© Коллектив авторов, 2019
УДК 579.61:616.34-007.272
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14001>
ISSN – 2073-8137

ДИНАМИКА ЛИПОПОЛИСАХАРИД-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА И ПРОКАЛЬЦИТОНИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ

Д. Е. Аманова, Ж. М. Койшибаев, Л. Л. Ахмалтдинова, Д. Н. Матюшко, Е. М. Тургунов

Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан

THE DYNAMICS OF LEVELS OF LYPOPOLYSACCHARIDE-BINDING PROTEIN AND PROCALCITONIN DURING THE EXPERIMENTAL ACUTE INTESTINAL OBSTRUCTION

Amanova D. E., Koishibayev Zh. M., Akhmaltdinova L. L., Matyushko D. N., Turgunov E. M.

Karaganda State Medical University, Republic of Kazakhstan

В экспериментальном исследовании на 77 белых крысах серии Wistar определен уровень биомаркеров бактериальной транслокации LBP и PCT сыворотки крови на 1, 3, 5, 7 сутки после моделирования кишечной непроходимости. Значение прокальцитонина повышалось в сравнении с исходными показателями в первые сутки ($p=0,01$), в динамике незначительно возрастая в сравнении с исходными показателями. Уровень LBP в опытной группе в течение экспериментальной кишечной непроходимости также повышался в первые сутки, постепенно значимо снижаясь к 5 и 7 суткам ($p<0,05$) по отношению к группе животных без моделирования ОКН (SHAM). LBP может выступать предиктором септических осложнений. Прокальцитонин, уровень которого резко возрастает в ранние сроки непроходимости и в динамике повышается с развитием кишечной непроходимости, также является маркером развития сепсиса и ССВР, возникающих в ходе развития непроходимости кишечника в эксперименте.

Ключевые слова: острая кишечная непроходимость, биомаркеры, прокальцитонин, липополисахарид-связывающий белок

In this investigation the dynamics of bacteria translocation biomarkers during the experimental acute intestinal obstruction in rats were measured. The blood serum of 77 white Wistar rats with experimental model of intestinal obstruction was used for detecting of LBP and PCT on 1, 3, 5 and 7 days during acute intestinal obstruction. 2 groups of rats were included in this research: 1st – the rats with experimental model, 2nd – animals with SHAM-operation. The level of procalcitonin was significantly increased on 1st day of obstruction, in comparison with baseline ($p=0.01$). In dynamics showing a statistically insignificant increase in intestinal obstruction in comparison with baseline values. The level of LBP in the experimental group during the experimental intestinal obstruction also increased in the first day, gradually decreasing by 5 and 7 days ($p<0.05$) with respect to the SHAM group. Being an early marker of migration of bacterial agents through the intestinal wall, LBP can play the role as a predictor of septic complications. The level of procalcitonin, which increases in the early periods of disease and in dynamics grows up in the development of intestinal obstruction, is also a marker of the progressing of generalized septic complications and a systemic inflammatory reaction that arise during the evolution of intestinal obstruction in the experiment.

Keywords: acute intestinal obstruction, biomarkers, procalcitonin, lipopolysaccharide-binding protein

Для цитирования: Аманова Д. Е., Койшибаев Ж. М., Ахмалтдинова Л. Л., Матюшко Д. Н., Тургунов Е. М. ДИНАМИКА ЛИПОПОЛИСАХАРИД-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА И ПРОКАЛЬЦИТОНИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2019;14(1.2):145-148.
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14001>

For citation: Amanova D. E., Koishibayev Zh. M., Akhmaltdinova L. L., Matyushko D. N., Turgunov E. M. THE DYNAMICS OF LEVELS OF LYPOPOLYSACCHARIDE-BINDING PROTEIN AND PROCALCITONIN DURING THE EXPERIMENTAL ACUTE INTESTINAL OBSTRUCTION. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(1.2):145-148.
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14001> (In Russ.)

ИФА – иммуноферментный анализ
ОКН – острая кишечная непроходимость
ССВР – синдром системной воспалительной реакции

LBP – Lipopolysaccharide-binding protein, липополисахарид-связывающий белок
PCT – Procalcitonine, прокальцитонин

Проблема острой кишечной непроходимости различного генеза в хирургической службе занимает одну из лидирующих позиций. В разрезе всех неотложных патологий абдоминального сегмента летальность при ОКН на сегодняшний день составляет чуть менее 20 %, из них смертность, обусловленная развитием послеоперационных осложнений, достигает почти 80 % [1].

нального сегмента летальность при ОКН на сегодняшний день составляет чуть менее 20 %, из них смертность, обусловленная развитием послеоперационных осложнений, достигает почти 80 % [1].

В настоящее время прослеживается тенденция к снижению заболеваемости острой кишечной непроходимостью. В развитых странах Европы и Америки за последнее столетие число случаев ОКН в структуре хирургической патологии уменьшились с 60 % в начале XX века до 4 % к 1980 годам [2]. В то же время это не позволяет считать данную проблему изученной и решенной. Актуальность изучения основных звеньев динамики развития ОКН связана в большей степени с поиском пути оптимального, патогенетически обоснованного лечения и профилактики фатальных осложнений.

В патогенезе развития септических осложнений и бактериемии при острой кишечной непроходимости ключевую роль играет явление бактериальной транслокации в системный кровоток через кишечную стенку вследствие нарушения ее барьерной функции и дальнейшего симптомокомплекса – «сепсиса кишечного происхождения» [3]. Современным направлением для более точной диагностики вышеизложенных проблем является определение биомаркеров бактериальной миграции, играющих роль как в детекции данного явления, так и в качестве предикторов септических инцидентов в клинике острой кишечной непроходимости [4]. Наиболее известными биомаркерами бактериальной транслокации на сегодняшний день являются уровни прокальцитонина и липополисахаридсвязывающего белка в сыворотке крови [5, 6, 7].

В детекции бактериальной транслокации роль LBP как маркера оценивается как более информативная, чем значение прокальцитонина в диагностике системной бактериемии, но в то же время существуют данные исследований, отражающих меньшую точность LBP как диагностического маркера в дифференциации сепсиса от синдрома системного воспалительного ответа неинфекционной природы и как прогностического маркера сепсиса по сравнению с PCT [8]. Более детальный анализ динамики биомаркеров бактериальной транслокации в системном кровотоке при острой кишечной непроходимости позволит оценить их прогностическую и диагностическую значимость в патогенезе развития септических осложнений данной нозологии.

Цель исследования – оценить значимость определения уровней липополисахаридсвязывающего белка и прокальцитонина сыворотки в динамике развития острой кишечной непроходимости на модели у крыс.

Материал и методы. Экспериментальное исследование проведено на 77 половозрелых белых крысах породы Wistar с массой от 150 до 180 г, сопоставимых по полу, возрасту и весу. Животные содержались в одинаковых условиях: в клетках при температуре 18–22 °C, при одинаковом режиме питания и соблюдении суточных биоритмов (день – ночь).

Животные поделены на 2 группы: I группа (сравнения), включающая в себя 12 крыс, которым была произведена операция SHAM: лапаротомия с выведением сегмента петли тонкой кишки через лапаротомную рану на стерильное операционное поле с последующим немедленным погружением обратно в брюшную полость без моделирования ОКН; II группа (опытная) – 65 животных с моделью ОКН. Обе группы поделены на 4 подгруппы в зависимости от сроков развития ОКН – 1, 3, 5, 7 сутки. Выбор экспериментальных животных в подгруппы производился путем рандомизации (подбрасывание монеты).

Все операции и манипуляции проводились под общим обезболиванием путем инъекции кетамина в хвостовую вену, в дозе 8 мг/кг массы тела в разведении с изотоническим раствором хлорида натрия (разовая доза 0,25 мл).

Для изучения энтерогематической бактериальной транслокации в эксперименте нами разработана модель обтурационной кишечной непроходимости путем наложения пластиковых клипс специальным клипоаппликатором на участок тонкой кишки 1,5 см проксимальнее илеоцекального угла [9]. Данная модель обладает характеристиками аподактильности, стерильности и воспроизводимости и максимально отражает течение ОКН в реальных условиях.

Забор крови у животных производился путем пункции сердца под наркозом на 1, 3, 5, 7 сутки после проведения оперативного вмешательства. В месте пункции выстригалась шерсть с последующей дезинфекцией кожи спиртовым 5 % раствором йода. При пункции сердца использовался вакуумный метод аспирации крови при помощи одноразового стерильного медицинского шприца объемом 5 мл. Пальпаторно определялась проекция верхушечного толчка сердца, на 1 см проксимальнее от которой, отступив на 1,5 мм от левого края грудины, перпендикулярно коже производилась пункция. После пункции сердца и обескровливания животного выводилось из эксперимента. Полученная кровь центрифугировалась для получения сыворотки.

Определение биомаркеров LBP и PCT в сыворотке крови производилось на ИФА-роботизированной системе Evolis от BioRad. Использовались стандартные наборы ИФА: ELISA Kit for Lipopolysaccharide Binding Protein (LBP) SEB406Ra (чувствительность: 0,137 нг/мл) и ELISA Kit for Procalcitonin (PCT) SEA689Ra (чувствительность: 6,1 пг/мл).

Обработка полученных данных статистическими методами производилась программой IBM SPSS Statistics 20.0 с расчетом для каждого показателя биомаркеров среднего значения (M), стандартного отклонения (SD) и 95 % доверительного интервала (CI). Проверка статистических гипотез осуществлялась с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни для 2 независимых групп при сравнении опыт-контроль и критерием Краскела – Уоллиса для k независимых выборок для определения значимости результатов в подгруппах в различные сроки наблюдения.

Результаты и обсуждение. Средний показатель PCT в группе сравнения зафиксирован в первые сутки на уровне $45,2 \pm 20,36$ пг/мл. В опытной группе в 1 сутки развития ОКН отмечалось резкое повышение значения биомаркера PCT более чем в 5 раз по сравнению с контрольной группой ($p=0,05$), что в целом может свидетельствовать о бактериальной транслокации в системный кровоток и присутствии микроорганизмов в крови.

Дальнейшее повышение PCT в сыворотке крови на 3 сутки кишечной непроходимости, как ответ на повышение проницаемости кишечного барьера и массивную транслокацию микроорганизмов, продолжалось и в контрольной, и в опытной группах. В опытной группе данное значение менялось незначительно – на 3,6 % в сравнении с показателями той же группы в 1 сутки ($p>0,05$).

К 5 суткам эксперимента уровень PCT достигал максимальных значений как в группе сравнения, так и в опытной группе. Пиковая концентрация PCT отмечалась в обеих группах. Различия уровней маркера в опытной группе статистически незначимо ($p=0,7$) в сравнении с показателями в первые и третьи сутки эксперимента (рис. 1).

На 7 сутки эксперимента уровень PCT постепенно снижался – на 18,9 % в сравнении с уровнем PCT в опытной группе на 5 сутки непроходимости, однако сохранялся в опытной группе в 1,4 раза выше, чем в группе сравнения ($p>0,05$).

Рис. 1. Основные показатели колебания уровня РСТ в динамике в группах сравнения (I – SHAM, II – ОКН)

Разница показателей LBP в обеих группах в первые сутки эксперимента статистически незначима ($p > 0,05$). На 3 сутки биомаркер в обеих группах имел тенденцию к постепенному снижению. В контрольной группе его уровень снижался в 2,1 раза, что можно расценивать как стрессовую реакцию на операционную травму, которая в динамике регрессировала. В группе животных с ОКН на 3 сутки показатели LBP снижались в среднем на 19,1 % в сравнении с той же группой в первые сутки, но данное снижение не показывает существенной статистической значимости ($p > 0,05$), а в сравнении с контрольной группой уровень изучаемого протеина повышен в 1,7 раза.

В течение 5 суток развития экспериментальной ОКН уровень LBP сохранялся повышенным в 3,2 раза в сравнении с контрольной группой ($p = 0,01$) и незначительно уменьшался по отношению к параметрам 1 и 3 суток. Тем не менее прослеживается четкая тенденция к снижению данного биомаркера в динамике к 7 суткам эксперимента (рис. 2).

Рис. 2. Основные показатели колебания уровня LBP в динамике в группах сравнения (I – SHAM, II – ОКН)

Значительное изменение уровня прокальцитонина 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 [6]. Динамическое снижение уровня РСТ к 7 суткам, вероятно, объясняется снижением реактивности и иммунного ответа на бактериальную транслокацию с редукцией факторов защиты.

По данным литературы, LBP является наиболее ранним маркером бактериальной миграции в системный кровоток, уровень которого значительно повышается в начальные сроки развития патологии брюшной полости [8].

Из результатов исследования, в ходе которого в первые сутки развития непроходимости зафиксирован повышенный уровень данного биомаркера в обеих группах, очевидно, что уровень изучаемого протеина 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 биомаркера в начальные сроки заболевания и последующее его снижение в динамике позволяют сделать заключение о роли LBP как раннего агента транслокации, достоверно указывающего на миграцию микробных агентов из кишечника в системный кровоток с последующим развитием генерализованных осложнений.

Заключение. Изучение динамики изменений LBP и РСТ показало, что оба протеина являются ранними показателями наличия бактериемии и транслокации кишечной микрофлоры в системный кровоток, сопровождающей развитие ОКН и являющейся субстратом для развития генерализованных септических осложнений. В поздние периоды развития острой кишечной непроходимости данные биомаркеры менее информативны в связи с редукцией их синтеза как белков ответа острой фазы воспаления.

Информированное согласие: Экспериментальная работа с лабораторными животными проведена в соответствии с приказом 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, Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013). Метод эвтаназии – обескровливание под наркозом, который рекомендован «AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition». Экспериментальное исследование одобрено решением Комитета по биоэтике (№ 252 от 03.10.2016).

Конфликт интересов. Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

1. Магомедов М. М., Бациков Х. А., Иманалиев М. Р., Дамадаев Д. М. Роль окислительного стресса как компонента реперфузионного синдрома при острой кишечной непроходимости. *Современ-*

ные проблемы науки и образования. 2016;(6):160. [Magomedov M. M., Bacikov H. A., Imanaliev M. R., Damadaev D. M. Rol' oksislitel'nogo stressa kak komponenta reperfuzionnogo sindroma pri ostroj kishечноj neprohodimosti. *Sovremennye problemy*

- nauki i obrazovaniya. – The modern problems of science and education. 2016;(6):160. (In Russ.)].*
2. Bankole A. O., Osinowo A. O., Adesanya A. A. Predictive factors of management outcome in adult patients with mechanical intestinal obstruction. *Nigerian Postgraduate Medical Journal. 2017;24(4):217-223.* https://doi.org/10.4103/npmj.npmj_143_17
 3. Григорьев Е. Г., Григорьев Ю. М., Попов М. В., Апарцин К. А., Салато О. В. Механизмы формирования абдоминального сепсиса при перитоните и странгуляционной кишечной непроходимости. *Бюллетень СО РАМН. 2012;32(1):48-49.* [Grigor'ev E. G., Galeev Ju. M., Popov M. V., Aparcin K. A., Salato O. V. Mehanizmy formirovaniya abdominal'nogo sepsisa pri peritonite i strangulacionnoj kishhechnoj neprohodimosti. *Bulleten SO RAMN. – Siberian Department of Bulletin RAMS. 2012;32(1):48-49. (In Russ.)].*
 4. Chung S. H., Lee H. W., Kim S. W. Usefulness of Measuring Serum Procalcitonin Levels in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Gut and Liver. 2016;10(4):574-580.* <https://doi.org/10.5009/gnl15209>
 5. Bracho-Blanchet E., Dominguez-Muñoz A., Fernandez-Portilla E., Zalles-Vidal C., Davila-Perez R. Predictive value of procalcitonin for intestinal ischemia and/or necrosis in pediatric patients with adhesive small bowel obstruction (ASBO). *Journal of Pediatric Surgery. 2017;52(10):1616-1620.* <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2017.07.006>
 6. Lippi G., Sanchis-Gomar F. Procalcitonin in inflammatory bowel disease: Drawbacks and opportunities. *World Journal of Gastroenterology. 2017;23(47):8283-8290.* <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i47.8283>
 7. Fang L., Xu Z., Wang G. S. Directed evolution of an LBP/CD14 inhibitory peptide and its anti-endotoxin activity. *PLoS One. 2014;9(7):e101406.* <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101406>
 8. 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;44(5-6):357-363.* <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.01.012>
 9. Тургунов Е. М., Телеуов М. К., Койшибаев Ж. М., Аманова Д. Е., Жумакаев А. М. Моделирование острой кишечной непроходимости в эксперименте. Свидетельство о государственной регистрации прав на объект интеллектуальной собственности ИС 007385. Опубликовано 15.02.2017. Бюллетень № 278. [Turgunov E. M., Teleuov M. K., Kojshibaev Zh. M., Amanova D. E., Zhumakayev A. M. Modelirovanie ostroj kishhechnoj neprohodimosti v jeksperimente. Modeling of acute bowel obstruction in the experiment. Certificate of state registration of rights to the object of intellectual property of IP 007385. Publication 15.02.2017. Bulletin № 278. (In Russ.)].

Сведения об авторах:

Аманова Дана Ерлановна, магистрант; e-mail: AmanovaD@kgmu.kz

Койшибаев Жандос Муратович, PhD-докторант кафедры хирургических болезней; e-mail: koishibayevz@gmail.com

Ахмалтдинова Людмила Леонидовна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией коллективного пользования; e-mail: ahmaltidinova@kgmu.kz

Матюшко Дмитрий Николаевич, доктор PhD, доцент кафедры хирургических болезней № 2; e-mail: matushko_dn@mail.ru

Тургунов Ермек Мейрамович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней № 2; e-mail: turgunov@kgmu.kz

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616.314.18-002.4:572.7

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2019.14002>

ISSN – 2073-8137

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА НА ФОНЕ ТЕРАПИИ БИСФОСФОНАТАМИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

В. Г. Атрушкевич¹, Г. Н. Берченко², Л. Ю. Орехова³, Е. С. Лобода³

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет
им. А. И. Евдокимова, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр травматологии
и ортопедии им. Н. Н. Приорова, Москва, Россия

³ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. И. П. Павлова, Россия

PATHOMORPHOLOGICAL STATUS OF PERIODONTAL TISSUES DURING BISPHOSPHONATE THERAPY (EXPERIMENTAL RESEARCH)

Atrushkevich V. G.¹, Berchenko G. N.², Orekhova L. Yu.³, Loboda E. S.³

¹ A. I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Russia

² N. N. Priorov National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics,
Moscow, Russia

³ I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Russia

Проведена патоморфологическая оценка состояния тканей пародонта на фоне введения крысам бисфосфонатов после предварительного моделирования метаболических нарушений путем овариоэктомии. Установлено, что овариоэктомия способствует развитию остеонекроза нижней челюсти животных после введения золендроновой кислоты. Через два месяца после введения препарата у овариоэктомизированных крыс выявлены различной степени