБДОМИНАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Работа включена: из проекта МОН РК 0115РК00307 (ГФ 4) «Определение уровня
значимости биомаркеров в прогнозировании развития осложнений, ассоциированных с
интраабдоминальной гипертензией»

Форма внедрения: Внедрение модели заболевания для экспериментальных научных
исследований

(Внедрение метода, аппарата, в лечебно-профилактическое учреждение лекции.

Ответственный за внедрение и исполнители: Матюшко Д.Н., Койшибаев Ж.М.,
Ахмалтдинова Л.Л., Жумакаев А.М., Лавриненко А.В.

Эффективность внедрения: научно-исследовательская
Лечебно-диагностическая, экономическая.

Предложения и замечания учреждения, осуществляющего внедрения

Сроки внедрения: 2016-2017

Председатель комиссии:
директор НИЦ КГМУ, PhD

Д.Б. Бабенко Д.Б.

Члены ответственные за внедрение:
и.о.доцента кафедры
хирургических болезней №2, PhD

Д.Н. Матюшко Д.Н.

Заведующий лаборатории
коллективного пользования КГМУ, к.м.н.

Л.Л. Ахмалтдинова Л.Л.

PhD докторант КГМУ,
магистр медицинских наук

Ж.М. Койшибаев Ж.М.

Научный сотрудник лаборатории
коллективного пользования КГМУ,
магистр медицинских наук

А.В. Лавриненко А.В.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Свидетельство о государственной регистрации прав на предмет авторского права

Авторлық құқық объектісіне құқықтарды мемлекеттік тіркеу туралы

КУӘЛІК

№ 448 15 ақпан 2017 ж.

Қазақстан Республикасы Әділет министрлігінде авторлардың өтініші бойынша авторлары Ермек Мейрамович Тургунов, Мурат Койшибаевич Телеуов, Жандос Муратович Койшибаев, Дана Ерлановна Аманова, Асылбек Муратбекович Жумакаев болып табылатын авторлық құқықпен қорғалатын объектіге айрықша мүліктік құқықтар «Моделирование острой кишечной непроходимости в эксперименте» (ғылыми туынды) атауымен тіркелгені куәландырылады.

Авторлардың өтініші бойынша авторлық құқықпен қорғалатын объектіге айрықша мүліктік құқықтар және 2017 жылғы 26 қаңтарда жасалған объекті Е.М. Тургуновқа, М.К. Телеуовке, Ж.М. Койшибаевқа, Д.Е. Амановаға, А.М. Жумакаевқа тиесілі және авторлар жоғарыда көрсетілген объектіні жасаған кезде басқа адамдардың зияткерлік меншік құқығы бұзылмағандығына кепілдік береді.

Тізілімде 2017 жылғы 15 ақпанда жасалған № 448 жазба бар.

Министрдің орынбасары  Э.Азимова

КУӘЛІК

СВИДЕТЕЛЬСТВО
о государственной регистрации прав на объект авторского права

№ 448 15 февраля 2017 г.

Настоящим удостоверяется, что в Министерстве юстиции Республики Казахстан зарегистрированы исключительные имущественные права на объект авторского права под названием «Моделирование острой кишечной непроходимости в эксперименте» (произведение науки), авторами которого по заявлению авторов являются Тургунов Ермек Мейрамович, Телеуов Мурат Койшибаевич, Койшибаев Жандос Муратович, Аманова Дана Ерлановна, Жумакаев Асылбек Муратбекович.

По заявлению авторов исключительные имущественные права на объект авторского права, созданный 26 января 2017 года, принадлежат Тургунову Е.М., Телеуову М.К., Койшибаеву Ж.М., Амановой Д.Е., Жумакаеву А.М. и авторы гарантируют, что при создании вышеуказанного объекта не были нарушены права интеллектуальной собственности других лиц.

Запись в реестре за № 448 от 15 февраля 2017 года имеется.

Заместитель министра  Э.Азимова

СВИДЕТЕЛЬСТВО
ис 007385