

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Klinichna khirurgiia. 2021 May/June; 88(5-6):65-68.
DOI: 10.26779/2522-1396.2021.5-6.65

Влияние непроходимости тонкой кишки на экспрессию индуцируемого гипоксией фактора-1 α

Д. А. Клюйко

Военно-медицинский институт в Учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Республика Беларусь

Impact of the small bowel impassability on expression of the hypoxia-induced factor-1 α

D. A. Kluiko

Military-Medical Institute in the Education Establishment «Belarusian State Medical University»,
Minsk, Belarus Republic

Реферат

Цель. Изучение экспрессии индуцируемого гипоксией фактора-1 α и оксигенации брюшины при экспериментальной тонкокишечной непроходимости.

Материалы и методы. Исследование проведено на 18 животных, у которых выполнено 62 измерения методом прямой оксиметрии с целью изучения влияния тонкокишечной непроходимости на скорость массопереноса и парциальное давление кислорода в брюшине и экспрессию индуцируемого гипоксией фактора-1 α .

Результаты. При экспериментальной кишечной непроходимости, как полной, так и частичной, парциальное давление и скорость массопереноса кислорода в брюшине были статистически значимо ниже таковых в контроле, что указывало на угнетение клеточных структур, утилизирующих кислород, которое способствует возникновению спаечной болезни. Экспериментальная кишечная непроходимость привела к снижению парциального давления кислорода в брюшине на 88% – с 28,7 (в контроле) до 3,5 мм рт. ст. ($p < 0,01$). Как частичная (на 277,8%), так и полная (на 248,2%) экспериментальная кишечная непроходимость характеризовалась увеличением экспрессии индуцируемого гипоксией фактора-1 α .

Выводы. Кишечная непроходимость, сопровождающаяся изменением оксигенации париетальной и висцеральной брюшины, способствует развитию спаечного процесса в брюшной полости.

Ключевые слова: спаечная болезнь; кишечная непроходимость; индуцируемый гипоксией фактор-1 α .

Abstract

Objective. Studying of the hypoxia-induced factor-1 α expression and peritoneal oxygenation in experimental small bowel intestinal impassability.

Materials and methods. The investigation was done on 18 laboratory animals, in which 62 metrics of direct oxymetry performed with the objective to study the impact of the small bowel impassability on velocity of the mass transduction and partial pressure of oxygen and the hypoxia-induced factor-1 α expression, influenced by hypoxia.

Results. In experimental ileus, complete or partial one, partial pressure and velocity of the oxygen mass-transduction in peritoneum were statistically significantly lower, than such in a control, indicating on inhibition of cellular structures, utilizing the oxygen, what promotes the adhesive disease occurrence. Experimental ileus have led to lowering of the oxygen partial pressure in peritoneum by 88% – from 28.7 (in a control) to 3.5 mm Hg ($p < 0.01$). The partial (by 277.8%) and the complete (by 248.2%) experimental ileus was characterized by enhancement of the hypoxia-induced factor-1 α expression.

Conclusion. Ileus, accompanied by change in the parietal and visceral peritoneum oxygenation, stimulates the abdominal cavity adhesive process development.

Keywords: adhesive disease; ileus; hypoxia-induced factor-1 α .

Несмотря на стремительное развитие хирургической техники, методов диагностики и лечения, спаечная болезнь брюшной полости остается частым послеоперационным осложнением в абдоминальной хирургии и актуальной медико-социальной проблемой. Более 27% пациентов, оперированных по поводу данного осложнения,

нуждаются в повторном вмешательстве по причине рецидива спаечного процесса, при этом смертность от его последствий и осложнений превышает 35% [1 – 3].

Недостаточное понимание базовых патофизиологических процессов образования послеоперационных сращений диссонирует с клинической потребностью в раз-

работке безопасных и эффективных вариантов лечения данного заболевания [4].

Доказано, что внутрибрюшная адгезия опосредована тремя основными процессами: ингибированием деградации внеклеточного матрикса, воспалительной реакцией и индукцией тканевой гипоксии. Однако до настоящего времени нет количественной оценки данных механизмов и оценки методов их коррекции. Достоверно установлено, что миниинвазивные подходы снижают риск появления послеоперационных спаек. Очевидно, меньшая хирургическая травма благоприятно сказывается на восстановлении мезотелия брюшины. Вместе с тем в многочисленных систематических и аналитических обзорах различных хирургических техник, включая лапароскопию, указывается на негативную тенденцию образования послеоперационных сращений, неснижающийся уровень заболеваемости и осложнений, в частности, непроходимости тонкой кишки или бесплодия. Немаловажной является роль температуры и высушивания в формировании послеоперационных сращений. Фармакологические стратегии для уменьшения болевого синдрома, нивелирования частоты возникновения спаек развиваются по пути поиска барьерных средств [5, 6].

Бесспорно, необходима профилактика спаечной болезни брюшной полости в абдоминальной хирургии. При этом, несмотря на разнообразные попытки практикующих врачей нивелировать образование спаек, ни один из существующих на данный момент подходов не позволяет достоверно получить удовлетворительный результат в долгосрочной перспективе. Для решения проблемы спаечной болезни брюшной полости и ее осложнений требуются согласованные усилия всех специалистов в практической хирургии и медицинской науки. До настоящего времени недостаточно изучены механизм образования внутрибрюшных сращений после оперативных вмешательств на органах брюшной полости, а также ключевые факторы, влияющие на распространенность и скорость образования спаек. В современной литературе отсутствует количественное описание экспрессии индуцируемого гипоксией фактора-1 α (Hypoxia-induced/inducible factor-1 α – HIF-1 α) в концепции образования патологических внутрибрюшных сращений [7, 8].

Цель исследования: изучение экспрессии HIF-1 α и оксигенации брюшины при экспериментальной тонкокишечной непроходимости.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 18 животных, у которых проведено 62 измерения методом прямой оксиметрии и иммуногистохимическое исследование с целью изучения влияния тонкокишечной непроходимости на скорость массопереноса и парциальное давление кислорода в брюшине и экспрессию HIF-1 α . В соответствии с задачами исследования животные были распределены на три группы: контрольную (n = 10), с экспериментальной частичной кишечной непроходимостью – ЧКН (n = 4),

с экспериментальной полной кишечной непроходимостью – ПКН (n = 4).

Всем животным проводили иммуногистохимическое исследование с целью определения уровня экспрессии HIF-1 α . Оперативные вмешательства выполняли лапаротомным доступом в условиях операционной с соблюдением правил асептики и антисептики. Животных погружали в наркоз путем внутривенного введения 1% раствора тиопентала натрия в дозе 70 мг на 1 кг массы тела в сочетании с внутримышечным введением 0,5 мл 0,005% раствора фентанила.

С целью определения влияния обтурации кишечной трубки на развитие спаечного процесса в брюшной полости было проведено сравнение группы лабораторных животных с ЧКН и группы лабораторных животных с ПКН, у которых оценивали показатели выживаемости, дыхательную активность париетальной брюшины по параметрам парциального давления и скорости массопереноса кислорода, морфологическую картину, результаты иммуногистохимического исследования, а также характеристики спаечного процесса.

Тонкокишечную непроходимость моделировали путем перевязки кишечной трубки на протяжении лигатурой 5–0 в месте илеоцекального угла при лапаротомии. Брюшную полость зашивали наглухо. В послеоперационном периоде животных не лечили. Через 36 ч от момента моделирования выполняли повторную лапаротомию, проксимально на расстоянии 5 см (расстояние выбрано эмпирически и подтверждено гистологическим исследованием) от уровня обструкции выполняли прямую оксиметрию, далее этот участок иссекали для гистологического исследования. Данные прямой оксиметрии, а именно массоперенос кислорода и его парциальное давление, сравнивали с таковыми в контрольной группе.

Результаты

Исследование показателей тканевого дыхания в стенке тонкой кишки при экспериментальной кишечной непроходимости включало измерение скоростей массопереноса кислорода в диапазоне 145 – 155, 30 – 35 мм рт. ст. и его парциального давления, а также индекса оксиметрии.

У 10 животных контрольной группы было выполнено 30 измерений, у 4 животных с моделированной ЧКН – 16, у 4 животных с моделированной ПКН – также 16 измерений.

Суммарное воздействие на оксигенацию брюшины у животных после моделирования кишечной непроходимости выразилось в снижении парциального давления кислорода на 88% – Me=3,5 мм рт. ст. (Q₁=2,19; Q₃=4,64), M=(3,75±0,34) мм рт. ст. по сравнению с контрольной группой – Me=28,70 мм рт. ст. (Q₁=19,90; Q₃=34,65), M=(27,24±2,08) мм рт. ст. При анализе показателей парциального давления кислорода (тест Крускала–Уоллиса H) были получены статистически значимые их различия в контрольной группе и при экспериментальной кишечной непроходимости (табл. 1).

Таблиця 1. Показатели парциального давления кислорода при экспериментальной спаечной кишечной непроходимости

Группы	Показатели, мм рт. ст.			Тест Крускала – Уоллиса Н
	Me	Q ₁	Q _u	
ЧКН	4,59	3,33	5,88	(2, N=62)=47,25868 p<0,0001
ПКН	2,19	1,80	3,62	
Контрольная	28,70	19,90	34,65	

Таблиця 2. Изменение индекса оксиметрии при экспериментальной спаечной кишечной непроходимости

Группы	Показатели, ед.			Тест Крускала – Уоллиса Н
	Me	Q ₁	Q _u	
ЧКН	3,09	2,19	3,91	(2, N=62)=44,73372 p<0,0001
ПКН	1,46	1,07	2,28	
Контрольная	6,24	5,09	6,54	

Таблиця 3. Экспрессия HIF-1α при экспериментальной спаечной кишечной непроходимости

Группы	Показатели, усл. ед.			
	M ± SD	Me	Q ₁	Q _u
ЧКН	35,06±11,2	31,03	28,89	47,03
ПКН	32,31±10,7	31,68	22,915	40,7
Контрольная	9,28±4,2	9,91	6,025	12,24

В группе животных с моделированной ЧКН парциальное давление кислорода – Me=4,59 мм рт. ст. (Q₁=3,33; Q_u=5,88), M=(4,94±0,47) мм рт. ст. снижалось на 52% по сравнению с таковым в контрольной группе – Me=28,70 мм рт. ст. (Q₁=19,90; Q_u=34,65), M=(27,24±2,08) мм рт. ст.; U – критерий Манна – Уитни: U=14,0, p<0,0001 (рис. 1).

В группе животных с моделированной ПКН парциальное давление кислорода – Me=2,19 мм рт. ст. (Q₁=1,80; Q_u=3,62), M=(2,57±0,28) мм рт. ст. снижалось на 92% по сравнению с таковым в контрольной группе; U – критерий Манна – Уитни: U=1,0, p<0,0001 (см. табл. 1, рис. 1).

В группе животных с моделированной ЧКН скорость массопереноса кислорода в диапазоне 145 – 155 мм рт. ст. – Me=142,23 мм рт. ст./мин (Q₁=92,29; Q_u=225,47), M=(156,72±20,02) мм рт. ст./мин снижалась на 41% по сравнению с таковой в контрольной группе – Me=243,01 мм рт. ст./мин (Q₁=210,25; Q_u=295,81), M=(252,98±9,79) мм рт. ст./мин; U – критерий Манна–Уитни: U=89,0, p=0,0005.

В группе животных с моделированной ЧКН индекс оксиметрии – Me=3,09 ед. (Q₁=2,19; Q_u=3,91), M=(3,1±0,25) ед. был ниже на 50% по сравнению с таковым в контрольной группе – Me=6,24 ед. (Q₁=5,09; Q_u=6,54), M=(5,73±0,22) ед.; U – критерий Манна – Уитни: U=30,0, p=0,001 (табл. 2).

В группе животных с моделированной ПКН индекс оксиметрии – Me=1,46 ед. (Q₁=1,07; Q_u=2,28), M=(1,59±0,19) ед. был ниже на 77% по сравнению с таковым в контрольной группе (p<0,0001); U – критерий Манна – Уитни: U=2,0, p<0,0001 (см. табл. 2).

Анализ экспрессии HIF-1α выявил статистически значимые (p<0,001) закономерности (табл. 3).

Как частичная (на 277,8%), так и полная (на 248,2%) экспериментальная кишечная непроходимость характеризовалась увеличением экспрессии HIF-1α (рис. 2.)

Описанные наблюдения свидетельствуют о связи гипоксии тканей и экспрессии HIF-1α при экспериментальной спаечной кишечной непроходимости.

Обсуждение

Проблема спаечной болезни брюшной полости и ее осложнений до настоящего времени не решена в современной медицине. В последние годы исследователи в разных областях медицинской науки уделяют большое внимание факторам роста и методам их коррекции. Однако данный патологический механизм в абдоминальной хирургии до сих пор не исследован.

Проведенный нами эксперимент показал, что при экспериментальной кишечной непроходимости, как полной, так и частичной, показатели парциального давления и скорости массопереноса кислорода в брюшине статистически значимо отличаются от таковых в контрольной группе, что указывает на угнетение клеточных структур, утилизирующих кислород. Возникающие гипоксические изменения в брюшине являются триггером экспрессии HIF-1α, который, как известно, напрямую влияет на созревание и дифференцировку соединительной ткани. Данное обстоятельство указывает на то, что кишечная непроходимость, вызывая гипоксические нарушения в стенке кишки, стимулирует экспрессию HIF-1α и способствует развитию спаечного процесса в брюшной полости.

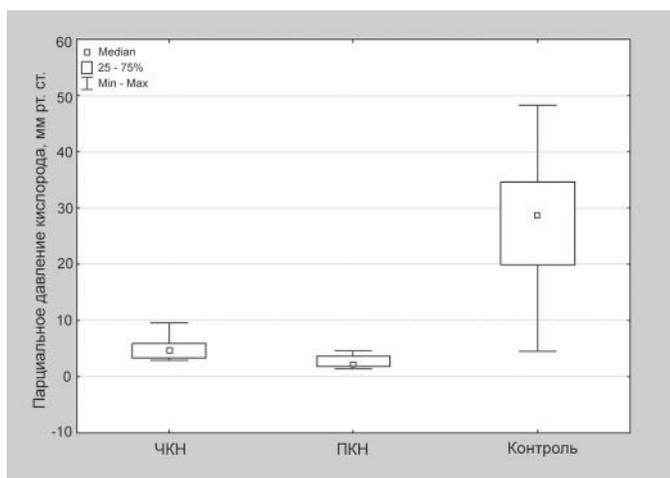


Рис. 1.
 Показатели парциального давления кислорода в брюшине у животных с моделированной спаечной кишечной непроходимостью.

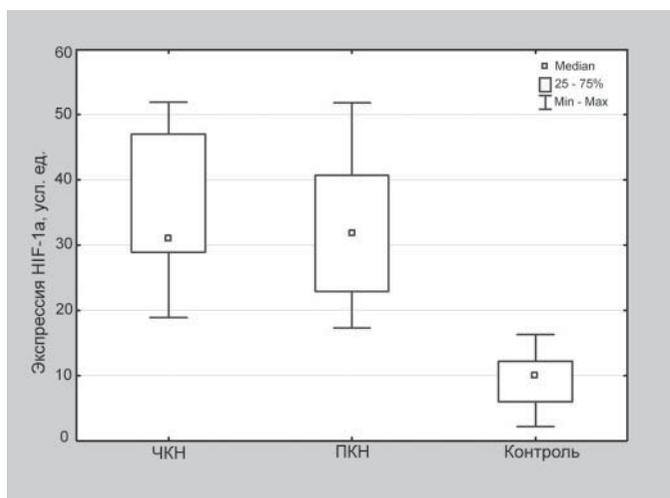


Рис. 2.
 Экспрессия HIF-1α при экспериментальной спаечной кишечной непроходимости.

Описанный патологический механизм наряду, в частности, с механическим повреждением мезотелия, высушиванием и другими механизмами играет важную роль в формировании спаек в брюшной полости.

Таким образом, кишечная непроходимость является неустраняемым на данном этапе развития медицинской науки предрасполагающим фактором в развитии спаечного процесса в брюшной полости. Вместе с тем исследование экспрессии фактора роста и HIF-1α перспективно для решения проблемы спаечной болезни брюшной полости и ее осложнений.

Выводы

1. Экспериментальная кишечная непроходимость приводит к снижению парциального давления кислорода на 88%: с 28,7 (в контрольной группе) до 3,5 мм рт. ст. ($p < 0,01$). Как частичная (на 277,8%), так и полная (на 248,2%) экспериментальная кишечная непроходимость характеризуется увеличением экспрессии HIF-1α.

2. Спаечная кишечная непроходимость приводит к изменению оксигенации париетальной и висцеральной брюшины и способствует развитию спаечного процесса в брюшной полости.

Финансирование. Внешние источники финансирования и поддержки отсутствовали. Гонорары или другие компенсации не выплачивались.

Конфликт интересов. Автор заявляет, что у него нет конфликта интересов в отношении этой рукописи.

References

- Ong AW, Myers SR. Early postoperative small bowel obstruction: A review. *Am J Surg.* 2020 Mar;219(3):535–9. doi: 10.1016/j.amjsurg.2019.11.008. Epub 2019 Nov 8. PMID: 31735260.
- Strajina V, Kim BD, Zielinski MD. Small bowel obstruction in a virgin abdomen. *Am J Surg.* 2019 Sep;218(3):521–6. doi: 10.1016/j.amjsurg.2019.02.011. Epub 2019 Feb 12. PMID: 30885455.
- Wang P, Guan D, Zhang XP, Liu F, Wang W. Modeling the regulation of p53 activation by HIF-1 upon hypoxia. *FEBS Lett.* 2019 Sep;593(18):2596–611. doi: 10.1002/1873–3468.13525. Epub 2019 Jul 16. PMID: 31282018.
- Bower KL, Lollar DI, Williams SL, Adkins FC, Luyimbazi DT, Bower CE. Small Bowel Obstruction. *Surg Clin North Am.* 2018 Oct;98(5):945–71. doi: 10.1016/j.suc.2018.05.007. Epub 2018 Aug 7. PMID: 30243455.
- Behman R, Nathens AB, Haas B, Look Hong N, Pechlivanoglou P, Karanicolas P. Population-based study of the impact of small bowel obstruction due to adhesions on short- and medium-term mortality. *Br J Surg.* 2019 Dec;106(13):1847–54. doi: 10.1002/bjs.11284. Epub 2019 Aug 9. PMID: 31397896.
- Edwards MK, Kuppler CS, Croft CA, Eason-Bates HM. Adhesive Closed-loop Small Bowel Obstruction. *Clin Pract Cases Emerg Med.* 2018 Jan 9;2(1):31–4. doi: 10.5811/cpcem.2017.10.35927. PMID: 29849259; PMCID: PMC5965135.
- Medvecz AJ, Dennis BM, Wang L, Lindsell CJ, Guillamondegui OD. Impact of Operative Management on Recurrence of Adhesive Small Bowel Obstruction: A Longitudinal Analysis of a Statewide Database. *J Am Coll Surg.* 2020 Apr;230(4):544–51.e1. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2019.12.006. Epub 2020 Jan 17. PMID: 31954815; PMCID: PMC7103552.
- Rohwer N, Jumpertz S, Erdem M, Egners A, Warzecha KT, Fragoulis A, et al. Non-canonical HIF-1 stabilization contributes to intestinal tumorigenesis. *Oncogene.* 2019 Jul;38(28):5670–85. doi: 10.1038/s41388-019-0816-4. Epub 2019 May 1. PMID: 31043706.

Надійшла 18.04.2021