
НОВЫЕ МЕТОДЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИКЕ

**С. В. Поройский, А. В. Воронков,
О. С. Самойлова, О. С. Булычева**

Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра медицины катастроф

КОМПЛЕКСНЫЙ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ПАТОГЕНЕЗА ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО СПАЙКООБРАЗОВАНИЯ

УДК 617.55-007.274

Предложен комплексный морфофункциональный подход к изучению патогенеза послеоперационного спайкообразования брюшной полости, позволяющий оценить связь функционирования NO системы, выраженности послеоперационной эндотелиальной дисфункции с морфологическим строением брюшины, организацией перитонеальной жидкости, распространенностью спайкообразования для разработки новых способов его профилактики и диагностики.

Ключевые слова: послеоперационное спайкообразование, эндотелиальная дисфункция, профилактика спайкообразования.

**S. V. Poroysky, A. V. Voronkov,
O. S. Samoilova, O. S. Bulycheva**

A COMPLEX MORPHOFUNCTUIONAL APPROACH TO STUDYING PATHOGENESIS OF POSTOPERATIVE ADHESION FORMATION

We proposed a morphofunctional approach to studying the pathogenesis of postoperative adhesion formation in the abdominal cavity, which allows an assessment of the link between the NO-system, the extent of postoperative endothelial dysfunction with morphological peritoneal structure, organization of peritoneal fluid, the rate of adhesion formation so as to develop new methods of its prevention and diagnostics.

Key words: postoperative adhesion formation, endothelial dysfunction, prevention of adhesions

Проблема послеоперационного спайкообразования и связанных с ним осложнений до настоящего времени является одной из ключевых проблем абдоминальной хирургии. Увеличивающийся объем и количество выполняемых оперативных вмешательств определяет увеличение числа повторных хирургических операций по поводу осложнений спаечной природы (Матвеев Н. Л. и соавт., 2007; Ellis H., 2005). По данным различных авторов, послеоперационное спайкообразование

обнаруживается у 70—93 % больных, перенесших полостные операции, возрастая при гинекологических вмешательствах до 97 % (Беженарь В. Ф., 2011; di Zerega G. S., 2008). Тяжелые осложнения, которые могут развиваться вследствие спайкообразования, малая эффективность повторных оперативных вмешательств в предупреждении послеоперационного адгезиогенеза определили профилактическую направленность в отношении спайкообразования. Реализация данного направления возможна лишь

при четком представлении механизмов адгезиогенеза, каждый из которых может стать определенной точкой приложения для профилактического воздействия.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработка комплексного морфофункционального способа исследования послеоперационного спайкообразования при исследовании его патогенеза и эффективности способов его патогенетической профилактики.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Для изучения патогенеза послеоперационного спайкообразования брюшной полости, а также оценки влияния на адгезиогенез новых способов его профилактики был предложен комплексный морфофункциональный подход, позволяющий оценить влияние операционной травмы различного объема на функциональное состояние системы микроциркуляции брюшины, оценить влияние операционной травмы различного объема на эндотелий сосудов брюшины и механизм его послеоперационных морфофункциональных нарушений, выявить связь послеоперационных медиаторных и клеточных изменений с морфологическими изменениями брюшины, организацией перитонеальной жидкости, распространенностью спайкообразования. Каждый этап исследования включал последовательное применение новых экспериментальных моделей и ряда современных лабораторных методик, отражающих динамику послеоперационной ответной реакции брюшины и адгезиогенеза.

Важнейшим фактором, регулирующим функцию-нальную активность и морфологическое постоянство брюшины, является нормальное функционирование ее микроциркуляторного русла. При этом реактивность сосудистого русла характеризуется быстрым реагированием к изменяющимся условиям его функционирования. Исходя из этого, первым этапом исследования послеоперационного адгезиогенеза и реакции брюшины стало определение состояния гемодинамики брюшины в различные сроки послеоперационного периода, при воздействии операционной травмы различного объема. Важным аспектом данного исследования явилось стандартизация этапов моделирования операционной травмы различного объема, с целью чего была предложена и запатентована методика стандартизированной операционной травмы возрастающего объема. Важной особенностью предложенной модели является использование технических приемов классических гинекологических оперативных вмешательств (гистерэктомия, гистерэктомия с придатками), имеющих статистически доказанный максимальный риск послеоперационного спайкообразования.

Достоверность проводимого исследования достигалась использованием для определения скорости локального кровотока брюшины ультразвукового доплеровского метода.

Важнейшей системой регуляции сосудистого тонуса, а следовательно, и скорости кровотока является эндотелиальная система. При этом применение понятия «эндотелиальная система» мы использовали не случайно, опираясь на многофункциональность медиаторной эндотелиальной регуляции: вазодилатирующая, антитромботическая, антипролиферативная, противовоспалительная. Причиной послеоперационного изменения скорости локального кровотока может быть воздействие двух компонентов сосудистой стенки: эндотелиального и мышечного. Поэтому возникшей необходимостью стала дифференцировка механизмов послеоперационного изменения сосудистого тонуса, что было достигнуто применением фармакологического тестирования эндотелия сосудов брюшины. С этой целью применена модификация синтеза эндогенного оксида азота: ацетилхолином, нитро-L-аргинином, L-аргинином и фактором мышечной регуляции тонуса — нитроглицерином. При этом отсутствие реакции скорости локального кровотока брюшины на внутривенное введение нитроглицерина исключало влияние мышечного компонента сосудистой стенки, определяя ведущую роль эндотелиальных нарушений.

Определение механизма послеоперационной реакции эндотелия сосудов брюшины и факта развития эндотелиальной дисфункции производится с использованием иммуногистохимической оценки специфических маркеров эндотелийзависимой вазодилатации (e-NOS), эндотелийзависимой вазоконстрикции (Endotelin-1) и специфического маркера эндотелиальной дисфункции — уровня фактора Виллебранта (vWF), отражающего состояние антитромботической функции эндотелия. Для подтверждения нарушения антитромботической функции эндотелия определяется фибриноген крови, выявляя дополнительно готовность к послеоперационному тромбообразованию.

Важной частью механизма послеоперационной реакции эндотелиоцитов сосудов брюшины является оценка выраженности влияния операционной травмы на их морфофункциональное состояние, определение возможности их компенсаторного резерва, а также исхода. Мы считаем, что с этой целью наиболее эффективно применима иммуногистохимическая оценка состояния активности внешнего TRAIL-опосредованного и внутреннего (Caspasa-3) путей апоптоза эндотелиоцитов. Кроме того, считаем целесообразным проведение иммуногистохимического исследования внутриклеточного апоптотического фактора — NF-κB, указывающего не только на активацию внутриклеточного

пути апоптоза, но и опосредующего через генные механизмы синтеза провоспалительную функцию эндотелиоцитов. Полученные данные о характере послеоперационных нарушений микроциркуляторной системы брюшины, ее механизмах, включения эффектов блокады и активации эндотелиальных медиаторов позволяют считать их первичным этапом послеоперационного адгезиогенеза. Вышеназванные нарушения приводят к нарушению морфологической организации брюшины, в связи с чем следующим этапом исследования явилась оценка ее гистологического строения. При этом морфологическое исследование различных отделов брюшины (тазовая часть, диафрагма, висцеральная брюшины тонкой кишки) способствует комплексному представлению о системном ответе брюшины на операционную травму и позволяет определить связь послеоперационных эндотелиальных нарушений течением перитонеального перитонита.

С целью количественной оценки состояния брюшины считаем целесообразным использование введенных нами новых морфометрических критериев, наиболее объективно характеризующих динамику морфологических изменений брюшины: толщина брюшины (мкм), численная плотность мезотелиоцитов (1/100 мкм длины среза), средний диаметр ядер мезотелиоцитов (мкм), показатель формы поверхности. Послеоперационные изменения микроциркуляции и морфологического строения брюшины определяют нарушения ее функционального состояния, а в частности ее резорбционной функции.

С целью оценки резорбционной функции брюшины предлагаем использовать разработанную и запатентованную нами экспериментальную модель, дающую количественную характеристику состояния резорбционной функции брюшины в динамике послеоперационного периода. При этом нами определены контрольные значения, а также представлены новые критерии количественной оценки (уровень физиологической резорбции, длительность функциональных нарушений, уровень послеоперационной резорбции, выраженность функциональных нарушений) резорбционной функции брюшины. Считаем, что совокупная послеоперационная морфофункциональная реакция брюшины сопровождается изменениями состава перитонеальной жидкости, являющегося зеркалом морфологического ответа брюшины, субстратом для спайкообразования, его тканевого созревания и морфологических преобразований. В связи с чем следующим этапом комплексного исследования спайкообразования считаем необходимым проведение оценки клеточного состава перитонеальной жидкости, ее коллоидно-кристаллоидное взаимоотношение и оценку динамики представительства фибриногена.

Оценка послеоперационной динамики данных показателей на фоне моделирования операционной травмы различного объема позволяет сформулировать диагностические и прогностические критерии спайкообразования, отражая течение перитонеального перитонита и динамику адгезиогенеза. Функциональная принадлежность клеточных элементов перитонеальной жидкости определяет их роль на различных этапах адгезиогенеза, учитывая динамику морфофункционального состояния брюшины. Применение метода кристаллографии позволило определить соотношение коллоидных и кристаллоидных структур перитонеальной жидкости при ее переходе из жидкой в кристаллическую фазу. При этом нами представлена контрольная картина фаций перитонеальной жидкости и сформулированы типично встречающиеся структуры, определяющие прогностическое значение исследования. Оценка динамики представительства фибриногена в перитонеальной жидкости позволяет представить динамику непосредственного субстрата спайкообразования при его переходе в растворимую и нерастворимую форму фибрина. Завершением цепи морфофункциональных изменений брюшины, структурных преобразований перитонеальной жидкости является формирование сращений различной локализации, точек фиксации и физических свойств.

В качестве завершающего этапа исследования, мы считаем целесообразным провести комплексную сравнительную морфологическую оценку сращений на 30-е сутки послеоперационного периода. Срок проводимого исследования продиктован ранее проведенными нами исследованиями и имеющимися литературными данными о сроках окончательного морфологического «созревания». Морфологическое исследование должно включать четкое описание макро- и микроскопической картин в обнаруживаемых сращениях. Макроскопическая картина включает описание локализации, морфологического типа сращений, способности их разделению тупым или острым способом. Кроме того, нами предложен ряд количественных специфических макроскопических морфологических критериев, позволяющих достоверно сравнить выраженность спайкообразования в группах сравнения в абсолютных цифрах: уровень спаечного процесса, средний объем спаек, среднее количество спаек. Микроскопическая характеристика спаек должна обеспечить четкое представление о тканевых и клеточных составляющих спаек, их характере, количественном представительстве. С этой целью нами предлагается количественно определять (морфостереометрия) удельные объемы соединительной ткани, представительство рыхлой и плотной соединительной ткани, жировой ткани. Полуколичественной морфологической характеристике под-

лежит выраженность мезотелизации, лимфоги-
стиоцитарной инфильтрации, сосудов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработанный комплексный морфофункциональный подход к изучению патогенеза послеоперационного спайкообразования брюшной полости обладает валидностью, позволяя оценить связь функционирования NO системы, выраженности послеоперационной эндотелиальной дисфункции с морфологическим строением брюшины, организацией перитонеальной жидкости, распространенностью спайкообразования,

для разработки новых способов его профилактики и диагностики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беженарь В. Ф., Айламазян Э. К., Цыпурдеева А. А. и др. // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2011. — № 2. — С. 90—101.
2. Матвеев Н. Л. Профилактика спайкообразований в брюшной полости: метод. реком.— М.: Изд-во Моск. гос. мед.-стомат. ун-та, 2007. — 41с.
3. Ellis H. Intraabdominal and postoperative peritoneal adhesions // J-Am-Coll-Surg. — 2005.
4. Di Zerega G. S., Tulandi T. // Reprod Biomed Online. — 2008. — Vol. 17, № 3. — P. 6.

Н. А. Гурова, М. В. Харитоновна, Н. Г. Паньшин, С. М. Сорокин

Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармакологии

МОДЕЛИРОВАНИЕ ИЗОПРОТЕРЕНОЛОВОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА У КРЫС

УДК 615.225.2:616.12-005.4-092.9

В эксперименте на крысах установлена зависимость между дозой введенного изопротеренола и степенью ишемического повреждения миокарда, определяемая электрокардиографическим и гистологическим методами.

Ключевые слова: изопротеренол, ишемия миокарда, сердечная недостаточность, ЭКГ.

N. A. Gurova, M. V. Kharitonova, N. G. Panshin, S. M. Sorokin

MODEL OF ISOPROTERENOL-INDUCED MYOCARDIAL ISCHEMIA IN RATS

As a result of experimental studies carried out in rats, a relationship between the dose of isoproterenol and the intensity of myocardial ischemic damage confirmed by electrocardiography and morphological method has been established.

Key words: isoproterenol, myocardial ischemia, heart failure, ECG.

Сердечная недостаточность (СН) — одна из серьезных проблем современной медицины, возможные пути решения которой лежат не только в области клинических исследований [4], но и в разработке и изучении экспериментальных моделей СН (ЭСН) [1, 3, 5—8, 10].

В настоящее время предлагаются различные способы моделирования сердечной недостаточности у лабораторных животных. Среди инвазивных методов используют дозированный стеноз или полную перевязку ветвей левой коронарной артерии [6, 7]. Для неинвазивного повреждения миокарда используют токсические дозы таких веществ, как норадреналин, монокроталин, доксорубицин, изадрин (изопреналина, изопротеренола) [1, 6, 10]. При этом результаты экспериментальных моделей СН оценивают по изменению со стороны внутрисердечной гемодинамики

при изучении сократительной активности и функциональных резервов миокарда [3, 6, 8], данных эхо- [1] и электрокардиографических исследований, биохимических маркеров повреждения миокарда, концентрации продуктов перекисного окисления липидов и активности антиоксидантной защиты, тканевого дыхания и метаболизма, морфологических изменений [1, 2, 6, 7, 10].

В литературе встречаются данные о токсическом действии изопротеренола на миокард при разных способах введения и дозах [1, 6, 10]. Однако нет данных о зависимости тяжести ишемического повреждения от дозы препарата. Данная информация необходима для проверки чувствительности метода и возможности использования при различной сопутствующей патологии: стрессах, гипомagneзиемии, сахарном диабете и других.