

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
ЧИТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

*На правах рукописи*

Артамонова Зоя Александровна

ЗАКОНОМЕРНОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО  
ИММУНИТЕТА, АПОПТОЗА И ТКАНЕВОГО ФАКТОРА В ПАТОГЕНЕЗЕ  
ОСТРОЙ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОЙ ИШЕМИИ И ИХ ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ  
ЗНАЧЕНИЕ.

14.03.03 – патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук,  
профессор Е.В. Намоконов;  
доктор медицинских наук  
профессор И.Ж. Семинский

Иркутск -2016

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ	–	аланинаминотрансфераза
АСТ	–	аспартатаминотрансфераза
ВБА	–	верхняя брыжеечная артерия
IgA	–	иммуноглобулин А
IgG	–	иммуноглобулин G
IgE	–	иммуноглобулин E
IL-1 $\beta$	–	интерлейкин-1 $\beta$
IL-6	–	интерлейкин-6
IL-8	–	интерлейкин-8
IL-10	–	интерлейкин-10
IL-13	–	интерлейкин-13
ЖКТ	–	желудочно-кишечный тракт
КТ	–	компьютерная томография
КФК	–	креатининфосфокиназа
L-ЛДГ	–	L-лактатдегидрогеназа
М-клетки	–	микроскладчатые клетки
МРА	–	магниторезонансная ангиография
ОМИ	–	острая мезентериальная ишемия
ФНО- $\alpha$	–	фактор некроза опухоли- $\alpha$ (TNF/TNFSF2)
CD3-клетки	–	количество CD3 лимфоцитов
CD4-клетки	–	количество CD4 лимфоцитов
CD8-клетки	–	количество CD8 лимфоцитов
CD4/ CD8	–	соотношение относительного числа CD4 и CD8 лимфоцитов
НК-клетки	–	количество НК лимфоцитов
В-клетки	–	количество В лимфоцитов
sFas-L	–	растворимый Fas лиганд
sCD40	–	растворимый CD40
TF	–	тканевой фактор

- Th0 – Т-хелперы 0
- Th1 – Т-хелперы 1
- Th2 – Т-хелперы 2
- УЗИ – ультразвуковое исследование

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	8
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1.Современные эпидемиологические аспекты острой мезентериальной ишемии.....	16
1.2. Патогенез острой мезентериальной ишемии.....	18
1.2.1.Механизмы повреждающего действия ишемии на кишечную стенку.....	19
1.2.2.Особенности структуры лимфоидной ткани слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта.....	21
1.2.3.Изменения состояния систем защиты у больных с острой мезентериальной ишемией.....	23
1.3. Особенности диагностики острой мезентериальной ишемии.....	26
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	31
2.1. Характеристика групп животных.....	31
2. 2. Характеристика пациентов.....	33
2.3. Методы исследования.....	34
2.3.1. Методика моделирования острой обратимой мезентериальной ишемии у крыс.....	34
2.3.2. Методика забора крови.....	36
2.3.3. Методика иммуноферментного анализа интерлейкина-6 в плазме крови крыс.....	36
2.3.4. Методика иммуноферментного анализа интерлейкина-8 в плазме крови крыс.....	37
2.3.5. Методика иммуноферментного анализа интерлейкина-10 в плазме крови крыс.....	37
2.3.6. Методика иммуноферментного анализа растворимого Fas-L в лизате мононуклеаров крови крыс.....	38

2.3.7. Методика иммуноферментного анализа растворимого CD40 в плазме крови крыс.....	38
2.3.8. Методика иммуноферментного анализа тканевого фактора в плазме крови крыс.....	38
2.3.9. Методики гистологических исследований.....	38
2.3.10. Методы изучения субпопуляции лимфоцитов венозной крови экспериментальных животных.....	39
2.3.11. Методы исследования субпопуляции лимфоцитов у пациентов.....	39
2.3.12 Методы выделения мононуклеаров из крови крыс.....	40
2.3.13. Методы статистической обработки результатов.....	40
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	41
ГЛАВА 3. ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА И ТКАНЕВОГО ФАКТОРА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОЙ ИШЕМИИ.....	41
3.1 Изменения некоторых показателей иммунитета и тканевого фактора при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии.....	41
3.1.1 Изменение основных популяций иммунных клеток в контрольной группе.....	41
3.1.2 Изменение основных популяций иммунных клеток при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии.....	45
3.1.3 Динамика содержания провоспалительных интерлейкинов (IL-6, IL-8) в плазме крови при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии.....	50
3.1.4 Динамика содержания противовоспалительных интерлейкинов (IL-10) в плазме крови при	

моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии.....	51
3.1.5 Динамика содержания растворимого FasL при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии.....	53
3.1.6 Динамика содержания растворимого CD40 при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии.....	54
3.1.7 Динамика содержания тканевого фактора при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии.....	55
3.2. Изменения некоторых показателей иммунитета и тканевого фактора при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии.....	57
3.2.1 Изменение основных популяций иммунных клеток при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии.....	57
3.2.2 Динамика содержания провоспалительных интерлейкинов (IL-6, IL-8) в плазме крови при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии.....	65
3.2.3 Динамика содержания противовоспалительных интерлейкинов (IL-10) в плазме крови при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии.....	68
3.2.4 Динамика содержания растворимого FasL при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии.....	71
3.2.5 Динамика содержания растворимого CD40 при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии.....	73
3.2.6 Динамика содержания тканевого фактора при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии.....	76
<b>ГЛАВА 4. ДИНАМИКА МАКРО- И МИКРОСКОПИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ СТЕНКИ КИШЕЧНИКА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОЙ ИШЕМИИ.....</b>	<b>78</b>
4.1. Динамика макро- и микроскопической картины стенки кишечника при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии.....	78

4.2. Динамика макро- и микроскопической картины стенки кишечника при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии.....	84
ГЛАВА 5. КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИМЕРЫ.....	91
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	99
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	115
ВЫВОДЫ.....	118
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	121

## ВВЕДЕНИЕ

### АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Мезентериальная ишемия - заболевание, которое характеризуется ишемическими расстройствами кровообращения органов пищеварения по острому - острая мезентериальная ишемия, или хроническому типу - хроническая мезентериальная ишемия [36]. Острая мезентериальная ишемия (ОМИ) возникает при окклюзивных нарушениях висцерального кровотока вследствие артериальной эмболии, артериального и/или венозного тромбоза, а также неокклюзивных нарушениях кровотока на фоне сниженного сердечного выброса [9,10,11,88]. Артериальный тромбоз и тромбоемболия являются ведущими причинами, приводящими к окклюзии висцеральных ветвей брюшной аорты и инфаркту кишечника, и наблюдаются в 45-56 % структуры острой мезентериальной ишемии [16,19,28,29,89,137]. По данным разных авторов, ОМИ составляет примерно 1-2% от гастроинтестинальных заболеваний и около 0,1-0,4% от экстренной хирургической патологии [19]. Анализируя тенденцию к увеличению продолжительности жизни населения и направленность на «омоложение» сосудистой патологии, можно предположить, что актуальность изучения острой мезентериальной ишемии будет только возрастать [23,28,29,30,48].

Лимфоидная ткань желудочно-кишечного тракта является составляющей единой лимфоидной системы, ассоциированной со слизистыми оболочками и представляет собой самый большой по объему отдел иммунной системы [53]. Исходя из этого, можно предположить, что окклюзия мезентериального русла, равно как и его реперфузия, приведут к изменениям в состоянии иммунитета.



Анализ современного состояния проблемы показывает, что, несмотря на имеющиеся исследования, патогенез острой мезентериальной ишемии до конца не изучен, не ясна и роль иммунной системы в развитии данной патологии [9,11,12,19,23,27,40,43,88,94,126].

ОМИ в настоящее время занимает одно из лидирующих мест по показателю летальности среди острых хирургических заболеваний [2,4,9,54,57,64,67,68]. Одной из причин высокой летальности является трудность своевременной диагностики заболевания даже в условиях специализированных медицинских учреждений и, как следствие, запоздалое и малоэффективное лечение [64,67,68,74,76,77].

Нерешенной проблемой остаются трудности выявления прогрессирования некроза кишки в послеоперационном периоде. Последнее наблюдается, по разным данным, у 15 - 90% пациентов [38,43,83]. Диагностика данного процесса основывается на программированных ревмешательствах, которые, несомненно, утяжеляют состояние пациента [24,28,33,54,56,59,92].

В связи с чем, представляет интерес поиск не инвазивного доступного критерия, который с большей вероятностью отражал бы течение острой мезентериальной ишемии. Можно предположить, что изучение показателей иммунитета на различных стадиях ОМИ в корреляции с изменениями структуры тонкой кишки позволит оценить вклад иммунной системы в патогенез острой мезентериальной ишемии, а также поможет в диагностике и прогнозировании течения данного патологического процесса.

## СТЕПЕНЬ РАЗРАБОТАННОСТИ ТЕМЫ

Острая мезентериальная ишемия занимает одно из лидирующих мест по показателю летальности среди острых хирургических заболеваний [2,4,9,54,57,64,67,68]. Теме посвящено большое количество работ, однако большинство из них, уделяет внимание трудностям диагностики и разработке оптимальных алгоритмов оказания помощи пациентом с указанной патологией

[12,23,94]. Тогда как патогенез заболевания остается недостаточно изученным. Уточнение патогенеза острой мезентериальной ишемии будет способствовать улучшению качества диагностики и совершенствованию патогенетической терапии, что улучшит результаты оказания помощи пациентам с данной патологией.

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить закономерности изменений некоторых показателей иммунитета, системы апоптоза и тканевого фактора в патогенезе острой мезентериальной ишемии для разработки патогенетически значимых лабораторных критериев диагностики тяжести и прогноза данного процесса.

### ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Воспроизвести экспериментальную модель острой обратимой окклюзионной мезентериальной ишемии на крысах.
2. Установить особенности динамики общего числа лимфоцитов, CD3, CD4, CD8, В и NK-клеток, CD4/CD8, содержания интерлейкина-6, интерлейкина-8, интерлейкина-10, маркеров апоптоза (sFas-L, sCD40), тканевого фактора в крови у животных в зависимости от длительности ишемии (3, 6 и 8 час) и после реперфузии.
3. Исследовать динамику морфологических изменений в стенке кишки экспериментальных животных при окклюзии краниальной брыжеечной артерии в зависимости от времени ее пережатия (3, 6 и 8 час) и после реперфузии.
4. Оценить характер корреляционных взаимосвязей между уровнем лимфоцитов, интерлейкинов, маркеров апоптоза, тканевого фактора и степенью морфологических изменений стенки кишечника при окклюзии краниальной брыжеечной артерии и после её реперфузии.
5. Установить наиболее значимые показатели системы иммунитета, апоптоза в диагностике стадии патологического процесса и его прогноза, оценить их клиническую эффективность.

## НАУЧНАЯ НОВИЗНА

Впервые установлено, что острая окклюзия краниальной брыжеечной артерии сопровождается выраженными изменениями в иммунной системе, что проявляется снижением абсолютного числа лимфоцитов с 8998 кл/мкл до 3113,5 кл/мкл, изменением в структуре их субпопуляций (снижением CD4-клеток с 2594 кл/мкл до 1598,5 кл/мкл, CD8-клеток с 2122 кл/мкл до 412,5 кл/мкл), увеличением соотношения CD4/CD8 с 1,26 до 3,94, повышением содержания провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов, снижением содержания маркеров апоптоза (sFas-L, sCD40) и тканевого фактора.

При этом выявлена закономерность между прогрессирующим снижением количества лимфоцитов, ростом провоспалительных интерлейкинов, морфологическими изменениями стенки кишечника и длительностью ишемии.

Установлено, что восстановление кровотока на третий час ишемии характеризуется минимальными структурными изменениями стенки кишки со стабилизацией общего числа лимфоцитов и отношения CD4/CD8, ростом концентрации IL-6, IL-8 (преобладанием роста IL-8 над IL-6). Отмечается увеличение концентрации IL-10 в 5,5 раз относительно показателя в подгруппе трехчасовой ишемии.

Реперфузия на шестой час также не приводит к некротическим изменениям в стенке кишки и характеризуется стабилизацией абсолютного числа лимфоцитов на уровне показателей шестичасовой ишемии, увеличением отношения CD4/CD8, дальнейшим ростом концентрации провоспалительных интерлейкинов (преобладанием роста IL-8 над IL-6) и отсутствием динамики концентрации IL-10. Так же отмечается рост концентрации изучаемых маркеров апоптоза и рост концентрации TF на 93%. Реперфузия на сроке трех- и шестичасовой ишемии в течении 24 часов наблюдения не приводит к некрозу кишечника. После восьмичасовой ишемии, несмотря на восстановление мезентериального кровообращения, прогрессирует некроз кишечника, что сопровождается увеличением соотношения CD4/CD8 на фоне дальнейшего снижения числа

лимфоцитов, ростом провоспалительных интерлейкинов, снижением концентрации IL-10 в 23 раза относительно показателя в подгруппе восьмичасовой ишемии, снижением концентрации TF, незначительным ростом концентрации sCD40 в крови экспериментальных животных.

## ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ

Выявленные закономерности изменений в субпопуляции лимфоцитов, динамике интерлейкинов, маркеров апоптоза (sCD40, sFas-L) и тканевого фактора в условиях острой обратимой мезентериальной ишемии свидетельствуют о выраженной дисфункции в иммунной системе организма. Обнаруженные изменения параметров в зависимости от степени ишемии кишечника расширили представления о патогенезе данного заболевания.

Полученные данные позволят повысить качество диагностики, уточнить стадию мезентериальной ишемии, а также предложить методы эффективной патогенетической терапии с последующим выбором хирургической тактики.

Основные положения работы внедрены в учебный процесс кафедры патологической физиологии с курсом клинической иммунологии Иркутского Государственного Медицинского Университета и кафедры общей и специализированной хирургии с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии Читинской Государственной Медицинской Академии.

Впервые на основе полученных данных создан новый способ лабораторной диагностики некроза кишки при острой мезентериальной ишемии (патент РФ № 2552338-2015 г).

## МЕТОДОЛОГИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа состоит из теоретического и экспериментального этапов исследования. Теоретический этап исследования включает изучение и анализ литературных данных отечественных и зарубежных источников, освещающих патогенез и проблемы ранней диагностики острой мезентериальной ишемии,

степень изученности цитокинового дисбаланса и роли иммунной системы в патогенезе заболеваний органов пищеварения. Экспериментальный этап - определение основных популяций иммунных клеток стандартным методом прямого иммунофлюоресцентного окрашивания, IL-6, IL-8, IL-10 и уровни sCD40, sFasL, TF методом твердофазного иммуноферментного анализа параллельно с гистологическим исследованием кишечника у животных при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии. Постановка эксперимента осуществлялась в учебной операционной кафедры топографической анатомии и оперативной хирургии, лабораторные исследования проводились в НИИ молекулярной медицины Читинской Государственной Медицинской Академии. В качестве клинических примеров приведены результаты обследования трех пациентов с острой мезентериальной ишемией. Выводы сделаны на основании результатов, полученных в ходе наблюдения и эксперимента, и обработанных современными методами медицинской статистики.

#### ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. При полной окклюзии краниальной брыжеечной артерии прогрессирует снижение уровня лимфоцитов, увеличивается отношение CD4/CD8, содержание про- и противовоспалительных интерлейкинов, снижается содержание TF в плазме крови. При необратимой ишемии максимальное снижение уровня лимфоцитов, рост интерлейкинов, снижение концентрации sCD40 и sFasL регистрируется к 8-му часу окклюзии краниальной брыжеечной артерии, что морфологически соответствует периоду некротических изменений кишечника.
2. При восстановлении мезентериального кровообращения после трех- и шестичасовой ишемии происходит стабилизация показателей субпопуляций лимфоцитов, соотношения CD4/CD8, рост концентрации IL-10, затем IL-8, sCD40. Реперфузия на сроке трех- и шестичасовой ишемии в течении 24 часов наблюдения не приводит к некрозу кишечника. После восьмичасовой ишемии, несмотря на восстановление мезентериального кровообращения, прогрессирует

некроз кишечника, что сопровождается снижением субпопуляций лимфоцитов, ростом CD4/CD8, sCD40, снижением содержания IL-10 на 95,7%, TF относительно показателей подгруппы восьмичасовой ишемии.

3. На основании полученных данных разработан способ диагностики острой мезентериальной ишемии, объективно отражающий функциональную активность иммунной системы в зависимости от интенсивности деструктивных процессов стенки кишечника. Данный способ диагностики может использоваться в качестве лабораторного критерия развития и прогрессирования острой мезентериальной ишемии.

### СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ И АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Достоверность результатов исследований, проведённых автором, подтверждена адекватным статистическим анализом данных, полученных в ходе эксперимента. Основные материалы диссертации доложены и обсуждены на: межрегиональной конференции «Хирургия Забайкалья» (Чита, 2012); III научно-практической конференции молодых ученых Сибирского и Дальневосточного федеральных округов (Иркутск 2012 г.); научно-практической конференции с международным участием, посвященной 60-летию Читинской государственной медицинской академии (Чита, 2013); межрегиональной научно-практической конференции «Реабилитация хирургических больных в условиях модернизации отечественного и регионального здравоохранения (Чита, 2013); IV научно-практической конференции молодых ученых Сибирского и Дальневосточного федеральных округов (Иркутск 2014 г.); XII съезде хирургов России (Ростов-на-Дону, 2015 г.).

### ПУБЛИКАЦИИ

По теме диссертации опубликовано 7 работ, из них 5 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 1 патент на изобретение.

## ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ

Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием методов и объема исследования, двух глав собственных исследований, обсуждения результатов исследования, выводов, списка литературы из 152 наименований (89 источников на русском языке и 63 на иностранных языках). Диссертация иллюстрирована 21 таблицей, 16 рисунками и 23 графиками.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Современные эпидемиологические аспекты острой мезентериальной ишемии

Острая мезентериальная ишемия - это группа схожих по течению и прогнозу патологических состояний, обусловленных нарушениями кровотока в артериальном, венозном или микроциркуляторном русле брыжеечных сосудов [43].

Острая мезентериальная ишемия в настоящее время занимает одно из лидирующих мест по показателю летальности среди острых хирургических заболеваний [2,4,9,28,54,57,64,67,68]. Высокие показатели смертности обусловлены не только характером патологического процесса, но и возрастом больных (60% больных старше 70 лет) [22,92,105]. Острые нарушения мезентериального кровообращения наиболее часто встречаются у пациентов пожилого и старческого возраста [28,29,30,43,45]. Средний возраст больных, по разным данным, колеблется от 67 до 71 года, что не исключает возможности возникновения заболевания в более молодом возрасте. Характерно, что в возрастной группе до 60 лет ОМИ чаще встречаются у мужчин, а среди больных старше 60 лет преобладают женщины. Это можно объяснить более ранним развитием атеросклероза у мужчин и большей продолжительностью жизни женщин [11,48].

По литературным данным, острое нарушение брыжеечного кровообращения встречается у 1-2 больных на 1000 госпитализированных в общехирургический стационар, такие пациенты составляют 0,8% от всех госпитализированных в



экстренном порядке, или 0,5 % от общего числа пролеченных больных хирургического профиля [34,62]. При этом, все авторы находят результаты лечения неудовлетворительными, объясняя это пожилым и старческим возрастом подавляющего большинства пациентов, наличием выраженной сопутствующей терапевтической патологии, тяжелыми системными расстройствами в до- и послеоперационном периодах [2,10,127,150].

В связи с увеличением продолжительности жизни людей, а также распространенностью приобретенных и врожденных тромбофилических состояний, частота встречаемости ОМИ в последние годы растет [20,21,34].

Причинами острого нарушения мезентериального кровообращения по данным отечественных и зарубежных авторов [9,11,12,19,23,27,40,43,88,94,126] являются:

- эмболия артерий (на фоне фибрилляции предсердий, врожденных и приобретенных пороков сердца, аневризмы сердца и аорты, опухоли аорты, ятрогении);
- тромбоз артерий (острая окклюзия на фоне хронической мезентериальной ишемии, системный васкулит, узелковый периартериит, фибромускулярная дисплазия, травма);
- неокклюзионная мезентериальная ишемия (резкое снижение артериального давления, застойная сердечная недостаточность, сердечно- легочная недостаточность, шок любого происхождения, нарушения ритма сердца, такие как экстрасистолия и особенно - пароксизмальные формы тахикардии и фибрилляции предсердий);
- венозный тромбоз (нарушения гемодинамики (портальная гипертензия, сердечная недостаточность), патология свертывающей системы крови (дефицит протеина D, дефицит протеина S, дефицит антитромбина III, дефицит фактора V), заболевания крови (лейкоз, эритремия), инфекционные заболевания, воспалительные заболевания органов брюшной полости и малого таза (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, острый панкреатит, перитонит), травма

брюшной полости, паранеопластический синдром, обширные операции, средств химиотерапии, оральных контрацептивов);  
- экстравазкулярные причины (странгуляция).

Выделяют две формы острого нарушения мезентериального кровообращения - окклюзионную и неокклюзионную [9,11,12,19,23,27,40,43,88,94,102,103,108]. Причиной первой является эмболия верхней брыжеечной артерии (от 29 до 50% всех нарушений) или ее тромбоз (от 25 до 50,7%), реже встречается тромбоз в портomezентериальном русле (до 7,8%) [9,11,39,45,81]. На долю неокклюзионной ишемии приходится от 7 до 20% случаев по разным данным [89,104,150]. Среди причин окклюзионной ишемии наиболее часто встречается тромбоз непарных висцеральных ветвей брюшного отдела аорты. При этом преобладает изолированное поражение верхней брыжеечной артерии (ВБА) - до 91% от всех случаев окклюзионных поражений [27,97,101,133,137,148]. Это можно объяснить и тем, что при изолированном поражении нижней брыжеечной артерии редко возникает клиника острой мезентериальной ишемии, в связи с компенсацией кровотока за счет анастомозов с верхней брыжеечной и внутренними подвздошными артериями [36].

Среди причин развития тромбозов в артериальном русле кишечника преобладает атеросклероз аорты и/или ее непарных висцеральных ветвей (до 95% случаев), встречается и тромбообразование в системе верхней брыжеечной артерии, обусловленное облитерирующим тромбангиитом [12,13,19]. Помимо изменений сосудистой стенки, вызывающих нарушение регионарной гемодинамики, нельзя полностью исключать расстройства в системе гемостаза.

Тромбофилия, сопровождающая некоторые врожденные заболевания, а также состояния после операционной травмы, перенесенного венозного тромбоза увеличивает риск развития тромботической окклюзии не только в измененном сосудистом русле [20,21].

## 1.2. Патогенез острой мезентериальной ишемии

### 1.2.1. Механизмы повреждающего действия ишемии на кишечную стенку

К возникновению мезентериальной ишемии приводит сложный комплекс патофизиологических механизмов, развивающихся вследствие нарушения как регионарного кровотока, так и центральной гемодинамики под действием различных этиологических факторов. Среди патогенетических механизмов, приводящих к инфаркту кишечника, ведущее место занимает острое нарушение артериального абдоминального кровотока [12,50,87]. При развитии ишемии кишечной стенки наибольшему воздействию подвержены энтероциты - главные абсорбирующие клетки слизистой оболочки, покрывающие дистальную половину ворсинок тонкой кишки. К факторам, способствующим повышенной восприимчивости энтероцитов к гипоксическому повреждению, относят: 1) низкий уровень напряжения кислорода в тканях на вершущках ворсинок вследствие обратной перфузии кислорода (из тканей в кровь) при развитии кишечной гипоксии; 2) концентрацию активных оксидантов (ксантиндегидрогеназы) при развитии гипоксии кишечной стенки в дистальной половине ворсинок; 3) нарушение абсорбции аминокислот, глюкозы и электролитов, наиболее выраженное в энтероцитах [48,65,98,99]. По мере прогрессирования ишемических изменений в кишке энтероциты, выстилающие дистальные отделы ворсинок, как бы отходят от подлежащей собственной пластинки из-за увеличивающегося отека тканей. Затем энтероциты слущиваются в просвет кишки, в результате чего подлежащие ткани подвергаются воздействию кишечного содержимого [65,98,99].

Во многом уровень эндогенной интоксикации при кишечной недостаточности связан с развитием бактериальной транслокации, а непосредственное развитие финальной бактериальной транслокации именно в послеоперационном периоде зависит не только от тяжести поражения тонкой кишки, но еще и от глубины развития синдрома ишемии - реперфузии [58].

Ишемия кишечника известна как одна из форм острого воспаления [58,93,96,99,136,151]. При этом происходит:

- повышение проницаемости сосудистой стенки, что приводит к развитию отека стенки кишки, диapedезу эритроцитов, усугублению гипоксии;
- продукция хемокинов, которая приводит к инфильтрации стенки кишки лейкоцитами;
- повреждение эпителиального барьера, что ведет к нарушению всасывания, массивной транслокации резидентной микрофлоры [47];
- возникновение внутрисосудистой агрегации лейкоцитов и тромбоцитов в кровеносных сосудах микроциркуляторного русла слизистой оболочки кишки;
- развитие тканевого ацидоза, а также избыточное образование паракринных веществ (гистамин, серотонин, брадикинин, оксид азота, лейкотриены, тромбоксаны, интерлейкины, эндотелины, фактор, активирующий тромбоциты, комплемент и тромбин), что способствует развитию местной циркуляторной недостаточности;
- парез кишечника, что также усугубляет водноэлектролитные нарушения и способствует миграции резидентной микрофлоры в вышележащие отделы кишечника;
- образование цитотоксичных веществ;
- высвобождение протеолитических и липолитических ферментов, которые усугубляют некробиотические процессы в стенке кишки.

Выраженность вышеперечисленных процессов будет зависеть от объема и скорости поражения, а также от устойчивости органа к гипоксии [1,4,5,9,19,34].

Транслокация бактерий и токсичных веществ, содержащихся в просвете кишки, в слизистую оболочку и в кровь приводит к прогрессированию некротических изменений в стенке кишки и развитию синдрома системной воспалительной реакции [47]. Одновременно происходит секвестрация воды и электролитов в «третьем пространстве», что вызывает выраженные водно-электролитные нарушения и утяжеляет течение ишемии [47,48].

Воспаление и свертывание — взаимозависимые процессы, которые могут формировать порочный круг, в котором каждый процесс распространяет и

усиливает другой [111,114,152]. Состояние свертывающей системы крови у пациентов с острой мезентериальной ишемией изучены недостаточно.

### 1.2.2. Особенности структуры лимфоидной ткани слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) выполняет не только пищеварительную, но и иммунную функцию. Около 80% всех иммунокомпетентных клеток организма локализовано именно в слизистой оболочке кишечника; около 25% слизистой оболочки кишечника состоит из иммунологически активной ткани и клеток [53,78].

Лимфоидная ткань, связанная со слизистыми оболочками ЖКТ - самый большой по объему отдел иммунной системы [53,78].

Этот факт можно объяснить огромным потоком антигенного материала и длительным его контактом с внутренней поверхностью слизистой оболочки кишки. Что вынуждает слизистые оболочки ЖКТ иметь надежные механизмы защиты. Это, в первую очередь, факторы естественной резистентности – плотные межэпителиальные контакты, высокая регенераторная способность, выделение слизи, протеолитические ферменты, рН желудочного и кишечного соков, резидентная микрофлора [53,78,129,141]. Специфическую резистентность слизистых оболочек обеспечивает лимфоидная ткань [53,78,129].

В иммунной системе ЖКТ выделяют индуктивную и эффекторную зоны [77,141]. Первая состоит из пейеровых бляшек, червеобразного отростка и солитарных фолликулов, вторая - из собственной пластинки и эпителиальных клеток слизистой оболочки кишечника. В индуктивной зоне происходит первый контакт лимфоцитов с антигеном; в эффекторной зоне – синтез иммуноглобулинов В-лимфоцитами, цитокинов моноцитами/макрофагами, CD3 - и NK- лимфоцитами. В настоящее время показано, что пейеровы бляшки играют важную роль в функционировании иммунной системы ЖКТ [53,78,129]. Их клеточный состав существенно не отличается от такового периферического

лимфатического узла. В иммунной системе ЖКТ пейеровы бляшки выполняют две важные функции: примирование CD3- и В-лимфоцитов и направление дифференцировки В-лимфоцитов в сторону синтеза иммуноглобулина А (IgA). Первая функция осуществляется с помощью уникальной морфологической структуры, характерной только для пейеровых бляшек, - фолликулярно - ассоциированного эпителия, главной особенностью которого являются так называемые М-клетки (микроскладчатые клетки) [129]. Эти клетки имеют короткие цитоплазматические отростки и образуют интраэпителиальный карман, в котором, помимо самой М-клетки, находятся макрофаги, дендритные клетки, CD- и В-лимфоциты. Главная роль М-клеток - захват и транспорт антигена внутрь пейеровых бляшек. Антиген захватывается ими путем эндоцитоза или фагоцитоза, с помощью актиновой сети в везикулах транспортируется через всю М-клетку и с помощью экзоцитоза освобождается в карман. Последний является главным участком, на котором происходит презентация антигена макрофагами, дендритными клетками и В-лимфоцитами CD3-клеткам [129].

Эпителиальные клетки как эффекторная зона иммунной системы ЖКТ состоят из двух тесно связанных между собой компонентов - внутриэпителиальных лимфоцитов и самих эпителиальных клеток - энтероцитов. Оказалось, что между эпителиальными клетками, ближе к базальной мембране, располагается громадное количество внутриэпителиальных лимфоцитов. До 90% последних являются в основном CD3+ клетками, среди них можно выделить 4 субпопуляции: CD4-CD8+, CD4+CD8-, CD4+CD8+, CD4-CD8- [45].

Внутриэпителиальные лимфоциты характеризуются преобладанием клеток, несущих рецептор CD8+ (до 75%), в то время как в периферической крови количество этих клеток не превышает 35%. Основной чертой внутриэпителиальных лимфоцитов с фенотипом CD3+CD4-CD8+ является цитотоксичность. Преобладание цитотоксических клеток среди внутриэпителиальных лимфоцитов, вероятно, связано с тем, что они выполняют функции иммунологического надзора за быстро делящимся эпителием кишечника

и удаляют клетки, измененные вследствие мутации, действия микробных, токсических и других факторов. Внутриэпителиальные лимфоциты находятся в теснейшем функциональном контакте с клетками эпителия, составляя с ними единую комплексную структуру, являющуюся первым барьером на пути проникновения в организм микробных клеток. При этом эпителиальные клетки кишечника являются иммунологически активными элементами. Энтероциты могут экспрессировать рецепторы для цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-6, продуцировать IL-13, IL-6, IL-8. Экспрессия рецепторов и синтез цитокинов существенно повышаются под влиянием липополисахаридов [70,141,144].

Состояние иммунитета при поражениях ЖКТ изучено недостаточно.

Можно предположить, что острая мезентериальная ишемия, приводит не только к нарушениям пищеварительной функции, но и в кратчайшие сроки вызывает глубокий дисбаланс в иммунной системе. Этот факт можно объяснить нарушением кишечного барьера с развитием системной воспалительной реакции [49,50] и острой ишемией лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками желудочно-кишечного тракта.

### 1.2.3. Изменения состояния систем защиты у больных с острой мезентериальной ишемией

Описание влияния острой мезентериальной ишемии на иммунный статус в литературе сводится в основном к развитию синдрома системной воспалительной реакции и сепсиса. Вероятно, что изменения в иммунной системе при данном патологическом процессе имеют более сложный характер и требуют глубокого изучения.

Для понимания возможных изменений в иммунной системе при мезентериальной ишемии важно учитывать подобные изменения при других заболеваниях органов желудочно-кишечного тракта и влияние ишемии на показатели иммунитета.

При этом в литературе наиболее подробно освещается вопрос о формировании иммунной защиты при инфицировании *Helicobacter pylori*. Анализ результатов изучения иммунореактивности у таких больных свидетельствует о выраженных изменениях у них практически всех показателей иммунного статуса [26,48,49,69]. При попадании антигена в ЖКТ происходит переработка его антигенпрезентирующими клетками, которые способствуют активации Т-хелперов0 (Th0) и дальнейшей их пролиферации и дифференцировке. Под воздействием определенного спектра цитокинов может формироваться один из двух вариантов Т-лимфоцитов: Т-хелперы 1 (Th1), которые продуцируют IL-2, интерферону (ИФН $\gamma$ ) и являются мощными индукторами фагоцитоза, и занимают центральное место в клеточном иммунном ответе; Т-хелперы 2 (Th2) продуцируют IL-4, IL-5, IL-10, IL-13. IL-4 действует синхронно с IL-13, запуская синтез иммуноглобулина Е (IgE), хотя другие их функции далеко не идентичны. Эти цитокины ответственны за формирование гуморального иммунного ответа. Характерно, что цитокины Th1 клеток индуцируют дифференцировку Th0 в направлении Th1 и ингибируют образование Th2, в свою очередь, цитокины, продуцируемые Th2-клетками, дают обратный эффект преимущественно за счет IL-4, направляющего дифференцировку Th0 в сторону Th2 [49]. Доказано, что внутриклеточные бактерии и вирусы активируют макрофаги и NK-клетки, которые начинают продуцировать ИФН $\gamma$  и таким образом стимулируют дифференцировку Т-хелперов в сторону Th1, тогда как экстрацеллюлярные антигены способствуют дифференцировке CD4-лимфоцитов в направлении Th2 [49].

При исследовании Т-клеточного (CD3) звена иммунитета у пациентов, инфицированных *Helicobacter pylori*, выявлено возрастание в общей популяции содержания CD3 лимфоцитов, связанное с активацией CD-8 лимфоцитов, при выраженном снижении CD4 лимфоцитов (Т-хелперов) [86]. Подобное соотношение расценено как супрессия иммунного ответа.



Достаточно широко освещено в литературе состояние иммунитета при язвенном колите.

Установлено что, при язвенном колите растет популяция В-лимфоцитов и плазмоцитов. Этот факт можно объяснить чрезмерной реакцией со стороны Т-лимфоцитов, определяющей гиперреакцию слизистой на бактерии-комменсалы [31,141]. В-клеточная реакция и повышенное образование иммуноглобулина G (IgG) и аутоантител представляют собой вторичную - защитную реакцию, призванную очистить пораженный орган от клеток, подвергшихся апоптозу. CD3 лимфоциты типа CD4 из периферической крови и из собственной пластинки перекрестно реагируют с естественной флорой у больных при язвенном колите и при болезни Крона. Следовательно, в патогенезе колита важны патологические иммунные специфические реакции со стороны CD3 лимфоцитов на флору организма-хозяина [37].

В развитии и течении заболеваний разных органов и систем, в том числе и органов пищеварения, важная роль принадлежит цитокинам [54,59,70]. С их помощью реализуется широкое взаимодействие на субклеточном, клеточном, органном, системном уровнях, формирование комплексной защитной реакции, направленной на нейтрализацию патогенных агентов, их разрушение, элиминацию из организма, сохранение его структурной и функциональной целостности [70,72,82]. В организме цитокины тесно взаимодействуют между собой, образуют универсальную коммуникационную биологическую сеть, запускающую и регулирующую целый каскад воспалительных, иммунных, метаболических процессов. Провоспалительные цитокины усиливают воспаление, явления альтерации, деструкции, стимулируют синтез острофазных белков печенью, окислительный метаболизм макрофагов. Продолжительный, повышенный синтез цитокинов может стать фактором прогрессирования патологического процесса, оказывая прямое повреждающее действие на клетки и ткани, индуцируя альтерацию, нарушение целостности сосудистой стенки, усиление и хронизацию воспалительного процесса [54,59,70,72,82,96,125].

Следует отметить, что иммунная система слизистой кишечника в норме располагает специальными механизмами контроля над ходом реакций иммунного ответа [17]. Реализация апоптоза происходит через специфические рецепторы, относящиеся к семейству фактора некроза опухолей (ФНО) – (Fas) -генов, в которой выделяют проапоптотические белки – Вах и Вак и антиапоптотические - Вcl-2. Возможная чрезмерная экспрессия проапоптотических или апоптотических факторов, нарушая клеточный гомеостаз, может приводит либо к апоптозу, либо увеличивать резистентность лейкоцитов к апоптозу и повышать их жизнестойкость [52].

Несмотря на широкое освещение изменений в иммунной системе при большинстве заболеваний органов пищеварительного тракта, состояние иммунной системы при острой мезентериальной ишемии остается в тени, не понятна и роль цитокинов в патогенезе данного заболевания.

### 1.3. Особенности диагностики острой мезентериальной ишемии

В хирургическом лечении ОМИ остается множество нерешенных проблем. Отсутствие четкой клинической картины заболевания, и как следствие запоздалая диагностика способствует высокой летальности при данном заболевании, которая колеблется от 67 до 92% [12,23,94].

Картина острой окклюзии верхней брыжеечной артерии (ВБА) с отсутствием специфических симптомов в ишемическую стадию заболевания способствует тому, что окклюзия ВБА протекает под маской других заболеваний и верный дооперационный диагноз устанавливается лишь в 18 – 45% случаев[13,19,23,54,103,105,106].

По данным аутопсий лиц с мультифакторным атеросклерозом в 75,5% случаев выявляется атеросклероз аорты и висцеральных ветвей: чревного ствола, верхней и нижней брыжеечной артерии – явления хронической артериальной недостаточности кишечника, что также смазывает картину “катастрофы” в брюшной полости [19,29,30,40,101,131]. Данный факт диктует необходимость

именно в ранней (до развития некроза кишечника и перитонита) диагностике острой мезентериальной ишемии.

Верификация диагноза мезентериальной ишемии до операции в лечебных учреждениях осуществляется на основании клинического обследования.

Лабораторная диагностика ОМИ также как и клиническая картина не имеет каких-либо четких и патогномоничных критериев [9,11,12,19,23,27,40,43,88,94,126]. Наиболее ранним лабораторным признаком мезентериальной ишемии нередко является лейкоцитоз. У таких больных, как правило, быстро возникает метаболический ацидоз [121]. По мере прогрессирования ишемии и развития повышенной проницаемости стенки кишки амилаза абсорбируется из ее просвета, в результате чего повышается содержание амилазы в сыворотке крови. Позже, при развитии инфаркта кишки, значительно повышается уровень и других ферментов – L-лактатдегидрогеназы (L-ЛДГ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и креатинфосфокиназы (КФК). Что имеет место не только при окклюзии брыжеечных артерий, но и многих других острых заболеваниях органов брюшной полости [27].

Диагноз ОМИ, по мнению большинства авторов, должен быть поставлен или отвергнут немедленно после возникновения подозрения на острую ишемию кишечника [12,23,94]. В мировой литературе предпринимаются множественные попытки найти такой лабораторный показатель, который если бы не достоверно указывал на ОМИ, то хотя бы с большой долей вероятности заставлял заподозрить это заболевание.

Karabulut K. в эксперименте продемонстрировал достоверно значимое увеличение концентрации фосфора в плазме и прокальцитонина, тотчас же после лигирования ВБА [105]. Содержание этих веществ повышалось в течение 6 часов от момента окклюзии брыжеечной артерии, при этом авторы делают заключение, что фосфор и прокальцитонин могут играть важную роль в ранней диагностике ишемии кишечника. Ряд авторов указывают на увеличение некоторых

плазменных цитокинов при острой ишемии кишечника: интерлейкин 1 и 6, ФНО $\alpha$  [91].

Активность лактатдегидрогеназы и лактата в крови и перитонеальной жидкости были изучены в эксперименте после окклюзии краниальной брыжеечной артерии. Было показано, что только лишь повышенная концентрация данных маркеров в перитонеальной жидкости указывает на острую ишемию кишечника, а лактат, по мнению авторов, не может являться ранним маркером ишемического повреждения кишечника [91,121].

Внимание многих ученых в последнее время направлено на изучение D-димеров при острой тромботической или тромбоэмболической окклюзии сосудов вообще [68] и брыжеечных сосудов в частности [81,90,145].

Особое значение в диагностике острой мезентериальной ишемии принадлежит инструментальным методам исследования [2,9,13,18,23,31,39,51,62,80,81,148,150]. Однако традиционные методы исследования, такие как ультразвуковое исследование (УЗИ) и обзорная рентгенография брюшной полости, не позволяют однозначно установить диагноз острой окклюзии ВБА. Так, по данным ряда авторов, ультразвуковое исследование у большинства больных позволяет выявить лишь пневмотизацию кишечника, большое количество жидкости в желудке, утолщение кишечной стенки, УЗИ признаки динамической непроходимости [76,81].

Обзорная рентгенография органов брюшной полости также не имеет какой-либо четкой инструментальной картины, хотя ряд авторов указывают на определенную ценность этого исследования [31,81]. Савельев В.С. и соавт. [67] выделил ряд рентгенологических симптомов у пациентов с инфарктом кишечника: утолщение кишечной стенки, интрамуральный газ, а также отек и деструкция слизистой оболочки кишки. Однако общеизвестно, что все эти признаки неспецифичны для данного заболевания [80,81]. Иные возможности в диагностике острой окклюзии ВБА имеет дуплексное сканирование с цветным картированием, в ряде случаев позволяющее визуализировать отсутствие

кровотока в ВБА [94,102,113].

В настоящее время наиболее распространенным и доступным для большинства лечебных учреждений является диагностическая лапароскопия [2,10,13,23,40,43,62,66,71,76,95,97,108]. Стандартная лапароскопия позволяет диагностировать протяженность поражения и в ряде случаев оценить жизнеспособность кишечника, при этом лапароскопическое заключение формируется на основании визуальной оценки цвета, наличия перистальтики кишечника, пульсации краевых брыжеечных артерий и выпота в брюшной полости. Лапароскопия не позволяет установить диагноз острой окклюзии ВБА у 43% больных, причем ишемическая стадия может быть заподозрена лишь в 36% случаев [66].

Однако большинство отечественных авторов все же считают диагностическую лапароскопию абсолютно показанной при подозрении на ОМИ [2,39,66,80,81].

Еще одним спорным вопросом в эндоскопической диагностике острой окклюзии ВБА, является выполнение динамических лапароскопий. Савельев В.С. и соавт. производили повторную лапароскопию через 4 – 6 часов [67].

Анигохромолапароскопия, предложенная Савельевым В.С. и соавт., основана на введении красителя в ВБА при аортомезентерикографии и одновременном осмотре петель кишечника. В случае острой окклюзии ВБА, окрашивания пораженных петель кишечника не происходит, в то время как в норме они заполняются красителем уже на 2–3секунде. Методика позволила достоверно подтвердить или отвергнуть острую окклюзию ВБА во всех случаях.

На сегодняшний день “золотым стандартом” диагностики острой мезентериальной ишемии является ангиография [43,62,76,80,81,92,103]. Американская ассоциация гастроэнтерологов рекомендует выполнять ангиографию всем пациентам с подозрением на острую окклюзию висцеральных сосудов без явлений перитонита, а также при наличии в анамнезе венозных

тромбозов и наследственных гиперкоагуляционных состояний.

В последнее время появляется все большее число публикаций, посвященных применению компьютерной томографии (КТ) и магниторезонансной ангиографии (МРА) в диагностике острой окклюзии ВБА [31,94,104,148,150]. Отношение к КТ и МРТ довольно противоречиво. Дуброва с соавт (2015) выдвигает эту методику в один ряд с ангиографией, превращая ее в методику выбора при подозрении на ОМИ [31]. Магнитно-резонансная томография, так же как и КТ обладает высокой диагностической точностью при подозрении на острую мезентериальную ишемию, однако ее широкое применение ограничено доступностью этого метода.

### РЕЗЮМЕ

Исходя из морфофункциональных особенностей строения желудочно-кишечного тракта, можно предположить, что острая мезентериальная ишемия приводит к нарушению не только пищеварительной функции и развитию острой системной воспалительной реакции, но и к выраженным изменениям в системе иммунитета. Последнее можно объяснить результатом воздействия острой ишемии на лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистыми оболочками желудочно-кишечного тракта.

Несмотря на достаточно большое количество лабораторных и инструментальных методов диагностики острой мезентериальной ишемии, в клинической практике по-прежнему сохраняется высокая летальность при данной патологии. В большинстве случаев это связано с недостаточной точностью и низкой специфичностью предложенных методик.

Все вышеперечисленное диктует необходимость, как дальнейшего изучения патогенеза данного заболевания, так и разработки новых патогенетически обоснованных лабораторных критериев диагностики развития и оценки степени тяжести острой мезентериальной ишемии.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Характеристика групп животных

Животные содержались в сертифицированном виварии Читинской Государственной Медицинской Академии (ветеринарное свидетельство 238 №0068850 от 31.10.2013г.). Содержание животных и постановка экспериментов проводилась в соответствии с требованиями приказов № 1179 МЗ СССР от 11.10.1983 года и № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 года, а также международных правил «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» и соответствовали «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных», «Контролю за проведением работ с использованием экспериментальных животных» (приказ №742 и №48 Министерства высшего и среднего специального образования СССР от 13.11.1984г. и от 23.01.1985г.) и «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18.03.1986г.) [44]. Эвтаназию крыс выполняли с соблюдением правил проведения работ при использовании экспериментальных животных, путем передозировки средств для наркоза (Эфира). Смерть животного констатировали по отсутствию дыхания и сердечной деятельности.

Эксперименты проведены на 78 взрослых белых нелинейных крысах - самцах средней массой  $200 \pm 25$  гр. У крыс моделировали острую обратимую мезентериальную ишемию. У них производили забор крови, тонкой кишки. Животные были разделены на 3 группы: контрольная («пробная операция»), группа необратимой и обратимой ишемии (реперфузии), каждая из групп была также подразделена на 3 подгруппы (Таблица 1).

Таблица 1 - Количественная характеристика экспериментальных животных

№ группы	Название группы		Количество животных(п)
1	Контрольная группа («пробная» операция)		
	1.1	Подгруппа трехчасовой релапаротомии	6
	1.2	Подгруппа шестичасовой релапаротомии	6
	1.3	Подгруппа восьмичасовой релапаротомии	6
2	Группа необратимой ишемии		
	2.1	Подгруппа трехчасовой ишемии	10
	2.2	Подгруппа шестичасовой ишемии	10
	2.3	Подгруппа восьмичасовой ишемии	10
3	Группа обратимой ишемии (реперфузии)		
	3.1	Подгруппа реперфузии после трехчасовой ишемии	10
	3.2	Подгруппа реперфузии после шестичасовой ишемии	10
	3.3	Подгруппа реперфузии после восьмичасовой ишемии	10

1 группа (n = 18) — контрольная — животные с «пробной» операцией. Кровь для исследования забирали во время лапаротомии и релапаротомии перед выводом животного из эксперимента вместе с тканями на гистологическое исследование. Группа подразделена, в зависимости от времени выполнения релапаротомии, на три подгруппы:

1.1 подгруппа (n = 6) релапаротомию выполняли через три часа, выведение животных из эксперимента производили на третий час эксперимента.

1.2 подгруппа (n = 6) — релапаротомию выполняли через шесть часов, выведение животных из эксперимента производили на шестой час эксперимента.



1.3 подгруппа ( $n = 6$ ) — релапаротомию выполняли через восемь часов, выведение животных из эксперимента производили на восьмой час эксперимента.

2 группа ( $n = 30$ ) — животные с моделированием острой необратимой мезентериальной ишемии. Кровь для исследования забирали во время лапаротомии и релапаротомии, перед выводом животного из эксперимента вместе с тканями на гистологическое исследование. Группа подразделена, в зависимости от продолжительности ишемии, на три подгруппы:

2.1 подгруппа ( $n = 10$ ) — ишемия составила три часа, релапаротомия и выведение животных из эксперимента производили на третий час ишемии.

2.2 подгруппа ( $n = 10$ ) — ишемия шесть часов, релапаротомия и выведение животных из эксперимента производили на шестой час ишемии.

2.3 подгруппа ( $n = 10$ ) — ишемия восемь часов, релапаротомия и выведение животных из эксперимента производили на восьмой час ишемии.

3 группа ( $n = 30$ ) — животные с моделированием острой обратимой мезентериальной ишемии. Всем животным этой группы в разные временные промежутки выполняли реперфузию. Кровь на исследование забирали во время лапаротомии до перевязки брыжеечной артерии, во время релапаротомии перед восстановлением кровотока в брыжеечном русле и на 24 час после реперфузии, перед выводом животного из эксперимента, вместе с тканями на гистологическое исследование. В зависимости от времени ишемии группа разделена на три подгруппы:

3.1 группа ( $n = 10$ ) — ишемия три часа затем реперфузия.

3.2 группа ( $n = 10$ ) — ишемия шесть часов затем реперфузия.

3.3 группа ( $n = 10$ ) — ишемия восемь часов затем реперфузия.

## 2. 2. Характеристика пациентов

В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации.

Апробация способа диагностики острой мезентериальной ишемии у пациентов проводилась в хирургическом отделении НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Чита II» ОАО РЖД.

В качестве клинических примеров приведены три случая острой мезентериальной ишемии у пациентов, которые находились на стационарном лечении. Нами проведен комплексный анализ клинической ситуации, данных лабораторных и инструментальных методов исследования, изучались субпопуляции лимфоцитов венозной крови. Исследовалась взаимосвязь интраоперационных и клинических данных с результатами иммунологических исследований.

### 2.3. Методы исследования

#### 2.3.1. Методика моделирования острой обратимой мезентериальной ишемии у крыс

В области операционного поля кожу выбривали и обрабатывали спиртом. Под общим обезболиванием (эфирный наркоз) выполняли разрез кожи по средней линии от мечевидного отростка до лона (около 9 см) (Рисунок 1 а). Вскрывали брюшную полость (Рисунок 1б). Затем петли тонкой кишки запрокидывались вверх, производили забор крови.



а)



б)

Рисунок 1 - Этапы операции: а) разрез кожи; б) лапаротомия.

После чего у основания корня брыжейки выделялась и обратимо лигировалась краниальная брыжеечная артерия (Рисунок 2а).

Прекращение кровотока по артерии контролировали визуально: побледнение артерии дистальнее места перевязки, заустение краевых сосудов тонкой кишки, прекращение их пульсации. Рана ушивалась (Рисунок 2б).



а)



б)

Рисунок 2 - Этапы операции: а) обратимое лигирование краниальной брыжеечной артерии, б) ушивание раны

После операции животное помещалось в отдельный бокс, где и находилось до завершения эксперимента. В группе №2 животным в определенные временные промежутки выполнялась релапаротомия, забор крови, забор гистологического материала и вывод животного из эксперимента. В группе №3 животным в определенные временные промежутки выполнялась релапаротомия, забор крови, реперфузия. Возобновление кровотока по артерии контролировали визуально: наполнение артерии дистальнее места перевязки, заполнение краевых сосудов тонкой кишки, появление их пульсации (Рисунок 3).



Рисунок 3 - Макроскопическая картина тонкой кишки после восстановления брыжеечного кровоснабжения

Рана ушивалась, животное помещалось в отдельный бокс. Через сутки после реперфузии, под общим обезболиванием, выполнялась релапаротомия, оценка жизнеспособности кишечника, забор крови, забор гистологического материала и вывод животного из эксперимента.

### 2.3.2. Методика забора крови

Под наркозом во время лапаротомии выполняли пункцию передней поверхности задней полой вены, гемостаз осуществлялся временным прижатием места пункции тупфером. При сборе крови на иммунологическое исследование, с целью предотвращения ее свертывания, шприц промывали раствором Гепарина, кровь, в объеме 0,2 мл набирали в пробирки BD Vacutainer с гепарином лития. Для исследования тканевого фактора 0,2 мл крови набирали в BD Vacutainer пробирку с Цитратом натрия 3,8%, при этом шприц промывали раствором Цитрата натрия 3,8%. Кровь в течение 15 минут доставлялась в лабораторию.

### 2.3.3. Методика иммуноферментного анализа интерлейкина-6 в плазме крови крыс

Определение уровня интерлейкина-6 (IL-6) в плазме крови проводили иммуноферментным методом с помощью набора «Cusabio Biotech Co., Ltd» (Китай). Все этапы реакции проходили на шейкерах-инкубаторах «ST-3» (Латвия) в термостатируемых условиях. Учет реакции, построение калибровочных графиков и определение концентрации анализов проводили на фотометре вертикального сканирования «ANTHOS 2010» (Австрия) с помощью программного обеспечения «Auswerte-Software anthos labtec», версия 2.3.0.7.

### 2.3.4. Методика иммуноферментного анализа интерлейкина-8 в плазме крови крыс

Определение уровня интерлейкина-8 (IL-8) в плазме крови проводили иммуноферментным методом с помощью набора «Ray Biotech, Inc.» (Германия).

Все этапы реакции проходили на шейкерах-инкубаторах «ST-3» (Латвия) в термостатируемых условиях. Учет реакции, построение калибровочных графиков и определение концентрации анализов проводили на фотометре вертикального сканирования «ANTHOS 2010» (Австрия) с помощью программного обеспечения «Auswerte-Software anthos labtec», версия 2.3.0.7.

#### 2.3.5. Методика иммуноферментного анализа интерлейкина-10 в плазме крови крыс

Определение уровня интерлейкина-10 (IL-10) в плазме крови проводили иммуноферментным методом с помощью набора «Ray Biotech, Inc.» (Германия). Все этапы реакции проходили на шейкерах-инкубаторах «ST-3» (Латвия) в термостатируемых условиях. Учет реакции, построение калибровочных графиков и определение концентрации анализов проводили на фотометре вертикального сканирования «ANTHOS 2010» (Австрия) с помощью программного обеспечения «Auswerte-Software anthos labtec», версия 2.3.0.7.

#### 2.3.6. Методика иммуноферментного анализа sFas-L в лизате мононуклеаров крови крыс

Определение уровня sFas-L в лизате клеток мононуклеаров крови крыс проводили иммуноферментным методом с помощью набора «sFasL elisa kit : Rat soluble Factor-related Apoptosis ligand (sFasL) ELISA Kit» (Австрия).

#### 2.3.7. Методика иммуноферментного анализа растворимого CD 40 в плазме крови крыс

Определение уровня sCD 40 в плазме крови крыс проводили иммуноферментным методом с помощью набора «大鼠sCD40配体ELISA试剂盒» (комплект производитель Шанхай ELISA).

#### 2.3.8. Методика иммуноферментного анализа тканевого фактора в плазме крови крыс

Определение уровня TF в плазме крови крыс проводили иммуноферментным методом с помощью набора «Rat Tissue Factor (TF) ELISA» (США).

#### 2.3.9. Методики гистологических исследований

Проводилась фиксация, проводка и заливка гистологического материала тонкой кишки (измененная часть тонкой кишки из каждой группы). Материал фиксировали в 10 % нейтральном забуференном фосфатами растворе формалина в течение 2 суток. Ручную проводку забранного материала выполняли с использованием изопропилового спирта с минеральным маслом до парафина [46,60]. Заливку осуществляли парафином.

На микротоме МПС-2 (СССР) парафиновые блоки нарезались на срезы толщиной 10 мкм. Стекла со срезами выдерживались в термостате при температуре 37 °С в течение 12 часов для расправления.

Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилин - эозином по методу Д.Э. Коржевского, А.В. Гилярова [46].

Гистологический анализ микропрепаратов кишечника и морфометрические измерения проводили на МТ4000 Series Biological Microscope не менее чем в десяти полях зрения при увеличении в 200 раз.

#### 2.3.10. Методы изучения субпопуляции лимфоцитов венозной крови экспериментальных животных

Оценку субпопуляционной структуры лимфоцитов осуществляли стандартным методом прямого иммунофлюоресцентного окрашивания цельной крови с

использованием лизирующего/фиксирующего раствора VersaLyse/IOTest 3 Fixative solution (Beckman Coulter) и панели моноклональных антител IOTest Anti-Rat (Beckman Coulter). Контрольные пробы инкубировали с иммуноглобулинами мечеными флуорохромами (FITC, PC7, APC) соответствующего изотипа – мышинные IgG1, IOTest (Beckman Coulter). Цитофлюорометрию осуществляли на проточном цитофлюориметре "Cytomics FC-500" (Beckman Coulter, USA), регистрировали суммарно не менее 10.000 событий. Данные анализировали с помощью программы CXP Cytometer (Beckman Coulter).

#### 2.3.11 Методы исследования субпопуляции лимфоцитов у пациентов

Кровь для иммунологического обследования получали путем пункции локтевой вены в строго стерильных условиях. Для иммунофенотипирования кровь забирали в пробирку VACUTAINER (BD), содержащую динатриевую соль ЭДТА объемом 2,5 мл.

Оценку субпопуляционной структуры лимфоцитов осуществляли стандартным методом прямого иммунофлюоресцентного окрашивания цельной крови с использованием коммерческого лизирующего/фиксирующего раствора OPTILYSE C (Beckman Coulter) и панели моноклональных антител tetraCHROME™ и IOTest (Beckman Coulter): 1-ая панель – CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 и HLA-DR-PC7; 2-ая панель – CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5 и CD16-PC7. Цитофлюорометрию осуществляли на проточном цитофлюориметре «Cytomics FC-500» (Beckman Coulter, USA), регистрировали суммарно не менее 10 тыс. событий. Данные анализировали с помощью программы CXP Cytometer (Beckman Coulter).

#### 2.3.12 Метод выделения мононуклеаров из крови крыс

Мононуклеары выделяли из гепаринизированной венозной крови методом дифференциального центрифугирования на градиенте HISTOPAQUE (плотность 1,083г/мл).

### 2.3.13 Методы статистической обработки результатов

Полученные данные обработаны непараметрическими методами статистики, используемыми в биологии и медицине [54,61]. Для показателей определялись медиана (Me), 75-й и 25-й перцентили (75-й; 25-й). Для морфологических показателей определялись среднее арифметическое (M), стандартное отклонение (sd). Сравнение медиан выборок осуществляли по критерию Уилкоксона. Различия величин признавали статистически значимыми при критическом уровне  $P \leq 0,05$ . Для исследования силы и направленности взаимосвязей показателей вычислялись коэффициенты корреляции (r). Обработка результатов производилась с помощью пакета компьютерных программ BioStat, Microsoft Excel 2003, 2007 для Windows XP.

Результаты статистической обработки сведены в таблицы, графики и использованы в схемах.



## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Г Л А В А 3. ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА И ТКАНЕВОГО ФАКТОРА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

#### 3.1 Изменения некоторых показателей иммунитета и тканевого фактора при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии

##### 3.1.1 Изменение основных популяций иммунных клеток в контрольной группе

Общее обезболивание и оперативная агрессия влияет на состояние экспериментального животного, о чем свидетельствуют исследования ряда авторов [72,74,79,120,146].

В связи с этим, с целью выявления характера и степени влияния операции и общего обезболивания, нами были изучены значения основных популяций иммунных клеток животных, у которых производилась «пробная» операция (Таблица 2). При этом, через 3 часа после пробной лапаротомии, наблюдается снижение относительного числа лимфоцитов на 6,1% ( $P < 0,05$ ) тогда как абсолютное число их достоверно не меняется. Отмечается изменение в соотношении CD4/CD8 клеток, в сторону уменьшения, за счет преимущественного снижения CD4-клеток. Через 6 часов после пробной лапаротомии общее число CD4-клеток остается на уровне трехчасовой подгруппы, однако происходит восстановление отношения CD4/CD8 клеток. Через 8 часов после пробной лапаротомии происходит восстановление относительного числа лимфоцитов с некоторым увеличением их абсолютного

числа и стабилизацией CD4/CD8. Что может свидетельствовать о восстановлении иммунной реактивности организма животного к восьмому часу послеоперационного периода.

Таким образом, можно сделать заключение, что общее обезболивание в сочетании с лапаротомией оказывает иммуносупрессивное влияние на экспериментальных животных, что проявляется снижением общего числа лимфоцитов и уменьшением соотношения CD4/CD8. При этом к восьмому часу происходит восстановление иммунного статуса экспериментального животного.

Таблица 2 - Изменение основных популяций иммунных клеток в контрольной группе (Ме; 25-й;75-й)

Показатели	Исходные показатели (лапаротомия) n=18	релапаротомия через 3 ч. (подгруппа 1.1) n=6	релапаротомия через 6 ч. (подгруппа 1.2) n=6	релапаротомия через 8ч. (подгруппа 1.3) n=6
лимфоциты (%)	63,95(46,93;65,41)	60,05(58,93;60,72) $P_1 \leq 0,05$	60,86(53,89;63,13) $P_2 \leq 0,046; P_4 \leq 0,062$	63,07(60,04;65,08) $P_3 \leq 0,05; P_5 \leq 0,062$
лимфоциты (кл/мкл)	8998(6569;11374)	9341(8651;10204) $P_1 \leq 0,062$	9298(7783,50;10186) $P_2 \leq 0,05; P_4 \leq 0,046$	12833(11630;14513) $P_3 \leq 0,046; P_5 \leq 0,046$
CD3-клетки (%)	51,80(50,99;54,69)	53,14(52,64;53,64) $P_1 \leq 0,046$	50,34(50,80;53,25) $P_2 \leq 0,046; P_4 \leq 0,062$	58,9(51,49;63,24) $P_3 \leq 0,05; P_5 \leq 0,046$
CD3-клетки (кл/мкл)	4636(3357;5610)	5406(5030,70;5954,20) $P_1 \leq 0,05$	4845(3996,50;5123) $P_2 \leq 0,062; P_4 \leq 0,062$	7354(6904;7774,50) $P_3 \leq 0,046; P_5 \leq 0,046$
CD4-клетки (%)	54,69(53,82;75,24)	44,26(41,55;50,24) $P_1 \leq 0,046$	54,69(54,25;64,60) $P_2 \leq 0,046; P_4 \leq 0,062$	59,60(56,61;61,53) $P_3 \leq 0,05; P_5 \leq 0,062$
CD4-клетки (кл/мкл)	2594(2068;2748)	1984,50(1868;2141,30) $P_1 \leq 0,05$	2617(2331;2671) $P_2 \leq 0,062; P_4 \leq 0,062$	4100,50(4004;4526,20) $P_3 \leq 0,046; P_5 \leq 0,046$
CD8-клетки (%)	43,27(23,45;44,02)	47,39(42,09;50,98) $P_1 \leq 0,046$	43,65(43,46;43,83) $P_2 \leq 0,046; P_4 \leq 0,062$	38,69(36,47;42,19) $P_3 \leq 0,05; P_5 \leq 0,062$

CD8-клетки (кл/мкл)	2122(645;2174)	2157(1998,50;2346,50) $P_1 \leq 0,062$	2314(1383,50;2148) $P_2 \leq 0,062; P_4 \leq 0,062$	2554(2346;2817,80) $P_3 \leq 0,05; P_5 \leq 0,05$
CD4/CD8	1,26(1,22;3,21)	0,94(0,81;1,22) $P_1 \leq 0,046$	1,26(1,24;2,24) $P_2 \leq 0,046; P_4 \leq 0,062$	1,54(1,35;1,68) $P_3 \leq 0,062; P_5 \leq 0,062$
В-клетки (%)	22,71(13,65;28,66)	18,15(17,12;19,85) $P_1 \leq 0,05$	22,29(18,18;25,69) $P_2 \leq 0,062; P_4 \leq 0,05$	21,00(16,17;25,95) $P_3 \leq 0,062; P_5 \leq 0,062$
В-клетки (кл/мкл)	1745(1111;3587)	1877,50(1583; 2389,80) $P_1 \leq 0,062$	1915(1428;2666) $P_2 \leq 0,062; P_4 \leq 0,062$	2928,50(1958;3871,80) $P_3 \leq 0,05; P_5 \leq 0,05$
NK-клетки (%)	5,42(4,06;12,28)	6,57(5,49;8,62) $P_1 \leq 0,062$	5,21(4,74;8,85) $P_2 \leq 0,062; P_4 \leq 0,062$	4,68(4,06;5,53) $P_3 \leq 0,062; P_5 \leq 0,062$
NK-клетки (кл/мкл)	678(312;1000)	743(625;882) $P_1 \leq 0,062$	643(495;839) $P_2 \leq 0,062; P_4 \leq 0,062$	624(577;681) $P_3 \leq 0,062; P_5 \leq 0,062$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой релапаротомии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгрупп трехчасовой и шестичасовой релапаротомии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгрупп шестичасовой и восьмичасовой релапаротомии,  $P_4$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями шестичасовой релапаротомии,  $P_5$  - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой релапаротомии.

### 3.1.2. Изменение основных популяций иммунных клеток при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии

Анализ динамики основных популяций клеток при моделировании острой мезентериальной ишемии показал следующую закономерность (Таблица 3, график 1,2).

К третьему часу ишемии обращает на себя внимание снижение общего числа лимфоцитов, при этом относительное их число уменьшается на 27,9% от исходной величины, тогда как абсолютное – на 40,7%. При этом отмечается рост относительного количества CD4-клеток на 23,1% и увеличение их абсолютного числа на 51%. Одновременно с увеличением числа CD4-клеток наблюдается снижение относительного числа CD8-клеток на 27,8% от исходного, что приводит к увеличению соотношения CD4/CD8 на 71,4%.

К шестому часу ишемии прогрессирует снижение как относительного, так и абсолютного числа лимфоцитов. Относительное число лимфоцитов снижается на 42,7%, а абсолютное – на 49,5% относительно исходных данных. В этот временной промежуток наблюдается небольшой рост количества CD4-клеток относительно подгруппы трехчасовой ишемии и прогрессирование снижения числа CD8-клеток. Так относительное число CD8-клеток в группе шестичасовой ишемии снизилось на 6,2% относительно показателей подгруппы трехчасовой ишемии и на 32,3% относительно исходных показателей. Абсолютное число CD8-клеток уменьшилось на 25,8% относительно исходных показателей. CD4/CD8 при этом возрастает на 88,1% относительно исходных показателей. Также на шестой час ишемии уменьшается и число В-клеток. Относительное количество их уменьшается на 69,6%, а абсолютное – на 71,3% относительно исходных показателей. Динамика NK-клеток характеризуется увеличением относительного числа клеток на 41,1%, наряду со снижением их абсолютного числа на 17,7% относительно исходных данных.

Восьмой час ишемии характеризуется снижением абсолютного числа всех изучаемых нами популяций иммунных клеток. В этот временной промежуток

наблюдаются «ножницы» в показателях относительного и абсолютного числа изучаемых популяций клеток. То есть абсолютное число клеток уменьшается стремительнее, чем относительное их число.

Так относительное число лимфоцитов уменьшается на 53,3% от исходных и на 18,5% относительно показателей подгруппы 2.2 (шестичасовой ишемии). Абсолютное число лимфоцитов снижается на 65,4% относительно исходных показателей. Абсолютное число CD4-клеток уменьшается на 38,4%, тогда как относительное их число увеличивается на 44% относительно исходных показателей. Относительное число CD8-клеток уменьшается на 53,7%, тогда как абсолютное на 80,6% от исходных величин. Относительное число В-клеток снижается на 71,9%, а их абсолютное число - на 89%. Относительное число NK-клеток увеличивается на 27,4%, вместе с этим их абсолютное количество снижается на 68,4% относительно исходных данных. Следует отметить, что в этот временной промежуток соотношение CD4/CD8 увеличивается в 3,1 раза относительно исходного показателя.

Таблица 3 - Изменение основных популяций иммунных клеток в эксперименте (Ме; 25-й;75-й)

Показатели	Исходные показатели (до перевязки) n=30	трехчасовая ишемия (подгруппа 2.1) n=10	шестичасовая ишемия (подгруппа 2.2) n=10	восьмичасовая ишемия (подгруппа 2.3) n=10
лимфоциты (%)	63,95(46,93;65,41)	46,12(36,52;51,37) $P_1 \leq 0,032$	36,67(27,64;45) $P_2 \leq 0,046; P_4 \leq 0,032$	29,87(25,57;32,84) $P_3 \leq 0,046; P_5 \leq 0,02$
Лимфоциты (кл/мкл)	8998(6569;11374)	5340(4694;8360) $P_1 \leq 0,046$	4542(3790,30;6718,50) $P_2 \leq 0,05; P_4 \leq 0,032$	3113,50(2288,50;4051,3) $P_3 \leq 0,046; P_5 \leq 0,02$
CD3-клетки (%)	51,08(50,99;54,69)	52,84(48,76;57,37) $P_1 \leq 0,062$	64,40(57,82;69,51) $P_2 \leq 0,046; P_4 \leq 0,032$	53,85(37,59;69,68) $P_3 \leq 0,046; P_5 \leq 0,02$
CD3-клетки (кл/мкл)	4636(3357;5610)	6546(3998;7755,50) $P_1 \leq 0,05$	5207(2198,20;8032) $P_2 \leq 0,062; P_4 \leq 0,05$	2001(953,50;3274) $P_3 \leq 0,032; P_5 \leq 0,02$
CD4-клетки (%)	54,69(53,82;75,24)	67,33(59,66;70,83) $P_1 \leq 0,05$	69,15(60,04;80,65) $P_2 \leq 0,046; P_4 \leq 0,05$	78,75(78,03;79,48) $P_3 \leq 0,032; P_5 \leq 0,032$
CD4-клетки (кл/мкл)	2594(2068;2748)	3916(2493;4992,5) $P_1 \leq 0,05$	4037(1742,50;6158,80) $P_2 \leq 0,05; P_4 \leq 0,046$	1598,50(746,25;2593) $P_3 \leq 0,046; P_5 \leq 0,032$

CD8-клетки (%)	43,27(23,45;44,02)	31,25(27,77;38,77) $P_1 \leq 0,05$	29,31(26,57;31,75) $P_2 \leq 0,05; P_4 \leq 0,046$	20,02(19,60;20,34) $P_3 \leq 0,032; P_5 \leq 0,032$
CD8-клетки (кл/мкл)	2122(645;2174)	2816(1583;3150,50) $P_1 \leq 0,05$	1565,50(554,25;2598,5) $P_2 \leq 0,046; P_4 \leq 0,05$	412,50(180,50;680,75) $P_3 \leq 0,02; P_5 \leq 0,02$
CD4/CD8	1,26(1,22;3,21)	2,16(1,64;2,61) $P_1 \leq 0,05$	2,37(2,15;2,87) $P_2 \leq 0,05; P_4 \leq 0,046$	3,94(3,84;4,06) $P_3 \leq 0,032; P_5 \leq 0,02$
В-клетки (%)	22,71(13,65;28,66)	14,77(14,56;18,43) $P_1 \leq 0,05$	6,90(6,28;7,67) $P_2 \leq 0,032; P_4 \leq 0,02$	6,38(3,63;9,14) $P_3 \leq 0,05; P_5 \leq 0,02$
В-клетки (кл/мкл)	1745(1111;3587)	2147(1316,50;2237) $P_1 \leq 0,062$	501(290;680,25) $P_2 \leq 0,032; P_4 \leq 0,02$	191,50(173,50;200,50) $P_3 \leq 0,046; P_5 \leq 0,02$
НК-клетки (%)	5,42(4,06;12,28)	4,97(2,43;7,23) $P_1 \leq 0,062$	7,64(6,68;10,15) $P_2 \leq 0,05; P_4 \leq 0,05$	6,90(4,79;9,18) $P_3 \leq 0,05; P_5 \leq 0,05$
НК-клетки (кл/мкл)	678(312;1000)	723(402,50;742) $P_1 \leq 0,062$	558(436,25;651,25) $P_2 \leq 0,05; P_5 \leq 0,05$	214,50(201;225,25) $P_3 \leq 0,032; P_5 \leq 0,032$



Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгрупп трехчасовой и шестичасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгрупп шестичасовой и восьмичасовой ишемии,  $P_4$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями шестичасовой ишемии,  $P_5$  - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии.

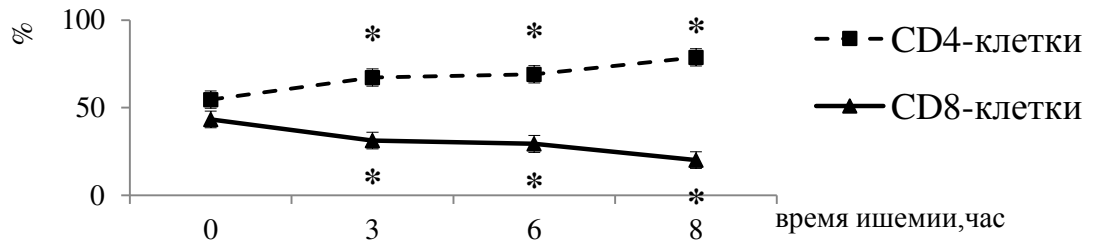


График 1- Динамика относительного числа лимфоцитов при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$  (%)

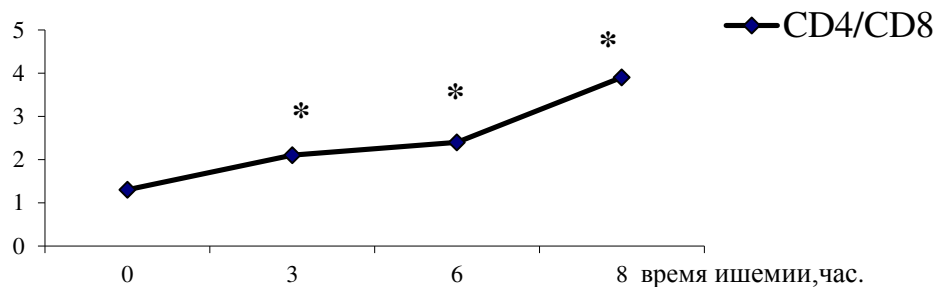


График 2 - Динамика CD4/CD8 при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$  (%)

### 3.1.3 Динамика содержания провоспалительных интерлейкинов (IL-6, IL-8) в плазме крови при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии

При исследовании плазмы крови у крыс на содержание интерлейкина-6 (IL-6) исходно его концентрация составляет 0,3(0,17;0,395) пг/мл. На третий час ишемии концентрация IL-6 увеличивается в 10,1 раз: с 0,3(0,17;0,395) пг/мл до 3,43 пг/мл ( $P \leq 0,01$ ), (Таблица 4). При прогрессировании ишемии, на шестой час окклюзии концентрация его возрастает уже в 17 раз ( $P \leq 0,01$ ) относительно исходных показателей. На восьмой час концентрация цитокина увеличивается в 16,6 раз относительно исходных показателей.

В эксперименте исходная концентрация интерлейкина-8 (IL-8) в плазме крови крыс составляет 0,12 (0,06;1,044) пг/мл. Третий час ишемии (подгруппа 2.1) характеризуется достоверным ( $P \leq 0,05$ ) повышением концентрации цитокина до 0,492 (0,246;1,968) пг/мл. В подгруппе 2.2 (подгруппа шестичасовой ишемии) концентрация IL-8 возрастает относительно исходных показателей вдвое ( $P \leq 0,05$ ), а в подгруппе 2.3 (восьмой час ишемии) его концентрация возрастает в 12,3

раз ( $P \leq 0,046$ ). Динамика IL-6, IL-8 при моделировании острой мезентериальной ишемии отражена в таблице 4 и на графике 3.

Таблица 4 - Динамика уровня IL-6, IL-8 плазмы крыс при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии (Me; 25-й;75-й)

Показатель	Исходные показатели n=30	Подгруппа 2.1 n=10	Подгруппа 2.2 n=10	Подгруппа 2.3 n=10
IL-6 пг/мл	0,34(0,17; 0,39)	3,43(2,89; 4,45) $P_1 \leq 0,01$	5,90(4,84; 6,22) $P_2 \leq 0,036; P_5 \leq 0,01$	5,63(5,08; 6,01) $P_3 \leq 0,062; P_6 \leq 0,01$
IL-8 пг/мл	0,12(0,06; 1,04)	0,49(0,25; 1,97) $P_1 \leq 0,05$	0,25(0; 0,98) $P_2 \leq 0,062; P_4 \leq 0,05$	1,48(0,37; 2,58) $P_3 \leq 0,046; P_5 \leq 0,046$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой и подгруппы шестичасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой и подгруппы восьмичасовой ишемии,  $P_4$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями шестичасовой подгруппы,  $P_5$  - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии.

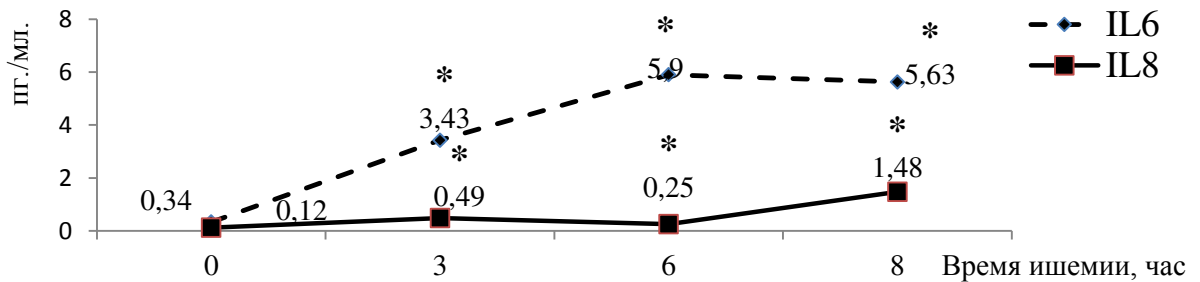


График 3 - Динамика концентрации IL-6, IL-8 плазмы крови при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$  (пг/мл)

### 3.1.4 Динамика содержания противовоспалительных интерлейкинов (IL-10) в плазме крови при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии

Изучение концентрации цитокина при моделировании острой мезентериальной ишемии показало следующие результаты (Таблица 5, график 4). До перевязки брыжеечной артерии уровень интерлейкина-10 (IL-10)

составляет 12 (6;15) пг/мл. На третий час ишемии (подгруппа 2.1) концентрация цитокина достоверно увеличивается в 1,7 раза ( $P \leq 0,05$ ). Прогрессирование ишемии характеризуется сдержанным ростом концентрации IL-10. Так в подгруппе 2.2 концентрация цитокина достигает 19 (13,5;21,25) пг/мл ( $P \leq 0,05$ ), а в подгруппе 2.3 увеличивается в 2,5 раза относительно исходных показателей ( $P \leq 0,046$ ).

Таблица 5 - Динамика уровня IL-10 плазмы крыс при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии (Ме; 25-й;75-й)

Показатель	Исходные n=30	Подгруппа 2.1 n=10	Подгруппа 2.2 n=10	Подгруппа 2.3 n=10
IL-10 пг/мл	12(6; 15)	20(16; 25) $P_1 \leq 0,05$	19(13,50; 21,25) $P_2 \leq 0,062$ $P_4 \leq 0,046$	30(22,5;70,5) $P_3 \leq 0,032$ $P_5 \leq 0,02$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой и подгруппы шестичасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой и подгруппы восьмичасовой ишемии,  $P_4$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями шестичасовой подгруппы,  $P_5$  - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии.

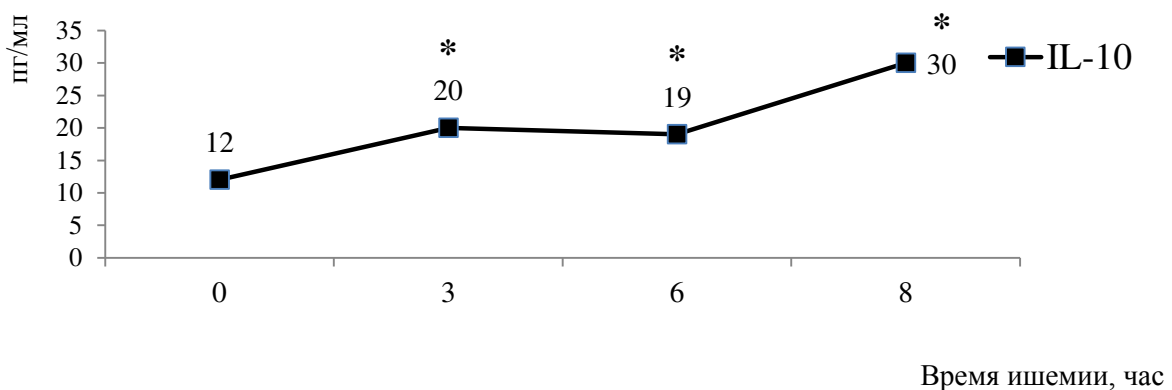


График 4 - Динамика концентрации IL-10 плазмы крови при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$ (пг/мл)

### 3.1.5 Динамика содержания растворимого FasL при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии

Изучение содержания растворимого FasL в плазме крови экспериментальных животных при моделировании острой мезентериальной ишемии показал отсутствие динамики (Таблица 6). Исходно его содержание составило 0,34 пг/мл и в дальнейшем, при течении острой мезентериальной ишемии до 8 часа, концентрация его не меняется. В связи с последним, нами была изучена концентрация sFasL в лизате мононуклеаров (Таблица 6, график 5).

Исходно концентрация растворимого FasL в лизате клеток мононуклеаров составляет 1,02 (0,648;1,134) пг/мл. В группе 2.1 (подгруппа трехчасовой ишемии) концентрация его достоверно снижается до 0,74 (0,663;1,044) пг/мл, ( $P \leq 0,062$ ). В дальнейшем при прогрессировании ишемии концентрация маркера достоверно не меняется, и в подгруппе 2.2 (шестичасовой ишемии) составляет 0,87(0,81;0,93) пг/мл. В подгруппе 2.3 (восьмичасовой ишемии) концентрация маркера достоверно снижается на 28,4%, относительно исходных показателей.

Таблица 6 - Динамика уровня sFasL при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии (нг/мл.; Ме; 25-й;75-й)

Показатель	Исходные показатели n=30	Подгруппа 2.1 n=10	Подгруппа 2.2 n=10	Подгруппа 2.3 n=10
sFasL нг/мл в плазме крови	0,34 (0,34; 0,34)	0,34 (0,34; 0,34)	0,34 (0,34; 0,34)	0,34 (0,34; 0,34)
sFasL нг/мл в лизате мононуклеаров	1,02 (0,65; 1,13)	0,74 (0,66; 1,04) $P_1 \leq 0,062$	0,87 (0,81; 0,93) $P_2 \leq 0,062$ $P_4 \leq 0,062$	0,73 (0,69; 0,81) $P_3 \leq 0,05$ $P_5 \leq 0,05$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой и

подгруппы шестичасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой и подгруппы восьмичасовой ишемии,  $P_4$  - уровень значимости между исходными показателями и показателями шестичасовой ишемии,  $P_5$  - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии.

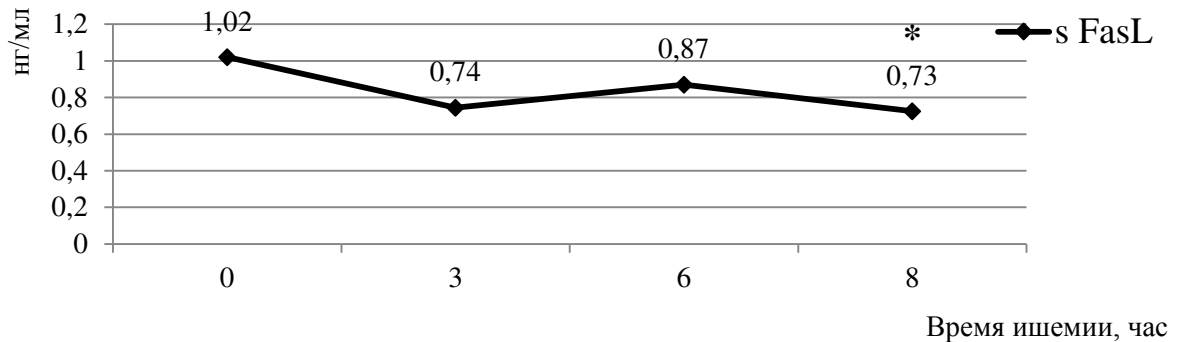


График 5 - Динамика концентрации FasL в лизате мононуклеаров при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии; \* $P \leq 0,05$  (нг/мл.)

### 3.1.6 Динамика содержания растворимого CD40 при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии

При изучении содержания sCD40 в плазме крови крыс нами выявлена следующая динамика (Таблица 7, график 6).

Исходно в плазме крови экспериментальных животных уровень растворимого CD40 составляет 210,48(123,48;514,1) пг/мл. Третий час ишемии характеризуется достоверным увеличением концентрации в 2,4 раза ( $P \leq 0,05$ ). На шестой час ишемии, напротив, отмечается достоверное снижение концентрации молекулы на 9,3% ( $P \leq 0,05$ ), последняя составляет 190,89 (64,58;357,8) пг/мл. Прогрессирование ишемии приводит к снижению концентрации sCD40, относительно исходных показателей. Так на восьмой час ишемии она уменьшается уже на 47,2% относительно исходных показателей ( $P \leq 0,05$ ).

Таблица №7 - Динамика уровня sCD40 при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии (пг/мл.; Me; 25-й;75-й)

Показатель	Исходные показатели n=30	Подгруппа 2.1 n=10	Подгруппа 2.2 n=10	Подгруппа 2.3 n=10
sCD40 пг/мл	210,48 (123,48; 514,1)	505,62 (297,75; 676,11) $P_1 \leq 0,05$	190,89 (64,58; 357,8) $P_2 \leq 0,05$ $P_4 \leq 0,05$	111,15 (68,33; 163,19) $P_3 \leq 0,05$ $P_5 \leq 0,05$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой и подгруппы шестичасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой и подгруппы восьмичасовой ишемии,  $P_4$ - - уровень значимости между исходными показателями и показателями шестичасовой подгруппы,  $P_5$  - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой группы.

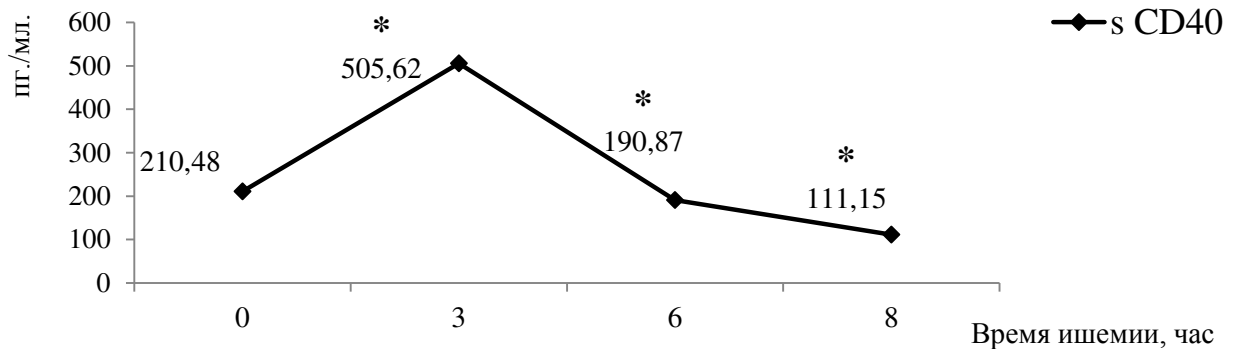


График 6 - Динамика концентрации s.CD40 плазмы крови при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии; \* $P \leq 0,05$  (пг/мл.)

### 3.1.7 Динамика содержания тканевого фактора при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии

Изучение содержания тканевого фактора в плазме крови при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии показало следующее (Таблица 8, график 7). На третий час ишемии концентрация фактора

достоверно не изменяется. Шестой час ишемии характеризуется достоверным уменьшением концентрации тканевого фактора в плазме крови на 25,3%, а к восьмому часу содержание TF уменьшается на 14,1% относительно исходных показателей. Что можно объяснить повышенным расходом фактора в условиях ишемического повреждения тканей кишечника.

Таблица 8 - Динамика уровня TF при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии (pM/л.; Me; 25-й;75-й)

Показатель	Исходные показатели n=30	Подгруппа 2.1 n=10	Подгруппа 2.2 n=10	Подгруппа 2.3 n=10
TF, pM/л	28,05 (26,41; 28,50)	26,05 (25,41; 30,87) $P_1 \leq 0,062$	20,96 (14,25; 28,34) $P_2 \leq 0,05$ $P_4 \leq 0,05$	24,09 (19,89; 28,66) $P_3 \leq 0,062$ $P_5 \leq 0,05$

Примечание:  $P_1$  - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой и подгруппы шестичасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой и подгруппы восьмичасовой ишемии,  $P_4$  - уровень значимости между исходными показателями и показателями шестичасовой подгруппы,  $P_5$  - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии.

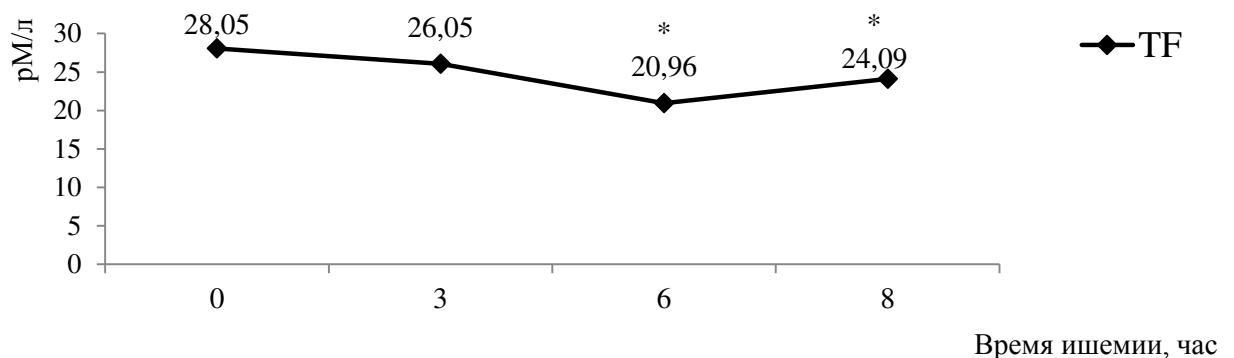


График 7 - Динамика концентрации TF плазмы крови при моделировании необратимой мезентериальной ишемии; \* $P \leq 0,05$  (pM/л)



## 3.2 Изменения некоторых показателей иммунитета и тканевого фактора при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии

### 3.2.1 Изменение основных популяций иммунных клеток при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии

Анализ динамики основных популяций клеток при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии показал следующую закономерность (Таблица 9).

При этом полученные показатели сравнивались с таковыми в подгруппе ишемии, то есть показатели подгруппы трехчасовой ишемии с показателями подгруппы реперфузии после трехчасовой ишемии (2.1 с 3.1), показатели подгруппы шестичасовой ишемии с показателями подгруппы реперфузии после шестичасовой ишемии (3.2 с 2.2), а показатели подгруппы восьмичасовой ишемии с показателями подгруппы реперфузии после восьмичасовой ишемии (3.3 с 2.3).

К 24 часу восстановления мезентериального кровообращения после трехчасовой ишемии отмечается снижение относительного числа лимфоцитов на 24,8% (график 8) при стабилизации их абсолютного числа относительно показателей подгруппы 2.1 (трехчасовой ишемии). При этом отмечается стабилизация показателя относительного и абсолютного количества CD4-клеток на уровне показателей подгруппы трехчасовой ишемии (график 8). Одновременно с этим наблюдается снижение абсолютного числа CD8-клеток, при отсутствии достоверных изменений их относительного числа. Все это приводит к стабилизации соотношения CD4/CD8 в первые сутки восстановления кровообращения после трехчасовой ишемии. В ответ на реперфузию относительное число В-клеток снижается на 47,4%, а их абсолютное число на 80% относительно исходных показателей. В этой подгруппе также наблюдается разнонаправленная динамика числа NK –клеток, так относительное число их не изменяется, тогда как абсолютное уменьшается на 45 % относительно показателей подгруппы трехчасовой ишемии.

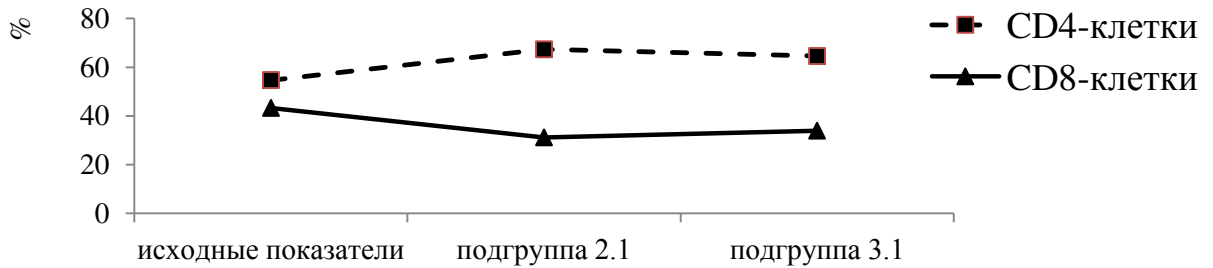


График 8 - Динамика относительного числа лимфоцитов при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии (реперфузия после трехчасовой ишемии; \* $P \leq 0,05$ (%))

Реперфузия после шестичасовой ишемии характеризуется снижением относительного числа лимфоцитов на 17,5% и стабилизацией абсолютного числа лимфоцитов на показателях шестичасовой ишемии. Относительное и абсолютное число CD3-клеток уменьшается на 15,2 и 55,9% соответственно. В этот временной промежуток наблюдается стабилизация относительного числа CD4-клеток, при уменьшении их абсолютного числа на 27,6% относительно показателей шестичасовой ишемии. Та же тенденция наблюдается в динамике CD8-клеток, относительное их число достоверно не изменяется, тогда как их абсолютное число уменьшается на 31,5%. Восстановление кровотока после шестого часа ишемии приводит к увеличению относительного числа В-клеток на 66% при сохранении абсолютного числа на уровне подгруппы шестичасовой ишемии. Относительное число НК –клеток уменьшается на 19,4%, абсолютное – на 58,9% относительно показателей шестичасовой ишемии (график 9,10).

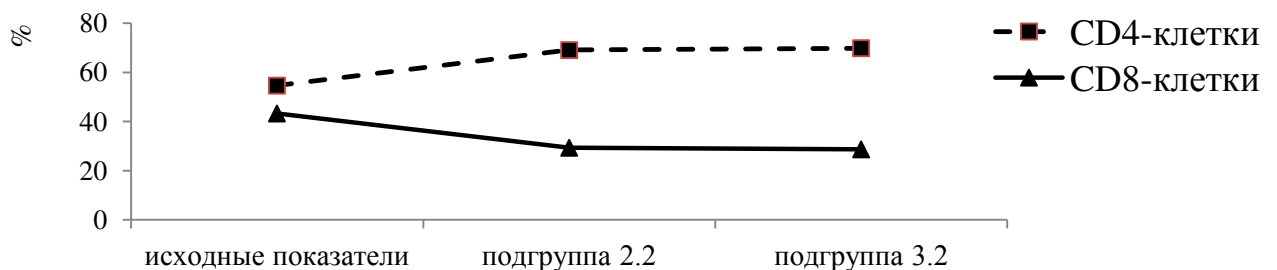


График 9 - Динамика относительного числа лимфоцитов при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \* $P \leq 0,05$ (реперфузия после шестичасовой ишемии; %)

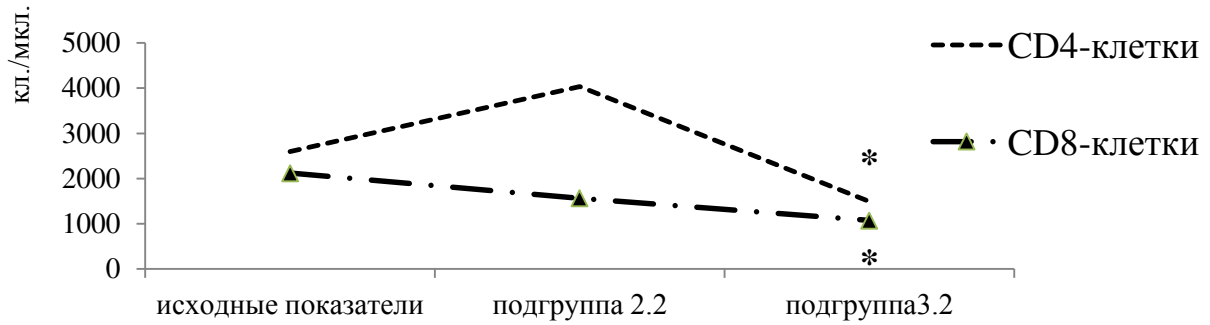


График10 - Динамика абсолютного числа лимфоцитов при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \* $P \leq 0,05$  (реперфузия после шестичасовой ишемии; кл/мкл)

По нашему мнению, весьма интересны результаты, полученные на третий час реперфузии после восьмичасовой ишемии (таб. 9). Учитывая тот факт, что 100% животных погибают в первые четыре часа реперфузии после восьмичасовой ишемии, нами было принято решение проводить забор крови, биопсию кишечника и вывод животного из эксперимента в этой группе через три часа после восстановления кровотока.

Реперфузия на восьмой час ишемии приводит к снижению абсолютного числа всех изучаемых нами клеток, изменению в структуре субпопуляций лимфоцитов, что сопровождается резким увеличением соотношения CD4/CD8.

Так относительное число лимфоцитов снижается на 45,6% относительно подгруппы восьмичасовой ишемии. Абсолютное число лимфоцитов уменьшается на 60,5%. Абсолютное число CD4 -клеток уменьшается на 47,2%, тогда как относительное их число увеличилось на 8%. Относительное число CD8-клеток уменьшается на 31,9%, тогда как абсолютное - на 61,7%. Относительное число В-клеток увеличивается на 32,1%, а абсолютное достоверно не меняется. Относительное число NK-клеток уменьшается на 56,1%, абсолютное количество - на 46,4% относительно показателей подгруппы восьмичасовой ишемии. Следует отметить, что в этот временной промежуток соотношение CD4/CD8 увеличивается на 59,1% (график 11,12).

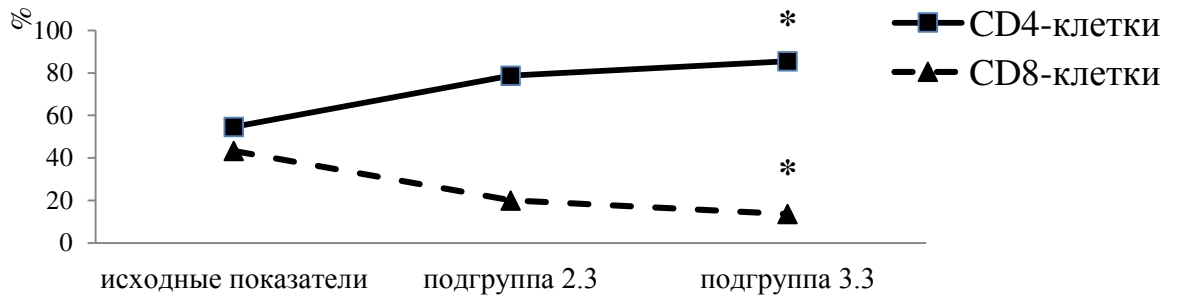


График 11 - Динамика относительного числа лимфоцитов при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \* $P \leq 0,05$  (реперфузия после восьмичасовой ишемии; %)

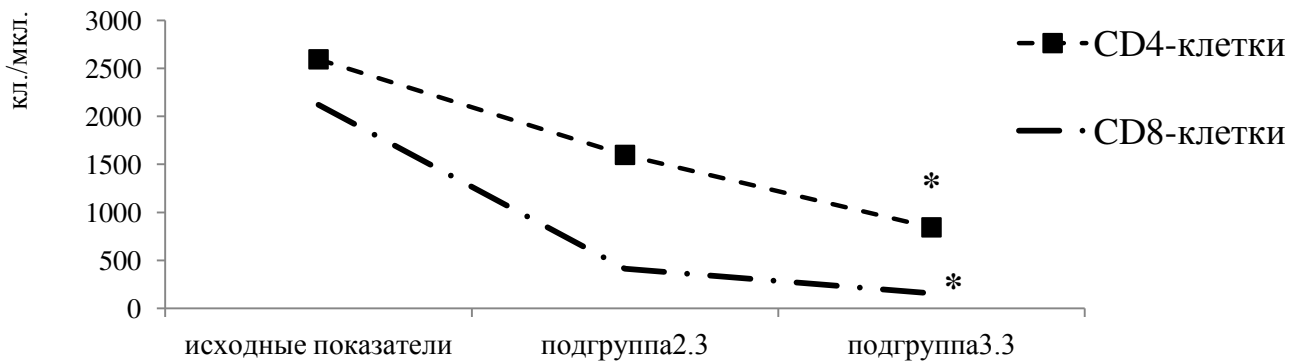


График 12 - Динамика абсолютного числа лимфоцитов при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \* $P \leq 0,05$  (реперфузия после восьмичасовой ишемии; кл./мкл.)

Таблица 9 - Изменение основных популяций иммунных клеток при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии (Ме; 25-й;75-й)

Показатели	Исходные показатели (до перевязки) n=30	3-х часовая ишемия (подгруппа 2.1) n=10	Реперфузия на 3 час ишемии (подгруппа 3.1) n=10	6-ти часовая ишемия (подгруппа 2.2) n=10	Реперфузия на 6 час ишемии (подгруппа 3.2) n=10	8-ми часовая ишемия (подгруппа 2.3) n=10	Реперфузия на 8 час ишемии (подгруппа 3.3) n=10
лимфоциты %	63,95 (46,93;65,41)	46,12 (36,52;51,37) $P_1 \leq 0,032$	34,70 (32,32;37,09) $P_2 \leq 0,05$	36,67 (27,64;45) $P_3 \leq 0,032$	30,27 (25,54;36,41) $P_4 \leq 0,05$	29,87 (25,57;32,84) $P_5 \leq 0,02$	16,24 (14,73;33,53) $P_6 \leq 0,05$
Лимфоциты (кл/мкл)	8998 (6569;11374)	5340 (4694;8360) $P_1 \leq 0,046$	5948 (4989;8520) $P_2 \leq 0,062$	4542 (3790,3;6718,5) $P_3 \leq 0,032$	4300 (3500;6203) $P_4 \leq 0,062$	3113,5 (2288,5;4051,3) $P_5 \leq 0,02$	1229 (624,33;1827) $P_6 \leq 0,02$

CD3-клетки (%)	51,80 (50,99;54,69)	52,84 (48,76;57,37) $P_1 \leq 0,062$	66,46 (66,16;66,77) $P_2 \leq 0,036$	64,40 (57,82;69,51) $P_3 \leq 0,032$	54,58 (43,43;65,81) $P_4 \leq 0,05$	53,85 (37,59;69,68) $P_5 \leq 0,02$	49,43 (44,85;65,16) $P_6 \leq 0,062$
CD3-клетки (кЛ/мкЛ)	4636 (3357;5610)	6546 (3998;7755,5) $P_1 \leq 0,05$	3591 (3301,5;3880,5) $P_2 \leq 0,032$	5207 (2198,2;8032) $P_3 \leq 0,05$	2298,50 (1159,75;3593) $P_4 \leq 0,046$	2001 (953,50;3274) $P_5 \leq 0,02$	604 (309,97;790) $P_6 \leq 0,032$
CD4-клетки (%)	54,69 (53,82;75,24)	67,33 (59,66;70,83) $P_1 \leq 0,05$	64,56 (64,13;64,99) $P_2 \leq 0,062$	69,15 (60,04;80,65) $P_3 \leq 0,05$	69,87 (64,42;74,83) $P_4 \leq 0,062$	78,75 (78,03;79,48) $P_5 \leq 0,032$	85,51 (84,43;85,86) $P_6 \leq 0,032$
CD4-клетки (кЛ/мкЛ)	2594 (2068;2748)	3916 (2493;4992,50) $P_1 \leq 0,05$	3214 (2600;4748) $P_2 \leq 0,062$	4037 (1742,5;6158,8) $P_3 \leq 0,046$	2921 (1481;4982) $P_4 \leq 0,046$	1598,50 (746,25;2593) $P_5 \leq 0,032$	844 (695;6667) $P_6 \leq 0,05$
CD8-клетки (%)	43,27 (23,45;44,02)	31,25 (27,77;38,77) $P_1 \leq 0,05$	33,99 (33,58;34,41) $P_2 \leq 0,062$	29,31 (26,57;31,75) $P_3 \leq 0,046$	28,69 (23,49;34,16) $P_4 \leq 0,062$	20,02 (19,60;20,34) $P_5 \leq 0,032$	13,64 (13,10;14,64) $P_6 \leq 0,032$

CD8-клетки (кЛ/мкЛ)	2122 (645;2174)	2816 (1583;3150,50) $P_1 \leq 0,05$	2003 (981;2305) $P_2 \leq 0,046$	1565,50 (554,25;2598,50) $P_3 \leq 0,05$	1072 (483;2211) $P_4 \leq 0,05$	412,50 (180,50;680,75) $P_5 \leq 0,020$	158 (122,50;989) $P_6 \leq 0,05$
CD4/CD8	1,26 (1,22;3,21)	2,16 (1,64;2,61) $P_1 \leq 0,05$	1,90 (1,87;1,94) $P_2 \leq 0,062$	2,37 (2,15;2,87) $P_3 \leq 0,046$	2,54 (1,89;3,19) $P_4 \leq 0,062$	3,94 (3,84;4,06) $P_5 \leq 0,020$	6,27 (5,80;6,57) $P_6 \leq 0,01$
В-клетки (%)	22,71 (13,65;28,66)	14,77 (14,5;18,43) $P_1 \leq 0,05$	7,77 (7,44;8,11) $P_2 \leq 0,01$	6,9 (6,28;7,67) $P_3 \leq 0,02$	11,46 (10,79;11,83) $P_4 \leq 0,01$	6,38 (3,63;9,14) $P_5 \leq 0,02$	8,43 (8,17;9,2) $P_6 \leq 0,032$
В-клетки (кЛ/мкЛ)	1745 (1111;3587)	2147 (1316,50;2237) $P_1 \leq 0,062$	411,50 (410,25;412,75) $P_2 \leq 0,01$	501 (290;680,25) $P_3 \leq 0,02$	509,50 (346,75;652,50) $P_4 \leq 0,062$	191,50 (173,50;200,50) $P_5 \leq 0,02$	182 (137;1138,5) $P_6 \leq 0,062$
NK-клетки (%)	5,42 (4,06;12,28)	4,97 (2,43;7,23) $P_1 \leq 0,062$	6,75 (6,26;7,25) $P_2 \leq 0,032$	7,64 (6,68;10,15) $P_3 \leq 0,05$	6,16 (4,10;8,53) $P_4 \leq 0,05$	6,90 (4,79;9,18) $P_5 \leq 0,05$	3,03 (1,99;4,02) $P_6 \leq 0,02$

НК-клетки (кЛ/мкл)	678	723	365,50	558	229,50	214,50	115
	(312;1000)	(402,50;742)	(322,25;408,75)	(436,25;651,25)	(217,50;258,75)	(201;225,25)	(74;158,50)
		$P_1 \leq 0,062$	$P_2 \leq 0,032$	$P_3 \leq 0,05$	$P_4 \leq 0,02$	$P_5 \leq 0,032$	$P_6 \leq 0,02$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой и подгруппы реперфузии после трехчасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и исходными показателями,  $P_4$ - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и подгруппы реперфузии после шестичасовой ишемии;  $P_5$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы восьмичасовой ишемии,  $P_6$  - уровень значимости между показателями подгруппы восьмичасовой ишемии и подгруппы реперфузии после восьмичасовой ишемии.



### 3.2.2 Динамика содержания провоспалительных интерлейкинов (IL-6, IL-8) в плазме крови при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии

При изучении динамики цитокинов в крови экспериментальных животных на модели острой обратимой мезентериальной ишемии показатели сравнивались с аналогичными в подгруппе необратимой ишемии, то есть показатели подгруппы трехчасовой ишемии с показателями подгруппы реперфузии после трехчасовой ишемии (2.1 с 3.1), показатели подгруппы шестичасовой ишемии с показателями подгруппы реперфузии после шестичасовой ишемии (3.2 с 2.2), а показатели подгруппы восьмичасовой ишемии с показателями подгруппы реперфузии после восьмичасовой ишемии (3.3 с 2.3).

При исследовании плазмы крови у крыс на содержание IL-6 на третий час ишемии концентрация IL-6 составляет 3,43 пг/мл ( $P \leq 0,01$ ), (Таблица 10). Восстановление брыжеечного кровообращения после трехчасовой ишемии вызывает увеличение концентрации цитокина на 52,8% относительно показателей подгруппы трехчасовой ишемии. Концентрация IL-8 после реперфузии на третий час ишемии увеличивается на 247% относительно показателей в аналогичной подгруппе ишемии (график 13). Реперфузия после шестичасовой ишемии вызывает рост содержания IL-6 в крови животных на 44,6%, а IL-8 – на 632 % относительно показателей подгруппы шестичасовой ишемии (график 14).

Восстановление мезентериального кровообращения после восьмичасовой ишемии характеризуется увеличением концентрации IL-6 на 67% и снижением концентрации IL-8 на 33,8% относительно показателей подгруппы восьмичасовой ишемии. Динамика содержания IL-6, IL-8 в плазме крови при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии отражена в таблице 10 и на графике 15.

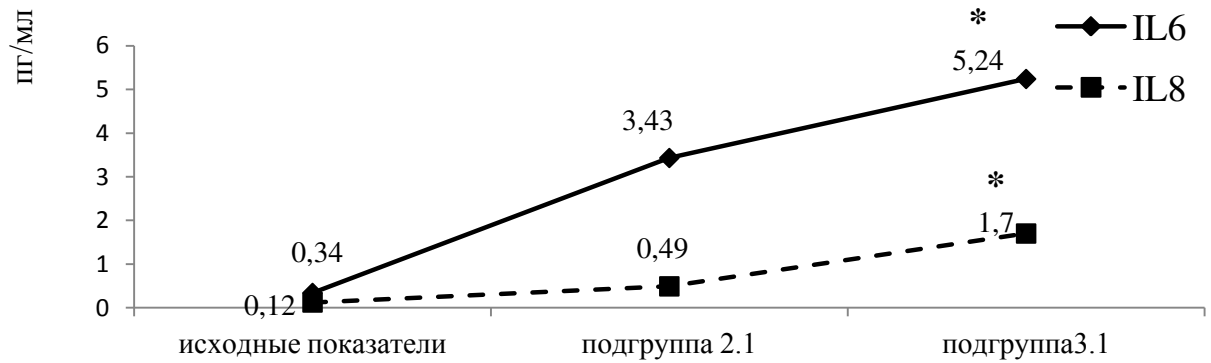


График 13 - Динамика провоспалительных цитокинов при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$  (реперфузия после трехчасовой ишемии; пг/мл.)

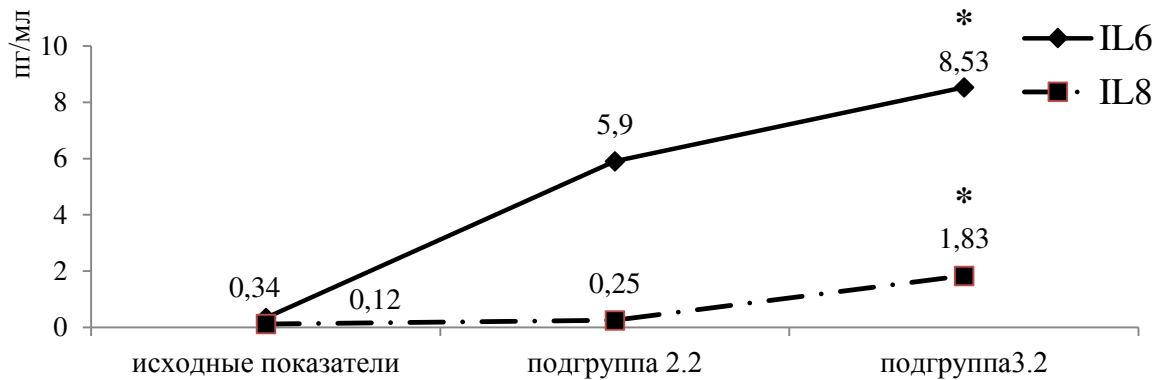


График 14 - Динамика провоспалительных цитокинов при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$  (реперфузия после шестичасовой ишемии; пг/мл)

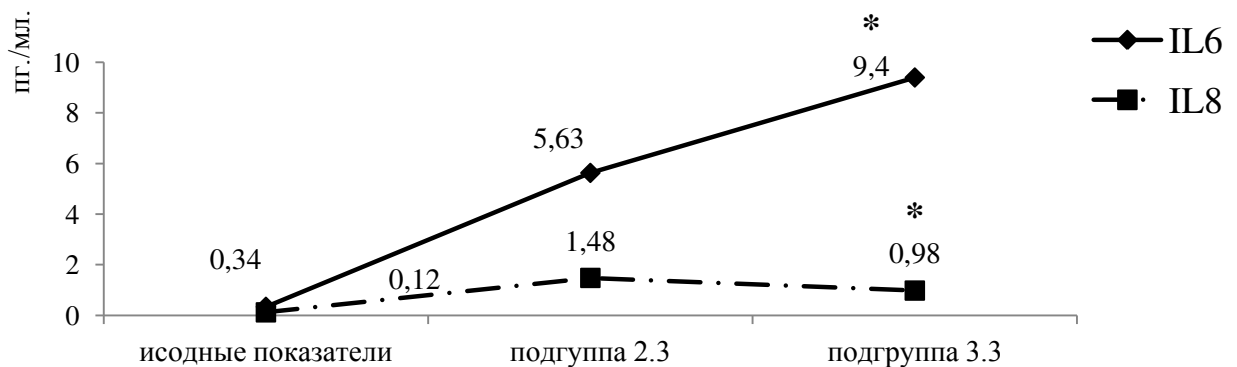


График 15 - Динамика провоспалительных цитокинов при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$  (реперфузия после восьмичасовой ишемии; пг/мл)

Таблица 10 - Динамика уровня IL-6, IL-8 плазмы крыс при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии  
(Me; 25-й;75-й)

Показатель	Исходные показатели n=30	Подгруппа 2.1 n=10	Подгруппа 3.1 n=10	Подгруппа 2.2 n=10	Подгруппа 3.2 n=10	Подгруппа 2.3 n=10	Подгруппа 3.3 n=10
IL-6, пг/мл	0,34 (0,17;0,39)	3,43 (2,89;4,45) $P_1 \leq 0,01$	5,24 (4,8;5,62) $P_2 \leq 0,036$	5,90 (4,84;6,22) $P_3 \leq 0,01$	8,53 (7,22;9,62) $P_4 \leq 0,036$	5,63 (5,08;6,01) $P_5 \leq 0,01$	9,4 (8,22;14,85) $P_6 \leq 0,02$
IL-8, пг/мл	0,12 (0,06;1,04)	0,49 (0,25;1,97) $P_1 \leq 0,05$	1,7 (1,12;2,05) $P_2 \leq 0,046$	0,25 (0;0,98) $P_3 \leq 0,062$	1,83 (1,25;2,12) $P_4 \leq 0,036$	1,48 (0,37;2,58) $P_5 \leq 0,046$	0,98 (0,49;1,48) $P_6 \leq 0,05$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой ишемии и подгруппы реперфузии после трехчасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и исходными показателями,  $P_4$ - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и реперфузии после шестичасовой ишемии;  $P_5$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии,  $P_6$  - уровень значимости между показателями восьмичасовой ишемии и подгруппы реперфузии после восьмичасовой ишемии.

### 3.2.3 Динамика содержания противовоспалительных интерлейкинов (IL-10) в плазме крови при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии

Изучение концентрации IL-10 при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии показал следующие результаты (Таблица 11). До перевязки брыжеечной артерии уровень IL-10 составил 12 (6;15) пг/мл. Восстановление мезентериального кровообращения после трехчасовой ишемии вызывает резкое увеличение концентрации цитокина, последняя увеличивается в 5,5 раз относительно показателей трехчасовой ишемии (график 16). Напротив, восстановление мезентериального кровотока после шестичасовой ишемии не вызывает изменений концентрации IL-10, а после восьмичасовой ишемии – снижение на 95,7% относительно показателей подгруппы восьмичасовой ишемии (график 17, 18).

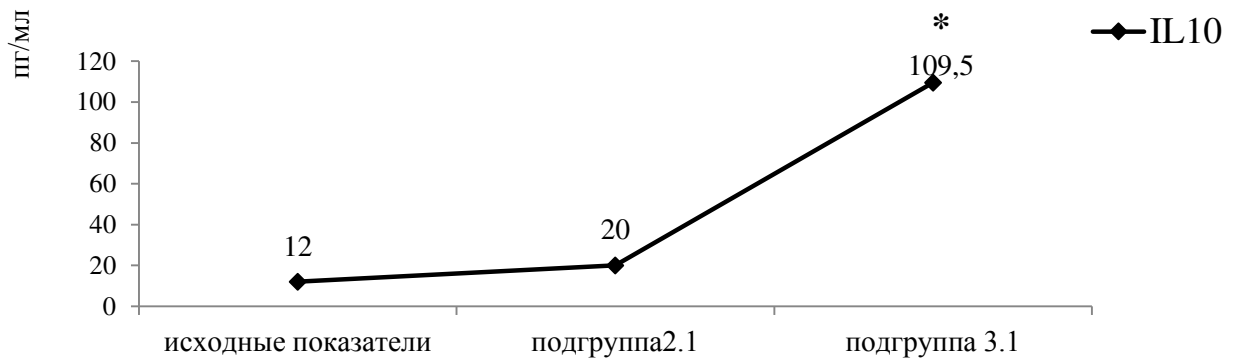


График 16 - Динамика IL-10 при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \* $P \leq 0,05$  (реперфузия после трехчасовой ишемии; пг/мл).

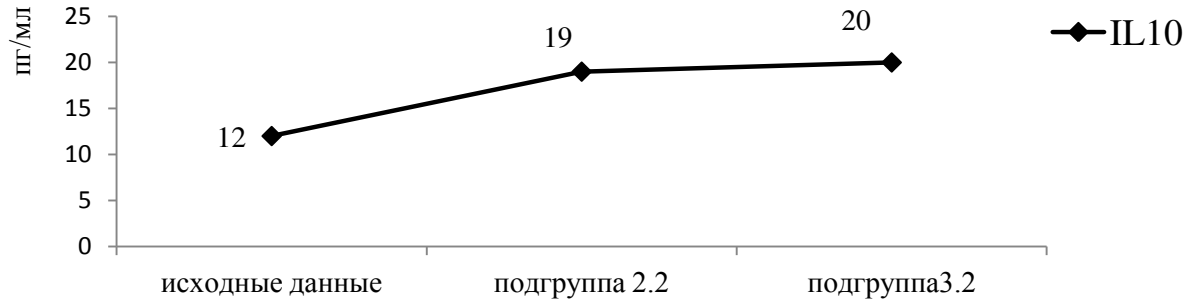


График 17 - Динамика IL-10 при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \* $P \leq 0,05$  (реперфузия после шестичасовой ишемии; пг/мл)

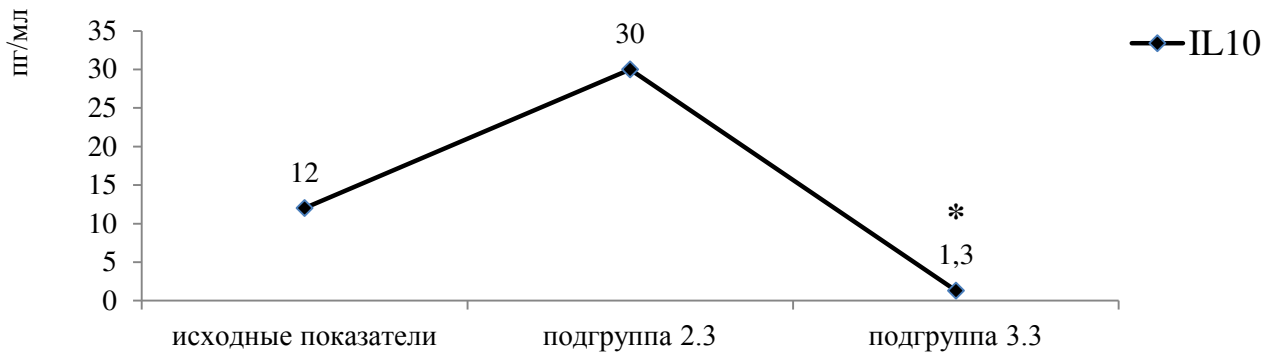


График 18 - Динамика IL-10 при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \* $P \leq 0,05$  (реперфузия после восьмичасовой ишемии; пг/мл)

Таблица 11 - Динамика уровня IL-10 плазмы крыс при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии  
(Me; 25-й;75-й)

Показатель	Исходные n=30	Подгруппа 2.1 n=10	Подгруппа 3.1 n=10	Подгруппа 2.2 n=10	Подгруппа 3.2 n=10	Подгруппа 2.3 n=10	Подгруппа 3.3 n=10
IL-10 пг/мл	12 (6; 15)	20 (16; 25) $P_1 \leq 0,05$	109,5 (54,75; 164,25) $P_2 \leq 0,01$	19 (13,5; 21,25) $P_3 \leq 0,046$	20 (12; 39) $P_4 \leq 0,062$	30 (22,50; 70,50) $P_5 \leq 0,02$	1,3 (0,5; 2,2) $P_6 \leq 0,01$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой ишемии и подгруппы реперфузии после трехчасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и исходными показателями,  $P_4$ - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и реперфузии после шестичасовой ишемии;  $P_5$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии,  $P_6$  - уровень значимости между показателями восьмичасовой ишемии и подгруппы реперфузии после восьмичасовой ишемии.

### 3.2.4 Динамика содержания растворимого FasL при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии

Изучение содержания sFasL в плазме крови экспериментальных животных при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии показал отсутствие динамики. В связи с последним, нами была изучена концентрация sFasL в лизате мононуклеаров (Таблица 12).

Исходно концентрация растворимого FasL в лизате клеток мононуклеаров составляет 1,02 (0,648;1,134) нг/мл. На третий час ишемии концентрация его недостоверно снижается до 0,74 (0,663;1,044) нг/мл., ( $P \leq 0,062$ ). Реперфузия на этом сроке не приводит к достоверному изменению содержания этого цитокина. Реперфузия после шестичасовой ишемии вызывает увеличение содержания sFasL в лизате мононуклеаров на 29,9%, а на восьмой час ишемии - динамика не наблюдается.

Таблица 12 - Динамика уровня sFasL при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии (Ме; 25-й;75-й)

Показатель	Исходные показатели n=30	Подгруппа 2.1 n=10	Подгруппа 3.1 n=10	Подгруппа 2.2 n=10	Подгруппа 3.1 n=10	Подгруппа 2.3 n=10	Подгруппа 3.3 n=10
sFasL в плазме крови (нг/мл)	0,34 (0,34; 0,34)	0,34 (0,34; 0,34)	0,34 (0,34; 0,34)	0,34 (0,34; 0,34)	0,34 (0,34; 0,34)	0,34 (0,34; 0,34)	0,34 (0,34; 0,34)
sFasL в лизате мононуклеаров (нг/мл)	1,02 (0,65; 1,13)	0,74 (0,66; 1,04) $P_1 \leq 0,062$	0,91 (0,84; 0,93) $P_2 \leq 0,062$	0,87 (0,81; 0,93) $P_3 \leq 0,062$	1,13 (1,05; 1,5) $P_4 \leq 0,046$	0,73 (0,69; 0,81) $P_5 \leq 0,05$	0,84 (0,74; 0,87) $P_6 \leq 0,062$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой ишемии и подгруппы реперфузии после трехчасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и исходными показателями,  $P_4$ - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и реперфузии после шестичасовой ишемии;  $P_5$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии,  $P_6$  - уровень значимости между показателями восьмичасовой ишемии и подгруппы реперфузии после восьмичасовой ишемии.



### 3.2.5 Динамика содержания растворимого CD40 при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии

Исходно в плазме крови экспериментальных животных уровень sCD40 составляет 210,48(123,48;514,1) пг/мл. Третий час ишемии характеризуется достоверным увеличением концентрации в 2,4 раза относительно исходных показателей ( $P \leq 0,05$ ). Реперфузия на этом сроке не приводит к существенному изменению концентрации маркера в плазме крови, последняя увеличивается на 4,8% (график 19). Реперфузия после шестичасовой ишемии вызывает увеличение содержания растворимого CD40 на 47,6%, а после восьмичасовой ишемии – на 20,5 % относительно показателей подгруппы шестичасовой и восьмичасовой ишемии соответственно (график 20,21). Динамика показателя отражена в таблице 13.

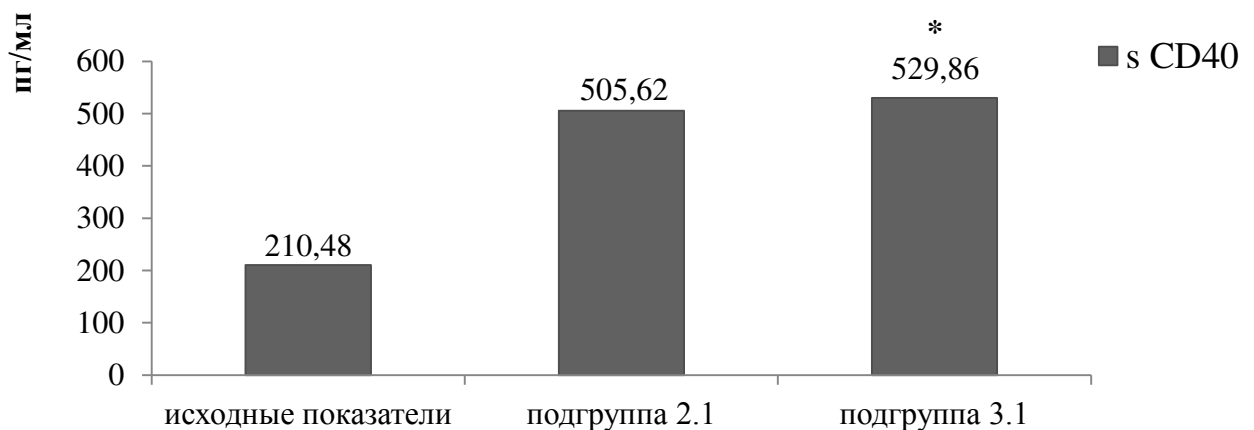


График 19 - Динамика s CD40 при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$  (реперфузия после трехчасовой ишемии; пг/мл)

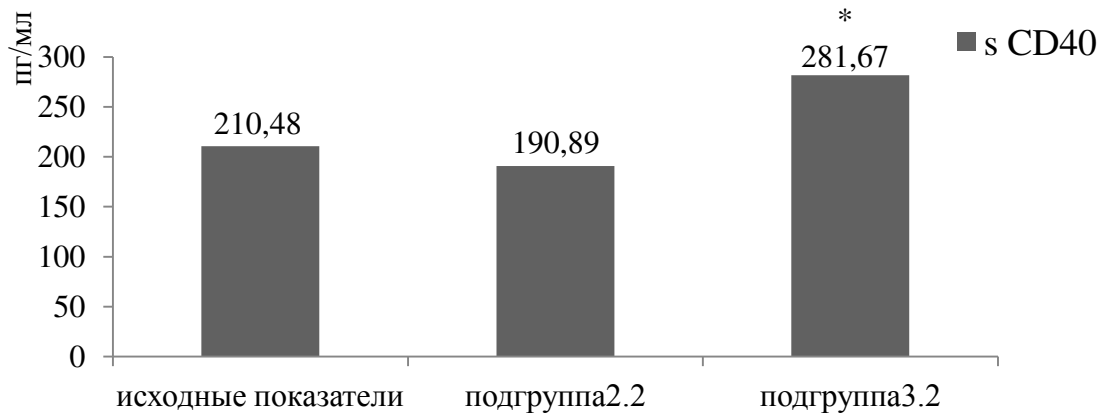


График 20 - Динамика s CD40 при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$  (реперфузия после шестичасовой ишемии; пг/мл)

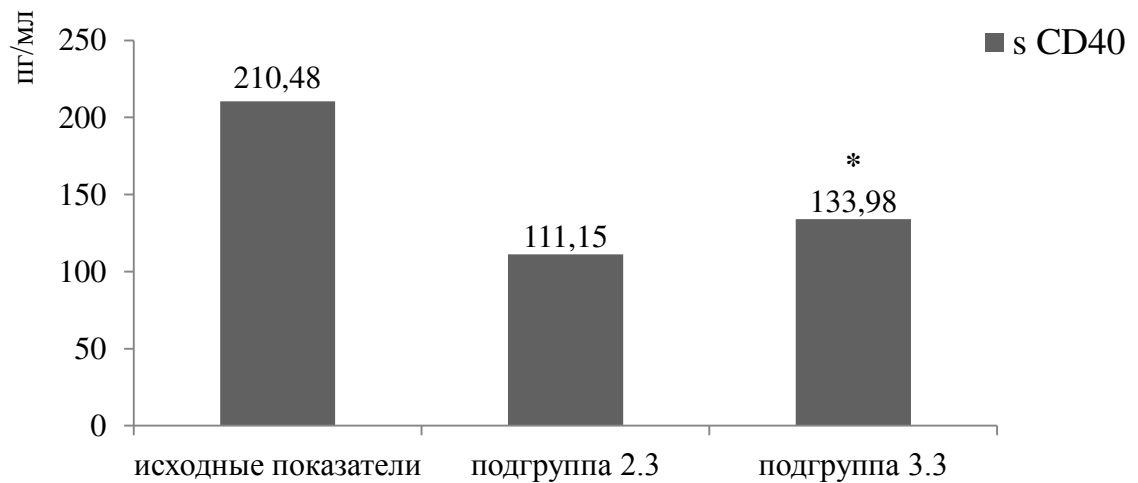


График 21- Динамика s CD40 при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$  (реперфузия после восьмичасовой ишемии; пг/мл)

Таблица 13 - Динамика уровня sCD40 плазмы крови крыс при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии (Ме; 25-й;75-й)

Показатель	Исходные показатели n=30	Подгруппа 2.1 n=10	Подгруппа 3.1 n=10	Подгруппа 2.2 n=10	Подгруппа 3.2 n=10	Подгруппа 2.3 n=10	Подгруппа 3.3 n=10
sCD40 пг/мл	210,48 (123,48;514,10)	505,62 (297,75; 676,11) $P_1 \leq 0,05$	529,86 (508,08; 551,64) $P_1 \leq 0,05$	190,89 (64,58; 357,80) $P_1 \leq 0,05$	281,67 (61,77;537,12) $P_1 \leq 0,05$	111,15 (68,33; 163,19) $P_6 \leq 0,05$	133,98 (110,04;169,41) $P_7 \leq 0,05$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой и подгруппы реперфузии после трехчасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой и исходными показателями,  $P_4$ - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и реперфузии после шестичасовой ишемии;  $P_5$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии,  $P_6$  - уровень значимости между показателями восьмичасовой ишемии и подгруппы реперфузии после восьмичасовой ишемии.

### 3.2.6 Динамика содержания тканевого фактора при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии

Изучение содержания ТФ в плазме крови при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии показало следующее (Таблица 14). Реперфузия после трехчасовой ишемии не приводит к достоверным изменениям концентрации ТФ в плазме крови. Восстановление кровотока после шестичасовой ишемии характеризуется увеличением его концентрации на 93 % относительно показателей подгруппы шестичасовой ишемии. Тогда как восстановление кровотока после восьмичасовой ишемии - к снижению на 33,4% относительно показателей подгруппы восьмичасовой ишемии. Что, вероятно, связано с расходом последнего в условиях продолжающихся некротических изменений (график 22,23).

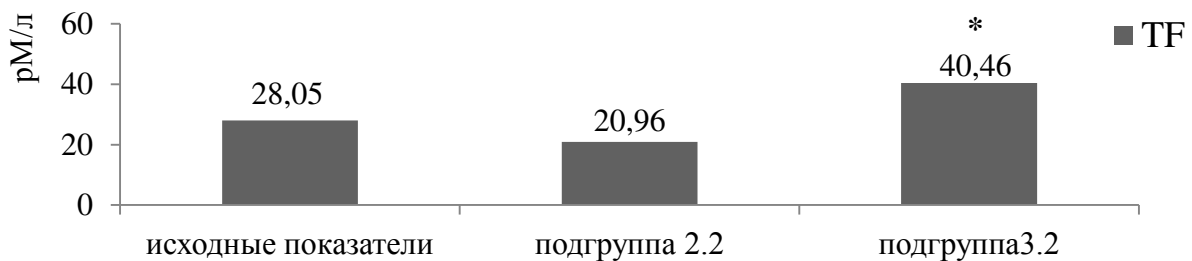


График 22 - Динамика концентрации ТФ в плазме при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$  (реперфузия после шестичасовой ишемии; рМ/л)

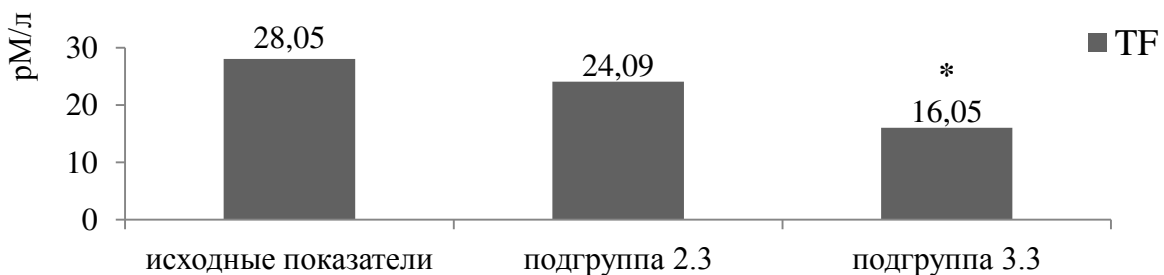


График № 23 - Динамика концентрации ТФ в плазме при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии; \*  $P \leq 0,05$  (реперфузия после восьмичасовой ишемии; рМ/л)

Таблица 14 - Динамика уровня ТФ плазмы крови крыс при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии (Ме; 25-й;75-й)

Показатель	Исходные показатели n=30	Подгруппа 2.1 n=10	Подгруппа 3.1 n=10	Подгруппа 2.2 n=10	Подгруппа 3.2 n=10	Подгруппа 2.3 n=10	Подгруппа 3.3 n=10
ТФ, рМ/л	28,05 (26,41; 28,50)	26,05 (25,41; 30,87) $P_1 \leq 0,062$	25,73 (22,64; 28,84) $P_2 \leq 0,062$	20,96 (14,25; 28,34) $P_3 \leq 0,05$	40,46 (35,09; 59,10) $P_4 \leq 0,032$	24,09 (19,89; 28,66) $P_5 \leq 0,05$	16,05 (13,09; 20,91) $P_6 \leq 0,046$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой и подгруппы реперфузии после трехчасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой и исходными показателями,  $P_4$ - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и реперфузии после шестичасовой ишемии;  $P_5$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии,  $P_6$  - уровень значимости между показателями восьмичасовой ишемии и подгруппы реперфузии после восьмичасовой ишемии.

## ГЛАВА 4. ДИНАМИКА МАКРО- И МИКРОСКОПИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ СТЕНКИ КИШЕЧНИКА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОСТРОЙ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

### 4.1. Динамика макро- и микроскопической картины стенки кишечника при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии

Через три часа после перевязки верхней брыжеечной артерии при клиническом осмотре париетальная и висцеральная брюшина остается гладкой и блестящей. Выпот отсутствует. Петли кишок имеют бледно-серый с цианотичным оттенком цвет. Петли более яркой окраски сменяются петлями гораздо более бледными, ишемичными. Наблюдается парез кишечника, запусевание краевых сосудов (Рисунок 4).

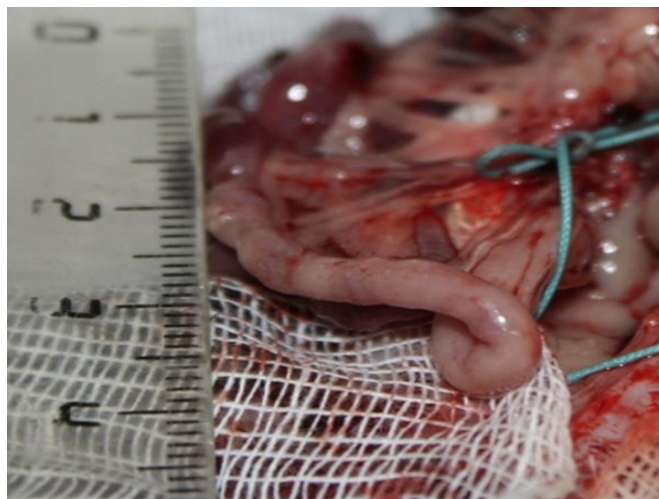


Рисунок 4 - Макроскопическая картина кишечника на третий час ишемии. Петли кишок бледно-серые, сероза блестящая, краевые сосуды пустые

Гистологически в эти сроки отмечалось сохранение рельефа слизистой оболочки тонкого кишечника, ворсинки были пальцевидной формы (длина

345,3±56,6 мкм, ширина 54,4±6,6 мкм), крипты узкие (табл. 15). Собственная пластинка слизистой оболочки и подслизистая основа утолщены и разрыхлены, за счет отека. Толщина кишечной стенки составляет 974,1±27,3 мкм. Кровенаполнение сосудов неравномерное: артерии находятся в спавшемся состоянии, вены и капилляры слабого и умеренного наполнения, имеются локальные диапедезные кровоизлияния. На апикальной поверхности энтероцитов определяется хорошо выраженная щеточная каемка, гликокаликс сохранен, что свидетельствует об ишемической стадии заболевания (Рисунок 5).

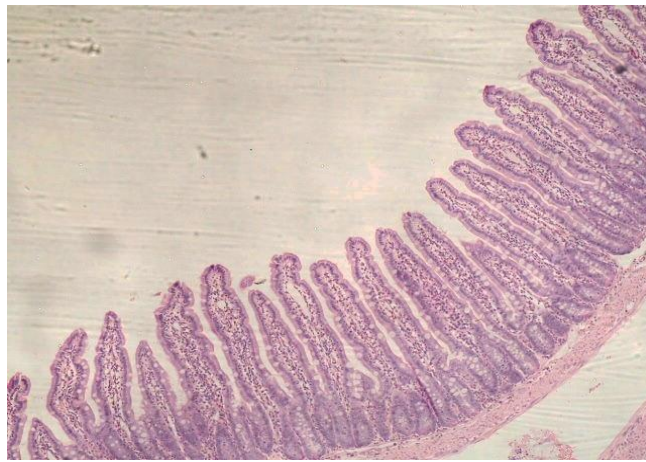


Рисунок 5 - Гистологическая картина стенки тонкой кишки на третий час ишемии. Ув. \*200. Окраска гематоксилин – эозин

К шестому часу ишемии нарастает парез кишечника, при визуальном осмотре ишемизированные петли кишок приобретают ярко багровый цвет, краевые сосуды пустые, пульсация на последних не определяется. Наряду с этим выпота в брюшной полости и перфорации кишок не наблюдается (Рисунок 6).



Рисунок 6 - Макроскопическая картина кишечника на шестой час ишемии.

Петли кишок багровые, сероза блестящая, краевые сосуды пустые

Через шесть часов после прекращения мезентериального кровотока на микропрепаратах обращает на себя внимание резкое расстройство кровообращения в виде отека, венозного полнокровия, распространенных диапедезных кровоизлияний, стазов и тромбов в венах. Особенно отек, и полнокровие выражены в подслизистой оболочке и в собственной пластинке слизистой оболочки. Толщина кишечной стенки на этот срок составляет  $1140 \pm 32,6$  мкм. Длина ворсинок составляет  $264,3 \pm 41,1$  мкм, ширина  $68,3 \pm 11,1$  мкм. (Таблица 15). В эпителии, выстилающем ворсинки, встречаются единичные дистрофически-измененные клетки, имеющие вид крупных вакуолей, контуры ядер в таких клетках не определяются. Щеточная каемка на апикальной поверхности энтероцитов частично сохранена, в большей части энтероцитов не определяется. В единичных полях зрения на вершукке ворсинок отмечается слущивание энтероцитов в просвет кишки, с обнажением соединительнотканной основы ворсинок (Рисунок 7).





Рисунок 7 - Гистологическая картина стенки тонкой кишки на шестой час ишемии. Ув. \*200. Окраска гематоксилин – эозин

На восьмой час ишемии нами выявлено начало течения некротической стадии острой мезентериальной ишемии. Клинически, нарастает парез кишечника, ишемизированные петли кишок приобретают темно-багровый цвет с темно-синими ишемическими пятнами, краевые сосуды пустые, пульсация на последних не определяется. Перфорации кишок не наблюдается, выпот серозный в умеренном количестве (Рисунок 8).

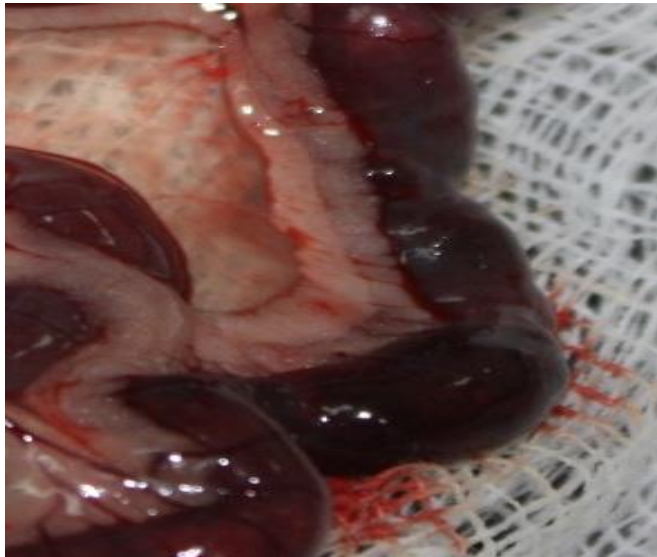


Рисунок 8 - Макроскопическая картина кишечника на восьмой час ишемии. Петли кишечника темно-багрового цвета, краевые сосуды пустые

Гистологически на этот срок отмечалось укорочение и утолщение кишечных ворсинок за счет выраженного отека. Длина ворсинок составила  $142,3 \pm 36,6$  мкм, ширина ворсинок -  $72,3 \pm 15,9$  мкм. Очаги кровоизлияний увеличиваются, отек распространяется на мышечную оболочку. Толщина кишечной стенки составила  $621,3 \pm 41,9$  мкм. (Таблица 15). Встречаются очаговые кровоизлияния в брыжейку кишечника. Практически все энтероциты изменены по типу баллонной дистрофии, что можно расценивать как фокальную форму колликвационного некроза. Наблюдается десквамация целых пластов эпителиальных клеток в области верхушек и на боковых поверхностях кишечных ворсин, что указывает на развитие некротической стадии заболевания. В слизистом и подслизистом слоях наблюдается лейкоцитарная инфильтрация преимущественно нейтрофилами и эозинофилами с плотностью клеток 10-12 на  $1000 \text{ мкм}^2$  (Рисунок 9).

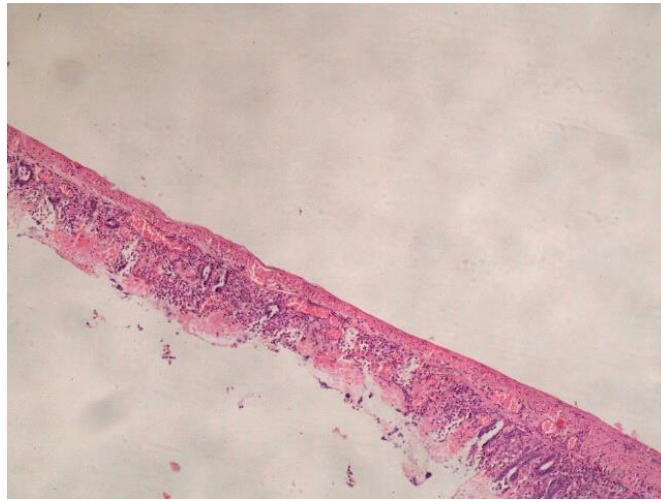


Рисунок 9 - Гистологическая картина стенки тонкой кишки на восьмой час ишемии. Ув. \*200. Окраска гематоксилин – эозин

Таблица 15 - Некоторые морфометрические показатели слизистой оболочки кишки у животных второй группы в зависимости от времени пережатия брыжеечной артерии ( $M \pm SD$ )

показатель	толщина кишечной стенки, мкм	длина ворсин, мкм	ширина ворсин, мкм	высота эпителиальной клетки, мкм	высота бокаловидной клетки, мкм	количество бокаловидных клеток на одну ворсину
исходные показатели, n=6	721,6±16,4	314,2±24,1	86,1±14,7	27,6±9,2	32,6±6,6	7,3±1,9
подгруппа 2.1 (трехчасовая ишемия), n=10	974,1±27,3 $P_1 \leq 0,05$	345,3±56,6 $P_1 \leq 0,05$	54,4±6,6 $P_1 \leq 0,05$	24,1±7,3 $P_1 \leq 0,062$	42,7±6,4 $P_1 \leq 0,05$	10,2±2,1 $P_1 \leq 0,05$
подгруппа 2.2 (шестичасовая ишемия), n=10	1140±32,6 $P_2 \leq 0,032; P_4 \leq 0,02$	264,3±41,1 $P_2 \leq 0,046; P_4 \leq 0,05$	68,3±11,1 $P_2 \leq 0,05; P_4 \leq 0,05$	16,1±6,6 $P_2 \leq 0,05; P_4 \leq 0,05$	39,2±8,1 $P_2 \leq 0,05; P_4 \leq 0,062$	7,1±2,2 $P_2 \leq 0,05; P_4 \leq 0,062$
подгруппа 2.3 (восьмичасовая ишемия), n=10	621,3±41,9 $P_3 \leq 0,032; P_5 \leq 0,046$	142,3±36,6 $P_3 \leq 0,032; P_5 \leq 0,02$	72,3±15,9 $P_3 \leq 0,05; P_5 \leq 0,05$	15,8±5,5 $P_3 \leq 0,062; P_5 \leq 0,05$	16,9±6,1 $P_3 \leq 0,02; P_5 \leq 0,032$	3,2±1,1 $P_3 \leq 0,032; P_5 \leq 0,032$

Примечание:  $P_1$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,  $P_2$  - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой и подгруппы шестичасовой ишемии,  $P_3$  - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой и подгруппы восьмичасовой ишемии,  $P_4$ - уровень значимости между исходными показателями и показателями шестичасовой ишемии,  $P_5$  - уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии.

#### 4.2. Динамика макро- и микроскопической картины стенки кишечника при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии

На двадцать четвертый час реперфузии после трехчасовой ишемии при клиническом осмотре париетальная и висцеральная брюшина остается гладкой и блестящей. Выпот отсутствует. Петли кишок имеют ярко-розовый цвет. Краевые сосуды полнокровные, пульсация на брыжеечных артериях хорошая. Перистальтика удовлетворительная, петли кишечника не раздуты (Рисунок 10).



Рисунок 10 - Макроскопическая картина кишечника на двадцать четвертый час реперфузии после трехчасовой ишемии. Петли кишок ярко-розовые, сероза блестящая, краевые сосуды полнокровные, петли кишечника не вздуты

На микропрепаратах наблюдается восстановление морфологии слизистой оболочки кишечника. Ворсинки приобретают обычную форму (длина составила  $291,6 \pm 38,1$  мкм, ширина  $61,8 \pm 12,5$  мкм), крипты нормальной конфигурации. Подслизистая оболочка незначительно утолщена за счет отека. Толщина кишечной стенки составляет  $1001,7 \pm 42,4$  мкм. (Таблица 16). Тонус сосудов практически соответствует норме. Регистрируются единичные диапедезные кровоизлияния. Обращает на себя внимание незначительная лейкоцитарная инфильтрация диффузного типа подслизистого и слизистого слоя кишки. Из микрососудов мигрируют в основном нейтрофилы, эозинофилы и мононуклеары. Плотность клеток составляет 7-9 на  $1000 \text{ мкм.}^2$  (Рисунок 11).

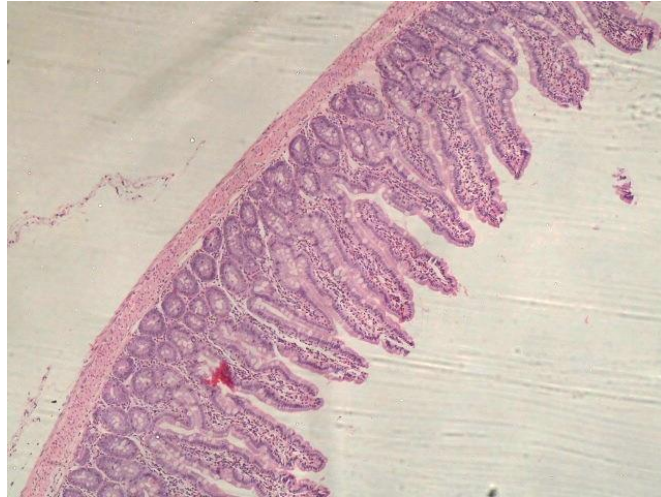


Рисунок 11 - Гистологическая картина стенки тонкой кишки на двадцать четвертый час реперфузии после трехчасовой ишемии. Ув.\*200. Окраска гематоксилин – эозин

К первым суткам реперфузии после шестичасовой ишемии при визуальном осмотре наблюдается легкий парез, петли кишок имеют светло-багровый цвет, единичные кровоизлияния в серозную оболочку, краевые сосуды полнокровные, пульсация на последних удовлетворительная. Наряду с этим выпота в брюшной полости и перфорации кишок не наблюдается (Рисунок 12).



Рисунок 12 - Макроскопическая картина кишечника на двадцать четвертый час реперфузии после шестичасовой ишемии. Петли кишок светло-багровые, сероза блестящая, краевые сосуды полнокровные, петли кишечника подвздуты

Гистологическая картина кишечника у животных на этот срок соответствует стадии ишемии. Наблюдаются отек, венозное полнокровие, диапедез эритроцитов и лейкоцитов, диффузная макрофагально - лимфоцитарная инфильтрация, имеются эозинофилы. Плотность инфильтрации – 8-10 клеток на 1000 мкм<sup>2</sup>. Высота ворсинок незначительно уменьшена. Встречаются единичные дистрофически измененные эндотелиоциты. Щеточная кайма сохранена на 50%. Наблюдается десквамация эпителия ворсинок. Некротические изменения отсутствуют. Толщина кишечной стенки на этот срок составляет 815,5±36,1 мкм. Длина ворсинок составляет 301,2±44,1 мкм, ширина 77,7±11,9 мкм. (Таблица 16, Рисунок 13).

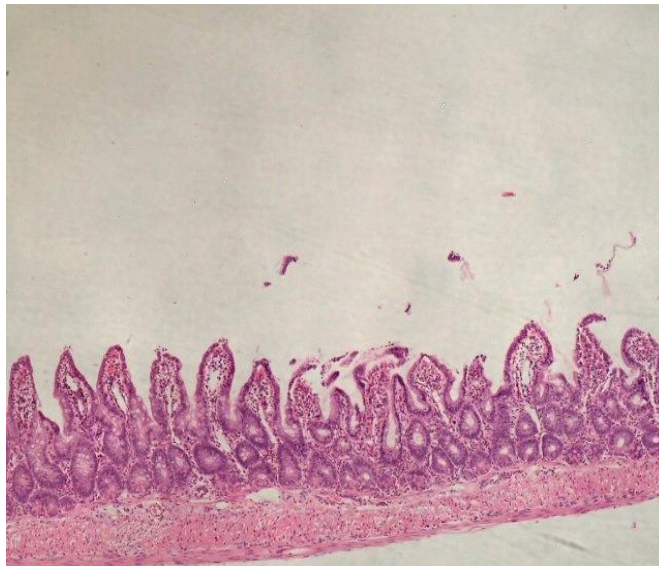


Рисунок 13 - Гистологическая картина стенки тонкой кишки на двадцать четвертый час реперфузии после шестичасовой ишемии. Ув. \*200.

Окраска гематоксилин – эозин

Как уже было указано выше, животные, которым выполнялась реперфузия после восьмичасовой ишемии, погибают в течение первых четырех часов послеоперационного периода, поэтому гистологический материал и вывод животного из эксперимента в этой подгруппе выполнялся на третий час реперфузии. Клинически к этому сроку, по сравнению с подгруппой восьмичасовой ишемии отмечается выраженный парез, петли кишок имеют темно-багровый цвет с темно-синими ишемическими пятнами, краевые сосуды

полнокровны, венозный застой, пульсация на мезентериальных артериях слабая. Перфорации кишок не наблюдается, выпот серозный в умеренном количестве (Рисунок 14).



Рисунок 14 - Макроскопическая картина кишечника на третий час реперфузии после восьмичасовой ишемии. Петли кишок багровые с синюшными ишемическими пятнами, сероза блестящая, краевые сосуды полнокровные, выраженный парез

Морфологическая картина стенки кишечника на этот срок соответствует стадии необратимого некроза и острого тотального воспаления. Кишечные ворсины значительно разрушены, укорочены и утолщены, сохраняется выраженный отек подслизистого слоя, который распространяется на мышечный слой. Длина ворсинок составила  $136,1 \pm 29,1$  мкм, ширина ворсинок -  $71,9 \pm 9,6$  мкм. Регистрируются обширные очаги кровоизлияний. Толщина кишечной стенки составила  $564,3 \pm 48,8$  мкм. Большинство энтероцитов находится в состоянии некроза и баллонной дистрофии. В области верхушек и на боковых поверхностях кишечных ворсин наблюдается массивная десквамация эндотелиальных пластов. Соединительнотканная основа ворсин обнажена. Слизистый и подслизистый

слои инфильтрированы нейтрофилами, лимфоцитами, макрофагами и эозинофилами с плотностью клеток 12-15 на 1000 мкм<sup>2</sup>. (Рисунок 15, Таблица 16). Наблюдается интенсивный фагоцитоз.

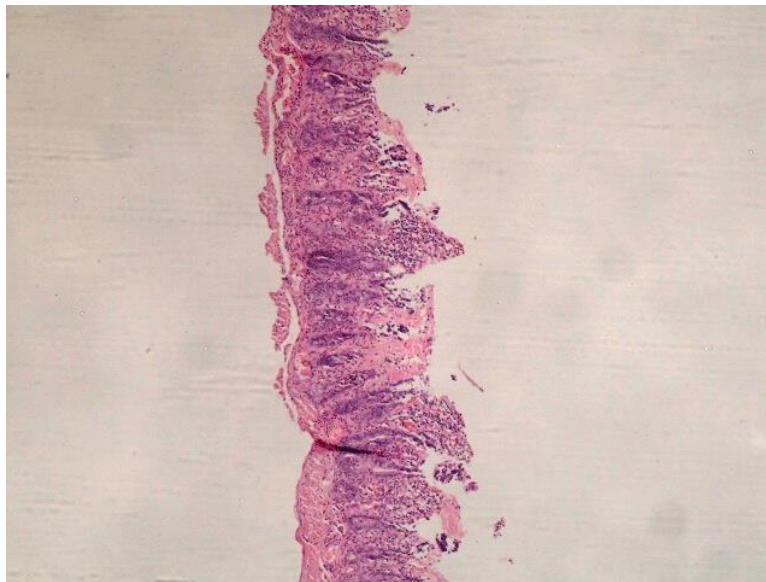


Рисунок 15 - Гистологическая картина стенки тонкой кишки на третий час реперфузии после восьмичасовой ишемии. Ув. \*200. Окраска гематоксилин – эозин



Таблица 16 - Некоторые морфометрические показатели слизистой оболочки кишки у животных при моделировании острой обратимой мезентериальной ишемии ( $M \pm SD$ )

признак подгруппы	толщина кишечной стенки, мкм	длина ворсин, мкм	ширина ворсин, мкм	высота эпителиальной клетки, мкм	высота бокаловидной клетки, мкм	количество бокаловидных клеток на одну ворсину
исходные показатели, n=6	721,6±16,4	314,2±24,1	86,1±14,7	27,6±9,2	32,6±6,6	7,3±1,9
подгруппа 2.1 (трехчасовая ишемия), n=10	974,1±27,3 P <sub>1</sub> ≤ 0,05	345,3±56,6 P <sub>1</sub> ≤ 0,05	54,4±6,6 P <sub>1</sub> ≤ 0,05	24,1±7,3 P <sub>1</sub> ≤ 0,062	42,7±6,4 P <sub>1</sub> ≤ 0,05	10,2±2,1 P <sub>1</sub> ≤ 0,05
подгруппа 3.1 (реперфузия после трехчасовой ишемии), n=10	1001,7±42,4 P <sub>2</sub> ≤ 0,05	291,6±38,1 P <sub>2</sub> ≤ 0,05	61,8±12,5 P <sub>2</sub> ≤ 0,05	21,6±8,2 P <sub>2</sub> ≤ 0,05	40,3±6,2 P <sub>2</sub> ≤ 0,062	8,8±3,1 P <sub>2</sub> ≤ 0,05
подгруппа 2.2 (шестичасовая ишемия), n=10	1140±32,6 P <sub>3</sub> ≤ 0,02	264,3±41,1 P <sub>3</sub> ≤ 0,05	68,3±11,1 P <sub>3</sub> ≤ 0,05	16,1±6,6 P <sub>3</sub> ≤ 0,05	39,2±8,1 P <sub>3</sub> ≤ 0,062	7,1±2,2 P <sub>3</sub> ≤ 0,062
подгруппа 3.2 (реперфузия после шестичасовой ишемии), n=10	815,5±36,1 P <sub>4</sub> ≤ 0,032	301,2±44,1 P <sub>4</sub> ≤ 0,05	77,7±11,9 P <sub>4</sub> ≤ 0,05	29,6±6,4 P <sub>4</sub> ≤ 0,046	38,3±5,6 P <sub>4</sub> ≤ 0,062	9,9±3,3 P <sub>4</sub> ≤ 0,05

подгруппа 2.3 (восьмичасовая ишемия), n=10	621,3±41,9 P <sub>5</sub> ≤ 0,046	142,3±36,6 P <sub>5</sub> ≤ 0,02	72,3±15,9 P <sub>5</sub> ≤ 0,05	15,8±5,5 P <sub>5</sub> ≤ 0,05	16,9±6,1 P <sub>5</sub> ≤ 0,032	3,2±1,1 P <sub>5</sub> ≤ 0,032
подгруппа 3.3 (реперфузия после восьмичасовой ишемии), n=10	564,3±48,8 P <sub>6</sub> ≤ 0,05	136,1±29,1 P <sub>6</sub> ≤ 0,062	71,9±9,6 P <sub>6</sub> ≤ 0,062	13,7±5,9 P <sub>6</sub> ≤ 0,05	14,2±5,1 P <sub>6</sub> ≤ 0,05	3,6±2,2 P <sub>6</sub> ≤ 0,062

Примечание: P<sub>1</sub>- уровень значимости между исходными показателями и показателями подгруппы трехчасовой ишемии,

P<sub>2</sub> - уровень значимости между показателями подгруппы трехчасовой ишемии и подгруппы реперфузии после трехчасовой ишемии, P<sub>3</sub> - уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и исходными показателями, P<sub>4</sub>- уровень значимости между показателями подгруппы шестичасовой ишемии и реперфузии после шестичасовой ишемии; P<sub>5</sub>- уровень значимости между исходными показателями и показателями восьмичасовой ишемии, P<sub>6</sub> - уровень значимости между показателями восьмичасовой ишемии и подгруппы реперфузии после восьмичасовой ишемии.

## ГЛАВА 5. КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИМЕРЫ

Основываясь на полученных в результате эксперимента данных, нами был изучен клеточный иммунитет пациентов находившихся на лечении в НУЗ ДКБ ст. Чита 2 «ОАО РЖД» с диагнозом острая мезентериальная ишемия. При этом оценивалась полная клинико-лабораторная картина с учетом иммунограммы.

### КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР №1

Пациент К. 62 лет (история болезни № 2838) поступил в экстренном порядке в отделение общей хирургии НУЗ ДКБ ст. Чита 2 «ОАО РЖД» 01.04.2015 через 23 ч. от момента начала заболевания. В связи с тяжестью состояния, последствиями ОНМК анамнез собрать не удалось. Со слов сопровождающего заболел около 23 ч назад, что проявилось двигательным беспокойством, потливостью.

Объективно состояние при поступлении тяжелое, контакт малопродуктивен, в сознании. Кожные покровы чистые. ЧСС 76, АД 110/70 мм.рт.ст. Живот не вздут, мягкий, болезненный во всех отделах, симптомы раздражения брюшины сомнительные. В общем анализе крови обращал на себя внимание лейкоцитоз  $16,1 \cdot 10^9/\text{л}$ , снижение относительного количества лимфоцитов до 9,3% (норма 20-40%), при нормальном их абсолютном содержании  $1,5 \cdot 10^9/\text{л}$  (норма 0,8-4), палочкоядерный сдвиг влево до 13, вручную подсчитанные лимфоциты 3. В общем анализе мочи - протеинурия 0,248 г/л. В биохимическом анализе амилаза 188 U/L, D-димер 950. Увеличение тромбинового времени до 20,7, снижение АЧТВ 23,6"(норма 24-38"), ПТВ 15,8 "(норма 17-21").

В иммунограмме обращало на себя внимание снижение относительного числа лимфоцитов до 6,599%, тогда как нормальные величины находятся в коридоре 28-36% (Таблица 17). Абсолютное число лимфоцитов снизилось до 560 кл./мкл, более чем вдвое от нормальных величин (1363- 2808 кл/мкл). Также наблюдалось увеличение относительного числа CD3-клеток до 76,173%, при снижении их абсолютного числа до 420 кл/мкл. Следует отметить сохранение относительного числа CD8-клеток клеток и нормальной величины соотношения CD4/CD8, при снижении абсолютного числа как CD4-клеток до 271 кл/мкл, так и CD8-клеток до 109 кл./мкл.

Таблица 17 - Субпопуляция лимфоцитов у пациента К

Показатели	Относительное количество лимфоцитов, %	Абсолютное количество лимфоцитов, кл/мкл	Относительное количество лимфоцитов, %	Абсолютное количество лимфоцитов, кл/мкл
	Нормальные показатели		Показатели пациента	
Лимфоциты	28 -36	1363-2808	6.599	560
CD3-клетки	61-85	946-2079	76.173	420
CD4-клетки	35-55	576-1336	49.113	271
CD8-клетки	19-35	372-974	19.742	109
CD4/CD8	1.5-2.6		2.448	
В-клетки	7-17	111-376	10.065	57
NK-клетки	8-17	123-369	3.821	22
Т-NK-клетки (CD3+, CD16+, CD56+)	0.5-6	7-165	0.085	0

С диагнозом тромбоз мезентериальных сосудов пациент госпитализирован в отделение реанимации с целью предоперационной подготовки.

01.04.15 в экстренном порядке пациенту выполнена диагностическая лапароскопия, во время которой петли тонкой кишки на видимых участках

серого цвета, сероза тусклая, грязного цвета, пульсация, перистальтика не прослеживалась. Толстый кишечник вздут, сероза тусклая, грязно-серого цвета, левые отделы кишки синюшно-малинового цвета. Во всех отделах полости мутный серозный выпот с фибрином. Ситуация признана некурабельной, оперативное вмешательство завершено дренированием брюшной полости.

Диагноз после операции: субтотальный тромбоз тонкого, толстого кишечника. Разлитой серозно-фибринозный перитонит.

Пациент находился в отделении реанимации, где проводилась антибактериальная, симптоматическая терапия, назначены антикоагулянты (Гепарин 5000ЕД/час каждые 4 часа).

На фоне терапии у пациента отмечалась положительная клинико-лабораторная динамика. 07.04.2014 выполнено повторное иммунологическое исследование (Таблица 18).

В иммунограмме отмечается рост относительного и абсолютного числа лимфоцитов до 17,011% и 880 кл./мкл соответственно, практически к нормальным величинам возвращается и абсолютное число CD4-клеток (до 453 кл./мкл.), увеличилось абсолютное число CD8-клеток до 179 кл./мкл. Соотношение CD4/CD8 снизилось до 0,796%.

Учитывая клиническую картину, данные лабораторных методов исследования решено было выполнить диагностическую релапароскопию.

Во время релапароскопии выпота в брюшной полости не обнаружено, петли кишечника серо-розового цвета, сероза блестящая, перистальтика удовлетворительная.

08.04.2015 г в связи с стабилизацией состояния пациент переведен в хирургическое отделение.

При дальнейшем обследовании выявлены признаки ишемического колита.

Таблица 18 - Субпопуляция лимфоцитов у пациента К. на седьмые сутки госпитализации

Показатели	Относительное количество лимфоцитов, %	Абсолютное количество лимфоцитов, кл/мкл	Относительное количество лимфоцитов, %	Абсолютное количество лимфоцитов, кл/мкл
	Нормальные показатели		Показатели пациента	
Лимфоциты	28 -36	1363-2808	17.011	880
CD3-клетки	61-85	946-2079	79.854	679
CD4-клетки	35-55	576-1336	53.289	453
CD8-клетки	19-35	372-974	21.068	179
CD4/CD8	1.5-2.6		2.529	
В-клетки	7-17	111-376	6.414	55
NK-клетки	8-17	123-369	5.959	51
Т-NK-клетки CD3+, CD16+, CD56+)	0.5-6	7-165	0.407	3

### КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР №2

Пациент С. 62 лет (история болезни № 8234) поступила в экстренном порядке в отделение общей хирургии НУЗ ДКБ ст. Чита 2 «ОАО РЖД» 22.10.2014 через 5 суток от момента начала заболевания. В связи с тяжестью состояния собрать подробный анамнез не удалось. Со слов заболела около 5 суток назад, когда появилась интенсивная боль в животе, слабость, отсутствие аппетита.

Объективно состояние при поступлении тяжелое, контакт малопродуктивен, в сознании. Кожные покровы чистые. ЧСС 96, АД 130/80 мм.рт.ст. Живот не вздут, увеличен за счет ПЖК, мягкий, болезненный во всех отделах, симптомы

раздражения брюшины положительные. При УЗИ диффузные изменения поджелудочной железы, состояние после холецистэктомии. В общем анализе крови лейкоцитоз  $13,8 \cdot 10^9/\text{л}$ , снижение относительного количества лимфоцитов до 10% (норма 20-40%), палочкоядерный сдвиг влево до 15. В общем анализе мочи - протеинурия 0,099 г/л. В биохимическом анализе амилаза 65U/L. Увеличение тромбинового времени до 21, снижение АЧТВ 22,3"(норма 24-38"), ПТВ 16,5 "(норма 17-21").

В иммунограмме обращает на себя внимание снижение относительного числа лимфоцитов до 1,746%, тогда как нормальные величины находятся в коридоре 28-36% (Таблица 19). Абсолютное число лимфоцитов снизилось до 323 кл./мкл, более чем на 76% от нижней границы нормы (1363- 2808 кл./мкл.). Также наблюдалось снижение относительного числа CD3-клеток до 33,560 %, при снижении их абсолютного числа до 108 кл./мкл. Снижение относительного и абсолютного числа CD4-клеток до 25,267 % и 81 кл/мкл и снижение CD8-клеток до 6,402% и 21 кл/мкл. При этом обращает на себя внимание увеличение соотношения CD4/CD8 до 3,947 %. При этом значительно увеличивается относительное число В-клеток до 49, 772% и нормальное их абсолютное число 192 кл./мкл. NK-клетки снизились до 11,530% и 45 кл/мкл.

С диагнозом тромбоз мезентериальных сосудов пациентка госпитализирована в отделение реанимации с целью предоперационной подготовки.

17.10.2014 г через 5 часов от момента поступления в экстренном порядке выполнена диагностическая лапаротомия. В брюшной полости гнойный выпот с резким ихорозным запахом. Петли тонкой кишки в конгломерате, сероза тусклая, покрыта фибрином, практически на всем протяжении черные участки 5-6 см в диаметре, петли раздуты, перистальтика отсутствует, краевые сосуды пустые. Ситуация признана некурабельной, оперативное вмешательство завершено дренированием брюшной полости. Диагноз после операции: Острая

мезентериальная ишемия, субтотальная гангрена тонкой кишки, стадия перитонита. Разлитой гнойно-фибринозный перитонит.

Пациентка находилась в отделении реанимации, где проводилась антибактериальная, симптоматическая терапия.

Несмотря на интенсивную терапию, на фоне нарастающей полиорганной недостаточности на 6 сутки наступила смерть больной.

Таблица 19 - Субпопуляция лимфоцитов у пациента С

Показатели	Относительное количество лимфоцитов, %	Абсолютное количество лимфоцитов, кл/мкл	Относительное количество лимфоцитов, %	Абсолютное количество лимфоцитов, кл/мкл
	Нормальные показатели		Показатели пациента	
Лимфоциты	28 -36	1363-2808	1.746	323
CD3-клетки	61-85	946-2079	33.560	108
CD4-клетки	35-55	576-1336	25.267	81
CD8-клетки	19-35	372-974	6.402	21
CD4/CD8	1.5-2.6		3.947	
В-клетки	7-17	111-376	49.772	192
NK-клетки	8-17	123-369	11.530	45
Т-NK-клетки (CD3+, CD16+, CD56+)	0.5-6	7-165	0.145	0



### КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР №3

Пациент Г. 70 лет (история болезни № 8157) поступил в экстренном порядке в отделение общей хирургии НУЗ ДКБ ст. Чита 2 «ОАО РЖД» 15.10.2014 через 48 часов от момента начала заболевания. Со слов заболел около двух суток назад, когда появилась боль в животе, неотхождение газов, слабость, заметил невраивимость грыжевого выпячивания в левой паховой области.

Объективно состояние при поступлении тяжелое, в сознании. Кожные покровы бледные. ЧСС 76, АД 110/70 мм.рт.ст. Живот вздут, мягкий, болезненный во всех отделах, симптомы раздражения брюшины сомнительные. В общем анализе крови лейкоцитов  $7,9 \cdot 10^9/\text{л}$ , гемоглобин 143 г/л, палочкоядерных лейкоцитов 1, сегментоядерных-65, моноцитов -6, эозинофилов 3, лимфоцитов 19. В общем анализе мочи - протеинурия 0,066 г/л. В биохимическом анализе без особенностей, D-димер не определялся по техническим причинам.

В иммунограмме обращает на себя внимание снижение относительного числа лимфоцитов до 11,004%, при нормальном содержании абсолютного их числа 1363 кл./мкл. (Таблица 20). Также наблюдалось незначительное уменьшение абсолютного числа CD3-клеток до 881 кл./мкл, при нормальном их относительном количестве. Нормальное содержание CD4-клеток, незначительное снижение абсолютного числа CD8-клеток до 232 кл./мкл. Отношение CD4/CD8 при этом повышается до 2,737 %. С диагнозом: Острая мезентериальная ишемия? Ущемленная паховая грыжа слева пациент госпитализирован. 15.10.14 в экстренном порядке пациенту выполнена диагностическая лапаротомия, во время которой петли тонкой кишки практически на всем протяжении резко вздуты, темно-вишневого цвета, не перистальтируют, сероза тусклая. На 15 см от илеоцекального угла петля тонкого кишечника фиксирована в грыжевых воротах. Выполнена герниотомия, назогастроинтестинальная интубация, санация, дренирование брюшной полости.

Диагноз после операции: Ущемленная паховая грыжа слева. Острая странгуляционная кишечная непроходимость. Тромбоз мезентериальных сосудов. Разлитой серозно-фибринозный перитонит.

Пациент находился в отделении реанимации, где проводилась антибактериальная, симптоматическая терапия, назначены антикоагулянты. На фоне интенсивной терапии отмечалась положительная динамика, на 9 сутки пациент переведен в общее отделение, на 16 сутки выписан под амбулаторное наблюдение.

Таблица 20 - Субпопуляция лимфоцитов у пациента Г

Показатели	Относительное количество лимфоцитов, %	Абсолютное количество лимфоцитов, кл/мкл	Относительное количество лимфоцитов, %	Абсолютное количество лимфоцитов, кл/мкл
	Нормальные показатели		Показатели пациента	
Лимфоциты	28 -36	1363-2808	11.004	1363
CD3-клетки	61-85	946-2079	64.725	881
CD4-клетки	35-55	576-1336	46.637	635
CD8-клетки	19-35	372-974	17.038	232
CD4/CD8	1.5-2.6		2.737	
В-клетки	7-17	111-376	14.851	217
NK-клетки	8-17	123-369	13.412	196
Т-NK-клетки (CD3+, CD16+, CD56+)	0.5-6	7-165	0.067	1

## ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Актуальность проблемы острых сосудистых заболеваний органов пищеварения в хирургии определяется частотой возникновения и высокой летальностью при данной патологии.

Высокие показатели послеоперационных осложнений и летальности при острой мезентериальной ишемии обусловлены в основном поздними сроками выявления данного заболевания и частым прогрессированием некроза кишечника в послеоперационном периоде. Неудовлетворительные результаты диагностики данной патологии объясняются в основном отсутствием типичной клинической картины, невысокой чувствительностью ультразвукового и лапароскопического видов исследований, малодоступностью точных методов диагностики, отсутствием специфических лабораторных маркеров течения заболевания и развития некроза кишки [2,9,13,14,18,23,31,40,43,62,71,76,81,91,95,97].

Исследованиями, проведенными в последние годы, предпринимались попытки создания лечебно-диагностического алгоритма при острой мезентериальной ишемии, но, к сожалению, общероссийская летальность при данной патологии остается высокой, что отчасти можно объяснить малодоступностью инструментальных методов исследования, на которые и делают опору в современных алгоритмах [2,9,13,91,95].

Известно, что ЖКТ выполняет не только пищеварительную, но и иммунную функцию, в частности, участвует в реализации защитных реакций организма против патогенных, условно-патогенных микроорганизмов и многих неорганических веществ. Также известно, что лимфоидная ткань, связанная со слизистыми желудочно-кишечного тракта - самый большой по объему отдел

иммунной системы организма [53]. Лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистой оболочкой кишечника, формируется за счет CD3- и В-лимфоцитов, НК-клеток, тучных клеток и эозинофилов. Межэпителиальные лимфоциты в 98% представлены Т-клетками, из которых 75% составляют CD 3 (на CD 8 приходится 85-90% , на CD4 - 5-15%). Также следует отметить, что лимфоидная ткань ЖКТ является составляющей единой лимфоидной системы, ассоциированной со слизистыми оболочками [78]. Логично предположить, что окклюзия мезентериального русла, равно как и его реперфузия, приведут к изменениям в иммунном статусе, что отразится на субпопуляции лимфоцитов крови, со всеми вытекающими отсюда последствиями.

В последние годы ряд исследователей [41,42,68,69,70] подтверждают ключевую роль иммунной системы в развитии многих патологических процессов, в том числе и сосудистого генеза. Изучение иммунопатологических состояний, сопровождающих ишемические процессы, является важным направлением в разработке новых диагностических критериев ряда заболеваний желудочно-кишечного тракта, в том числе и острой мезентериальной ишемии.

Все вышперечисленное побудило нас изучить роль клеточного иммунитета в патогенезе острой мезентериальной ишемии с целью поиска лабораторного маркера течения острой мезентериальной ишемии и маркера развития некроза кишечника.

Полученная нами модель острой обратимой мезентериальной ишемии подтверждена морфологическими изменениями кишечника и соответствует аналогичным экспериментальным работам других авторов [73].

Первым этапом были проанализированы результаты влияния операционного стресса и общего обезболивания на субпопуляцию лимфоцитов венозной крови у животных в сравнении с исходными показателями. Нами подтверждено, что операционного стресс и общее обезболивание оказывают влияние на иммунологический статус животных. При этом, через три часа после пробной лапаротомии, наблюдается снижение относительного числа лимфоцитов

на 6,1% ( $P < 0,05$ ) тогда как абсолютное число их достоверно не меняется. Отмечается уменьшение соотношения CD4/CD8 за счет преимущественного снижения CD4 клеток, что соответствует данным литературы [42]. Через шесть часов после пробной лапаротомии общее число CD4 лимфоцитов остается на уровне трехчасовой подгруппы, однако происходит восстановление отношения CD4/CD8 клеток. Через восемь часов после пробной лапаротомии происходит восстановление относительного числа лимфоцитов с некоторым увеличением их абсолютного числа и увеличением CD4/CD8. Это может свидетельствовать о восстановлении иммунной реактивности организма животного к восьмому часу после лапаротомии.

Выявленная динамика может быть объяснена иммуносупрессивным влиянием операционного стресса и общего обезболивания, что соответствует данным литературы [74,79,120,146].

Исходя из вышеизложенного, можно констатировать, что разработанная нами модель может быть использована для изучения показателей иммунитета в условиях острой мезентериальной ишемии.

Далее мы исследовали влияние необратимой ишемии на динамику показателей субпопуляций лимфоцитов, IL-6, IL-8, IL-10, sCD40, sFasL, TF центральной венозной крови и морфологические изменения стенки кишечника в зависимости от времени ишемии.

Установлено, что до 80% всех иммунокомпетентных клеток локализовано в слизистой оболочке кишечника. При этом первым барьером на пути проникновения в организм антигенов являются внутриэпителиальные лимфоциты. Последние представлены, в основном, CD8-клетками [53]. При этом, несмотря на некоторую территориальную разобщенность между системным иммунитетом и лимфоидной тканью, ассоциированной со слизистыми, все основные группы системы благодаря уникальной способности лимфоцитов к миграции и рециркуляции функционируют как единое целое, а лимфоидная ткань и лимфоидные органы желудочно-кишечного тракта теснейшим образом

функционально связаны как с системным иммунитетом, так и с другими компонентами лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми [78].

Иммунокомпетентные клетки являются основными компонентами иммунной системы, которые принимают активное участие в воспалении и формировании иммунного ответа. Участие Т-лимфоцитов в иммунных реакциях обусловлено возможностью распознавания антигенов. CD3-лимфоциты регулируют и формируют эффекторный иммунный ответ [3,53].

Анализ полученных данных показал следующее: к третьему часу ишемии отмечается снижение общего числа лимфоцитов, при этом относительное их число уменьшается на 27,9% от исходной величины, тогда как абсолютное – на 40,7%. При этом наблюдается относительный рост CD4-клеток на 23,1% и увеличение их абсолютного числа на 51%. Одновременно с увеличением числа CD4-клеток, зафиксировано снижение относительного числа CD8 клеток на 27,8% от исходного. Что приводит к увеличению соотношения CD4/CD8 на 71,4% относительно исходных показателей. Увеличение относительного числа CD4-клеток может отмечаться при Т-хелпер2 (Th2) типе иммунного ответа. Из патологических состояний подобные нарушения наблюдаются при обострении аллергических и аутоиммунных заболеваний [3]. Гистологически в эти сроки отмечается сохранение рельефа слизистой оболочки тонкого кишечника, отек собственной пластинки, неравномерное кровенаполнение сосудов. При этом определяется хорошо выраженная щеточная каемка, гликокаликс сохранен, что свидетельствует об ишемической стадии заболевания.

На шестой час ишемии прогрессирует снижение как относительного, так и абсолютного числа лимфоцитов. Относительное число лимфоцитов снижается на 42,7%, а абсолютное – на 49,5% относительно исходных данных. В этот временной промежуток наблюдается стабилизация показателей CD4-клеток относительно подгруппы трехчасовой ишемии и прогрессирование снижения числа CD8-клеток. Так относительное число CD8-клеток в группе шестичасовой ишемии снижается на 6,2% относительно показателей подгруппы трехчасовой

ишемии и на 32,3% относительно исходных показателей. Абсолютное число CD8-клеток уменьшается на 25,8% относительно исходных показателей. CD4/CD8 при этом возрастает на 88,1% относительно исходных показателей. Также на шестой час ишемии уменьшается и число В-клеток. Относительное количество их уменьшается на 69,6%, а абсолютное – на 71,3% относительно исходных показателей.

Динамика NK-клеток характеризуется увеличением относительного числа клеток на 41,1%, наряду со снижением их абсолютного числа на 17,7% относительно исходных данных. Можно предположить, что увеличение относительного числа NK-клеток связано с массивным поступлением антигенов, когда, кроме антиген-специфических механизмов элиминации патогена, задействованы антиген-неспецифические [53,100]. На микропрепаратах обращает на себя внимание резкое расстройство кровообращения в виде отека, венозного полнокровия, распространенных диапедезных кровоизлияний, стазов и тромбов в венах. Особенно отек, и полнокровие выражены в подслизистой оболочке и в собственной пластинке слизистой оболочки. Наблюдается укорочение кишечных ворсин. В эпителии, выстилающей ворсинки, встречаются единичные дистрофически-измененные клетки, имеющие вид крупных вакуолей, контуры ядер в таких клетках не определяются. Щеточная каемка на апикальной поверхности энтероцитов частично сохранена, в большей части энтероцитов не определяется. В единичных полях зрения на верхушке ворсинок отмечается сплывание энтероцитов в просвет кишки, с обнажением соединительнотканной основы ворсинок.

Восьмой час ишемии характеризуется снижением абсолютного числа всех изучаемых нами популяций иммунных клеток. В этот временной промежуток наблюдаются «ножницы» в показателях относительного и абсолютного числа изучаемых нами популяций клеток. То есть абсолютное число клеток уменьшается стремительнее, чем относительное их число.

Относительное число лимфоцитов снижается на 53,3% от исходных и на 18,5% относительно показателей подгруппы 2.2 (шестичасовой ишемии). Абсолютное число лимфоцитов снижается на 65,4% относительно исходных показателей и на 31,5 % относительно подгруппы 2.2. Абсолютное число CD4-клеток уменьшается на 38,4%, тогда как относительное их число увеличивается на 44% относительно исходных показателей. Относительное число CD8-клеток уменьшается на 53,7%, тогда как абсолютное - на 80,6% от исходных величин. Относительное число В-клеток снижается на 71,9%, а их абсолютное число - на 89%. Относительное число NK-клеток увеличивается на 27,4%, вместе с этим их абсолютное количество снижается на 68,4% относительно исходных данных.

Следует отметить, что в этот временной промежуток соотношение CD4/CD8 увеличивается в 3,1 раза относительно исходного показателя. Гистологически на этот срок отмечается укорочение и утолщение кишечных ворсинок за счет выраженного отека. Очаги кровоизлияний увеличиваются, отек распространяется на мышечную оболочку. Отмечено уменьшение толщины кишечной стенки. Встречаются очаговые кровоизлияния в брыжейку кишечника. Практически все энтероциты изменены по типу баллонной дистрофии, что можно расценивать как фокальную форму колликвационного некроза. Наблюдается десквамация целых пластов эпителиальных клеток в области верхушек и на боковых поверхностях кишечных ворсин, что указывает на развитие некротической стадии заболевания. В слизистом и подслизистом слоях наблюдается лейкоцитарная инфильтрация преимущественно нейтрофилами и эозинофилами.

Ишемия приводит к снижению уровня энергетического обмена вследствие истощения запасов макроэргических фосфатов. В последующем наблюдаются нарушение ферментативной активности, активация анаэробного гликолиза. Изменение активности ферментов в условиях гипоксии ведет к дестабилизации клеточных мембран и мембран органелл, что проявляется нарушением их проницаемости, нарушением работы ионных насосов, внутриклеточным электролитным нарушениям [4,48,50]. Исследованием ряда авторов установлено,



что уже на 30 минуте тотальной ишемии происходит нарушение межэпителиальных контактов слизистой кишечника [47]. То есть полученные результаты можно объяснить дизрегуляцией иммунной системы за счет массивной транслокации кишечной микрофлоры через нарушенный кишечный барьер наряду с миграцией лимфоцитов в очаг поражения и их гибелью на фоне острой ишемии.

По аналогии с процессами, протекающими при развитии острого инфаркта миокарда, можно предположить, что само изменение интенсивности кровотока в ишемизированной ткани посредством участия механосенсоров уже может служить сигналом к началу синтеза провоспалительных цитокинов [70]. Затем гипоксия приводит к росту уровня кислородных радикалов в ткани, осмотическим нарушениям и повреждению мембран клеток. Все эти процессы связаны с запуском синтеза провоспалительных цитокинов клетками в зоне ишемии. Таким образом, синтезируемые при развитии асептического воспаления цитокины служат эндогенными медиаторами развития постишемических нарушений в тканях [68,69,70,77,83,84,93,99,106,107,110,112].

IL-6 синтезируется многими типами клеток, обеспечивающими запуск и регуляцию воспаления и иммунного ответа. IL-6 обладает крайне разносторонним биологическим действием: 1) активирует факторы транскрипции STAT3 (signal transducer and activator of transcription-3) и NF- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B); 2) стимулирует экспрессию тканевого фактора, белка хемотаксиса моноцитов-1, молекул адгезии и других хемокинов; 3) стимулирует пролиферацию полипотентных кроветворных клеток-предшественников, дифференцировку и созревание Т- и В-лимфоцитов (фактор стимуляции В-клеток-2); 4) вызывает агрегацию тромбоцитов, пролиферацию сосудистых гладкомышечных клеток; 5) опосредует синтез и выделение С-реактивного белка (СРБ), фибриногена и других белков острой фазы воспаления гепатоцитами; 6) препятствует апоптозу нейтрофилов и др. Он также регулирует экспрессию молекул адгезии и других

цитокинов в клетках эндотелия, включая IL-1 $\beta$ и ФНО- $\alpha$  [28,35,41,65,68,69,70,98,106,107,110,123,128,130,134,139,140].

Основная функция IL-8 выступать в качестве хемоаттрактанта для нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, эозинофилов. Также, IL-8 усиливает адгезивные свойства нейтрофилов, изменяя экспрессию интегринов. Свойства IL-8 вызывать миграцию клеток и способствовать их адгезии определяют его как активного участника острой воспалительной реакции в местах проникновения патогена [55,69,70,84,93,124,130].

При исследовании плазмы крови у крыс на содержание IL-6 исходно его концентрация составляет 0,3(0,17;0,395) пг./мл. На третий час ишемии концентрация IL-6 увеличивается в 10 раз, на шестой час - в 17 раз, а на восьмой час - в 18,8 раз относительно исходных показателей.

Тенденция к росту прослеживается и в динамике концентрации в плазме крови IL-8. Так, исходная концентрация IL-8 в плазме крови крыс составляет 0,12 (0,06;1,044) пг./мл. Третий час ишемии характеризуется достоверным ( $P \leq 0,05$ ) повышением концентрации цитокина в 4,1 раза. Шестой час ишемии характеризуется сдержанным ростом концентрации цитокина, концентрация последнего увеличивается вдвое, тогда, как на восьмой час ишемии концентрация резко увеличилась в 12,3 раза относительно исходных показателей.

Однако вряд ли следует рассматривать роль цитокинов в этом процессе только с одной стороны, как медиаторов патологии. Провоспалительные цитокины могут обладать двумя основными свойствами. Первое связано с описанной на примере IL-8 активацией нейтрофилов и других клеток, синтезом ими повреждающих ткани факторов с развитием очага некроза. Второе, напротив, заключается в цитопротективном действии провоспалительных цитокинов [69,70]. IL-6 оказывает подобное действие посредством активации клеток через рецепторный комплекс, включающий субъединицу gp130. Суммарный вектор действия этих провоспалительных цитокинов во многом зависит от их

концентрации в тканях. Высокая концентрация в ранней стадии инфаркта ведет к активации механизмов повреждения тканей. Однако более низкие уровни локального синтеза абсолютно необходимы для правильного развития процессов регенерации поврежденных тканей и восстановления нормальной функции органа [70].

IL-10 относится к числу противовоспалительных цитокинов. Его продуцентами могут быть моноциты, макрофаги, активированные CD4-клетки. Обращает на себя внимание способность самих макрофагов продуцировать этот цитокин, являющийся для них сильнейшим ингибитором [33,35,38,53,63,64,70,109,115,116,144]. IL-10 ингибирует продукцию макрофагами всех провоспалительных цитокинов, в том числе IL-6. IL-10, продуцируемый тучными клетками и эозинофилами, активирует гуморальный и подавляет клеточный иммунный ответ. Введение IL-10 мышам перед применением эндотоксина предотвращает продукцию ФНО и позволяет улучшить выживаемость, тогда как при введении антител к IL-10 возрастает содержание ФНО в сыворотке, что сопровождалось ростом летальности. IL-10 потенциально может тормозить коагуляционный ответ за счет ингибирования экспрессии тканевого фактора. Является естественным ингибитором ядерного фактора, который играет универсальную роль в развитии воспалительного каскада различной этиологии [25,118,144].

До перевязки брыжеечной артерии уровень IL-10 составляет 12 (6;15) пг./мл. На третий час ишемии концентрация цитокина достоверно увеличивается в 1,7 раза ( $P \leq 0,05$ ). Прогрессирование ишемии характеризуется сдержанным ростом концентрации IL-10. Так в подгруппе шестичасовой ишемии концентрация цитокина достигает 19 (13,5;21,25) пг./мл. ( $P \leq 0,05$ ), что достоверно не отличается от содержания цитокина в подгруппе трехчасовой ишемии, а в подгруппе восьмичасовой ишемии увеличилась в 2,5 раза относительно исходных показателей ( $P \leq 0,046$ ).

Дисфункции иммунной системы при воспалительных заболеваниях связаны со снижением количества иммунокомпетентных клеток, одной из причин гибели которых является апоптоз [3,37,63]. Процессы программированной клеточной гибели играют важную роль в поддержании гомеостаза организма. Сегодня определено три типа программированной гибели клеток: апоптоз, некроз и аутофагия [17,26,59].

Ключевыми молекулами апоптоза являются рецепторы, которые передают внутрь клетки сигналы, поступающие в виде лигандов «смерти». Лигандом для Fas является FasL (он же CD178). Известно, что рецептор CD178 представлен преимущественно на Т-клетках-киллерах [15,22,26,75,100]. Взаимодействие рецептора FasL (CD178) с Fas-рецептором (CD95) является важнейшим механизмом активационной элиминации лимфоцитов, выполнивших свою функцию. Растворимая форма FasL (или sCD178), циркулируя в крови, может провоцировать клетки, имеющие на своей поверхности Fas-рецепторы, к апоптозу.

Исходно концентрация растворимого FasL в лизате клеток мононуклеаров составляет 1,02 (0,648;1,134) нг/мл. Содержание маркера достоверно снижается лишь к восьмому часу ишемии на 28,4%, относительно исходных показателей.

Среди сигнальных молекул, участвующих в развитии иммунных реакций и воспаления, важное место принадлежит системе «рецептор CD40 –CD40L». Экспрессия CD40 и/или CD40L обнаружена в лимфоцитах, моноцитах, тромбоцитах, эндотелиальных, гладкомышечных клетках, в b-клетках островков поджелудочной железы, адипоцитах и в других типах клеток [22].

Уровень растворимого CD40 в плазме крови экспериментальных животных составил 210,48(123,48;514,1) пг./мл. Третий час ишемии характеризуется достоверным увеличением концентрации в 2,4 раза ( $P \leq 0,05$ ). На шестой час ишемии, напротив, отмечается достоверное снижение концентрации молекулы на 9, 3% ( $P \leq 0,05$ ). Прогрессирование ишемии приводит к снижению концентрации

sCD40, относительно исходных показателей. Так на восьмой час ишемии она уменьшается уже на 47,2% относительно исходных показателей ( $P \leq 0,05$ ).

Тканевой фактор катализирует превращение неактивного профермента плазминогена в активный фермент плазмин и является важным компонентом системы фибринолиза. Он также является одним из ферментов, наиболее часто вовлекаемых в процессы деструкции базальной мембраны, внеклеточного матрикса и инвазии клеток [114,117].

Изучение содержания TF в плазме крови при моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии показало следующее. На третий час ишемии концентрация фактора достоверно не меняется. Шестой час ишемии характеризуется достоверным уменьшением концентрации тканевого фактора в плазме крови на 25,3%, а к восьмому часу содержание TF уменьшается на 14,1% относительно исходных показателей. Что можно объяснить повышенным расходом фактора в условиях ишемического повреждения тканей кишечника.

Далее мы изучали влияние реперфузии после различных сроков ишемии (3,6,8 часов) на динамику показателей субпопуляций лимфоцитов, IL-6, IL-8, IL-10, sCD40, sFasL, TF центральной венозной крови и морфологические изменения стенки кишечника в зависимости от времени ишемии.

Лечение острой мезентериальной ишемии в первую очередь направлено на восстановление кровообращения в мезентериальном русле. При этом показания к санационному этапу операции (резекции кишки) устанавливаются на основании субъективных признаков жизнеспособности кишки. Прогрессирование некроза кишечника в послеоперационном периоде утяжеляет состояние пациентов и требует повторных хирургических вмешательств [6,7,38,43,83,126,127]. Прогрессирование некроза можно объяснить субъективностью оценки макроскопических признаков жизнеспособности кишки и развитием синдрома ишемии -реперфузии, от тяжести которого во многом зависит исход острой мезентериальной ишемии [58]. Исходя из предположения о том, что состояние

мезентериального кровотока отражается на показателях иммунитета, нами были изучены субпопуляции лимфоцитов на модели острой обратимой мезентериальной ишемии.

Хотя восстановление кровотока является существенным в смягчении ишемического поражения, реперфузия инициирует комплекс серийных воспалительных реакций, вызывает локальный клеточный ответ с включением молекулярных механизмов [1,6,50,65,90,149]. После реперфузии происходит восстановление притока кислорода к поврежденным клеткам. Поврежденные митохондрии начинают вырабатывать активные кислородные радикалы, которые приводят к поражению тканей. Клетки гибнут не на высоте ишемии, а после полного или частичного восстановления кровообращения, будучи не в состоянии устоять перед окислительным ударом активных форм кислорода [1,65,90]. Реактивные кислородные продукты с участием ксантин оксидазы и другими ферментами принимают активное участие в образовании молекул адгезии на поверхности лейкоцитов и редукции сильнодействующего антиадгезивного агента — оксида азота. Как следствие этих событий лейкоциты начинают взаимодействовать с эндотелием посткапиллярных венул (лейкоцитарный роллинг) [130]. Если провоспалительные стимулы достаточны, лейкоциты могут плотно адгезировать к венулярному эндотелию. Эти лейкоциты могут подвергаться диапедезу в периваскулярное пространство. Эмигрировавшие лейкоциты индуцируют поражение паренхиматозных клеток через прямое освобождение антиоксидантов и гидролитических ферментов. К тому же эмигрирующие лейкоциты усиливают ишемическое повреждение путем разрушения микроциркуляторного барьера. Как следствие этого, происходит транскапиллярная фильтрация жидкости, и формируется отек [4,5,8,50,58,113,130].

Установлено, что восстановление кровотока на третий час ишемии характеризуется восстановлением морфологии слизистой оболочки кишечника. Ворсинки приобретают обычную форму (длина составила  $291,6 \pm 38,1$  мкм,

ширина  $61,8 \pm 12,5$  мкм), крипты нормальной конфигурации. Подслизистая оболочка незначительно утолщена за счет отека. Толщина кишечной стенки составляет  $1001,7 \pm 42,4$  мкм. Тонус сосудов практически соответствует норме. Регистрируются единичные диапедезные кровоизлияния. Обращает на себя внимание незначительная лейкоцитарная инфильтрация диффузного типа подслизистого и слизистого слоя кишки. Из микрососудов мигрируют в основном нейтрофилы, эозинофилы и мононуклеары.

На этом сроке также наблюдается снижение относительного числа лимфоцитов на 24,8% при стабилизации их абсолютного числа относительно показателей подгруппы трехчасовой ишемии. При этом отмечается стабилизация показателя относительного и абсолютного количества CD4 –клеток на уровне показателей подгруппы трехчасовой ишемии. Одновременно с этим наблюдается снижение абсолютного числа CD8 -клеток при отсутствии достоверных изменений их относительного числа. Все это приводит к стабилизации отношения CD4/CD8 в первые сутки восстановления кровообращения после трехчасовой ишемии. В ответ на реперфузию относительное число В –клеток снижается на 47,4%, а их абсолютное число на 80% относительно исходных показателей.

Известно, что НК-клетки высокочувствительны к действию окислительного стресса [146]. Свободные радикалы кислорода угнетают функциональную активность НК-клеток, стимулируют их апоптоз [53,146]. В этой подгруппе также наблюдается разнонаправленная динамика числа НК –клеток, так относительное число их не изменялось, тогда как абсолютное – уменьшилось на 45% относительно показателей подгруппы трехчасовой ишемии.

В экспериментах на животных выяснено, что повреждение тканей в ответ на ишемию с последующей реперфузией связано с активацией синтеза цитокинов клетками ишемизированных тканей с последующей активацией резидентных макрофагов и нейтрофильных гранулоцитов [4,5,8,50,58,113].

Важную роль в патогенезе нарушений при ишемии-реперфузии кишечника играют цитокины — низкомолекулярные полипептиды, продуцируемые клетками

с целью модуляции, стимулирования и т. п. разных типов клеток (иногда и самих себя) [58,63,65,69,70]. Таких веществ очень много, например, интерлейкинов (IL) более 20. Последние также участвуют в нарушениях при ишемии-реперфузии. Так, установлено, что активация рецепторов цитокинов играет центральную роль в гемодинамических нарушениях при ишемии-реперфузии и может играть роль триггера в процессах деструкции слизистой кишечника. В формировании ответа при кишечной ишемии-реперфузии принимает активное участие IL -10, который увеличивает поражение тканей, а также IL-6, IL -8 [4,58,65,87,90,116].

Среди цитокинов важная роль в механизмах развития повреждения тканей при гипоксии с последующей реперфузией отводится хемокинам, активирующим гранулоциты, главным образом IL-8 [53,124,149]. Повышенные уровни некоторых цитокинов в плазме крови могут служить прогностическим критерием при ишемии различных органов. Так, уровень IL-6 в циркуляции положительно коррелировал с более неблагоприятным прогнозом при нестабильной стенокардии и при инфаркте миокарда [122,134,135].

При исследовании плазмы крови у крыс на содержание IL-6 на третий час ишемии концентрация IL-6 составляет 3,43 пг./мл. ( $P \leq 0,01$ ). Восстановление брюжеечного кровообращения после трехчасовой ишемии вызывает увеличение концентрации IL-6 в 1,5 раза, IL-8 - в 3,5 раза, а IL-10 – в 5, 5 раз относительно показателей подгруппы трехчасовой ишемии. Что свидетельствует о преобладании противовоспалительного цитокинового потенциала при реперфузии на данном сроке ишемии.

Трехчасовая ишемия привела к росту концентрации sCD40 в 2,4 раза относительно исходных показателей, а реперфузия после указанного срока - к дальнейшему росту концентрации на 4,8% относительно показателя трехчасовой ишемии. Таким образом, роль апоптоза при реперфузии после трехчасовой ишемии практически остается на уровне подгруппы ишемии.

Реперфузия на шестой час также не приводит к некротическим изменениям в стенке кишки и характеризуется снижением относительного числа лимфоцитов на



17,5% и стабилизацией абсолютного числа лимфоцитов на показателях шестичасовой ишемии. Относительное и абсолютное число CD3-клеток уменьшается на 15,2 и 55,9% соответственно. В этот временной промежуток наблюдается стабилизация относительного числа CD4 -клеток, при уменьшении их абсолютного числа на 27,6%, относительно показателей шестичасовой ишемии. Та же тенденция наблюдается в динамике CD8-клеток, относительное число CD8-клеток достоверно не изменяется, тогда, как их абсолютное число уменьшается на 31,5%. Восстановление кровотока после шестого часа ишемии приводит к увеличению относительного числа В-клеток на 66% при сохранении абсолютного числа на уровне подгруппы шестичасовой ишемии. Относительное число NK –клеток уменьшается на 19,4%, абсолютное – на 58,9% относительно показателей шестичасовой ишемии.

Реперфузия после шестичасовой ишемии вызывает рост содержания IL -6 в крови животных на 44,6%, а IL -8 –на 632 % и стабилизацию концентрации IL-10 на уровне показателей подгруппы шестичасовой ишемии. Таким образом реперфузия на данном сроке ишемии характеризуется преобладанием провоспалительного цитокинового потенциала и активной миграцией нейтрофилов, макрофагов, эозинофилов и лимфоцитов в очаг поражения, повреждением тканей кишечника с участием гранулоцитов. В этой подгруппе снижение числа лимфоцитов можно связать с их миграцией в зону поражения и гибелью посредством фагоцитоза. Растет и роль гибели клеток посредством апоптоза, о чем свидетельствует увеличение содержания sFasL в лизате мононуклеаров на 29,9% и увеличение содержания растворимого CD40 на 47,6% относительно подгруппы шестичасовой ишемии.

Реперфузия после шестичасовой ишемии характеризуется увеличением концентрации TF на 93 % относительно показателей подгруппы ишемии. Можно предположить, что это связано с «вымыванием» продуктов массивного повреждения тканей кишечника в условиях «дыхательного взрыва» и активацией макрофагов.

Реперфузия после восьмичасовой ишемии приводит к прогрессированию некроза кишечника и сопровождается снижением абсолютного числа всех изучаемых нами клеток. Так относительное число лимфоцитов снижается на 45,6% , абсолютное - на 60,5% относительно подгруппы восьмичасовой ишемии. Абсолютное число CD4-клеток уменьшается на 47,2%, тогда как относительное их число увеличилось на 8%. Относительное число CD8-клеток уменьшается на 31,9%, абсолютное - на 61,7%. Относительное число В-клеток увеличивается на 32,1%, а абсолютное - достоверно не изменяется. Относительное число NK-клеток уменьшилось на 56,1%, вместе с этим их абсолютное количество снизилось на 46,4%. Следует отметить, что в этот временной промежуток отношение CD4/CD8 увеличилось на 59,1% относительно подгруппы восьмичасовой ишемии.

Восстановление мезентериального кровообращения после восьмичасовой ишемии характеризуется увеличением концентрации IL-6 на 67% и снижением концентрации IL-8 на 33,8% относительно показателей подгруппы восьмичасовой ишемии. Примечательно, что восстановление кровообращения на этом сроке приводит к резкому снижению концентрации IL-10, последняя снижается на 95,7%. Что можно сравнить с динамикой содержания IL-10 при течении острого нарушения мозгового кровообращения. По мнению Жданова Г. Н., содержание IL-10 в сыворотке крови больных в 1-е сутки ишемического инсульта (инфаркта головного мозга) служит своеобразным прогностическим критерием дальнейшего развития заболевания. Так высокое содержание IL-10 в сыворотке крови в 1-е сутки болезни наблюдается у пациентов с легким течением инсульта и благоприятным исходом. Для всех больных со среднетяжёлым течением заболевания характерно отсутствие IL-10 в сыворотке крови в 1-е сутки, повышение его уровня к 10-м и снижение к 21-м суткам. У больных с тяжелым течением ишемического инсульта (инфаркта головного мозга), с выраженной или грубой инвалидизацией или летальным исходом IL-10 в 1-е и 10-е сутки инсульта не определяется [33].

Восстановление мезентериального кровообращения после восьмичасовой ишемии вызывает увеличение содержания растворимого CD40 на 20,5 % относительно показателей подгруппы восьмичасовой ишемии, тогда как содержание sFasL достоверно не изменяется. То есть вклад апоптоза в гибель клеток при реперфузии на данном сроке незначительный.

Реперфузия после восьмого часа ишемии характеризуется снижением концентрации TF на 33,4% относительно показателей подгруппы восьмичасовой ишемии. Что, вероятно, связано с расходом последнего в условиях продолжающихся некротических изменений кишки. А также, нельзя исключить прогрессирование тромбоза брыжеечных артерий, что может препятствовать «вымыванию» фактора в общий кровоток.

Мы считаем, что ишемия кишечника в течение восьми часов и более является необратимой, поэтому реперфузия на этом сроке приводит к прогрессированию некроза и гибели животного. Что сопровождается стремительным снижением субпопуляций лимфоцитов и увеличением соотношения CD4/CD8, снижением содержания IL-10 и ростом содержания IL-6 относительно показателей подгруппы восьмичасовой ишемии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для определения роли каждого из изучаемых нами показателей в патогенезе острой мезентериальной ишемии нами были определены корреляции между морфологическими признаками кишки (длина ворсин, толщина ворсин, толщина кишечной стенки, высота эпителиальной клетки, количество бокаловидных клеток) и структурой субпопуляций лимфоцитов, IL-6, IL-8, IL-10, s CD40, s FasL и TF экспериментального животного (табл. 21).

Выявлена сильная отрицательная связь между относительным содержанием CD4-клеток, отношением CD4/CD8 и длиной ворсин ( $r = -0,8$ ) и сильная положительную связь между относительным числом CD8-клеток и длиной ворсин ( $r = 0,8$ ). Это, возможно, связано с тем, что при разрушении кишечной ворсины в первую очередь погибают внутриэпителиальные лимфоциты, среди которых преобладают CD8-клетки. Уменьшение числа CD8-клеток приводит к относительному росту числа CD4-клеток и соотношения CD4/CD8. Средняя положительная связь выявлена между относительным и абсолютным числом лимфоцитов, абсолютным числом CD8-клеток, абсолютным и относительным числом В-клеток, абсолютным числом NK-клеток с длиной ворсин. И средняя отрицательная связь между содержанием IL-6 в плазме крови и длиной ворсин ( $r = -0,6$ ).

Таблица 21 - Корреляционная связь показателей иммунитета и некоторых морфологических признаков кишечника экспериментальных животных

Показатель	Длина ворсин	Высота эпителиальной клетки	Количество бокаловидных клеток на одну ворсину
Лимфоциты %	0,5	0,4	0,3
Лимфоциты, кл/мкл.	0,6	0,3	0,3
CD4-клетки %	-0,8	-0,7	-0,7
CD4-клетки, кл/мкл.	0,05	-0,2	-0,05
CD8-клетки %	0,8	0,6	0,6
CD8-клетки, кл/мкл.	0,6	0,4	0,4
CD4/CD8, У.Е.	-0,8	-0,6	-0,7
В-клетки %	0,6	0,4	0,3
В-клетки, кл/мкл.	0,5	0,4	0,3
NK-клетки, кл/мкл.	0,6	0,5	0,4
IL-6 пг/мл.	-0,6	-0,5	-0,4
s CD40, пг/мл.	0,4	-0,1	0,2

Таким образом, можно утверждать, что по показателям CD4-клеток, CD8-клеток, В-клеток, отношения CD4/CD8, абсолютного числа NK-клеток и концентрации IL-6 в плазме крови можно судить о степени поражения кишечной стенки при течении острой мезентериальной ишемии.

На основании наших исследований можно предложить следующую схему изменений в иммунной системе при развитии острой мезентериальной ишемии в эксперименте (рис. 16).

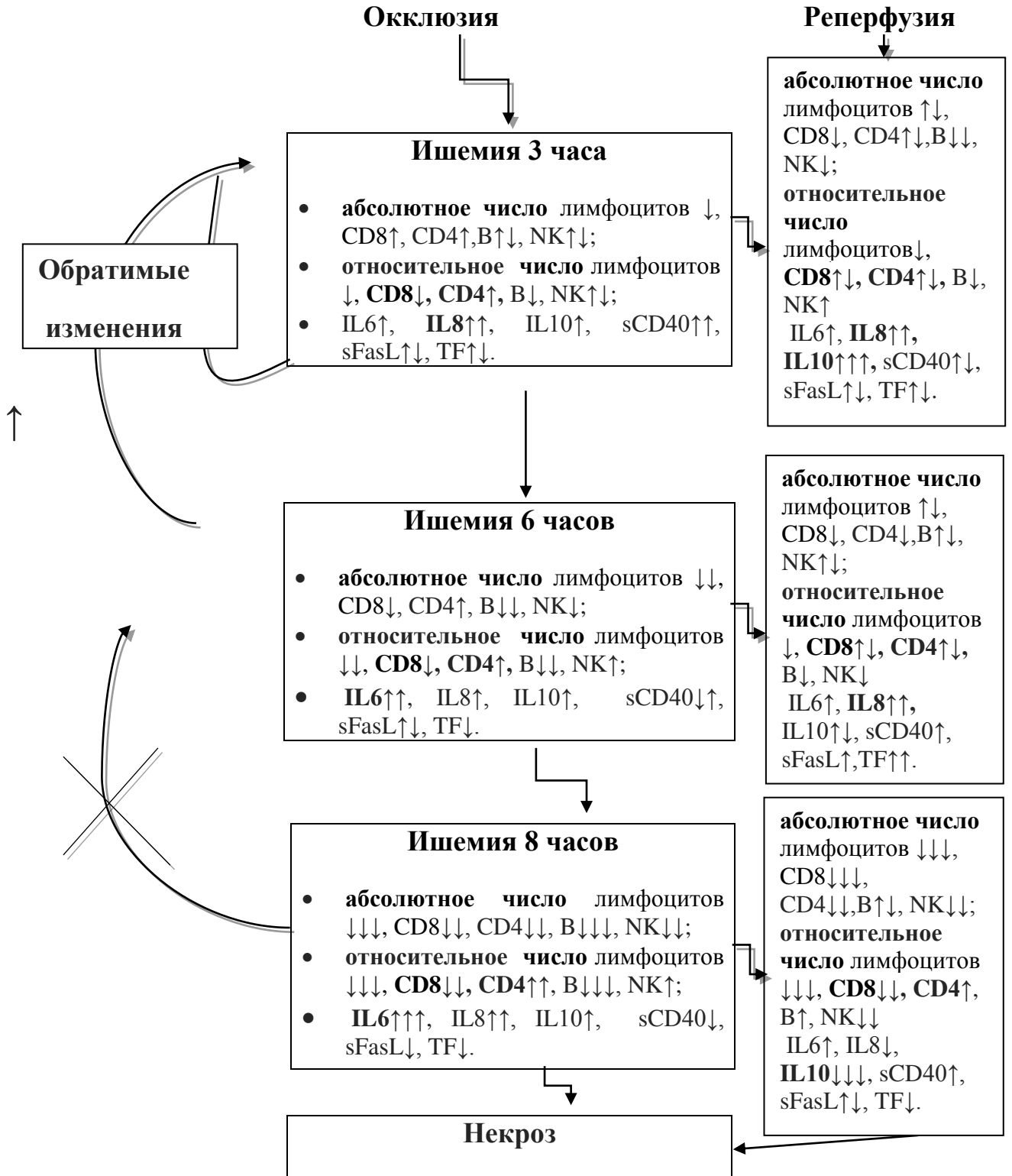


Рисунок 16 - Концептуальная схема изменений в иммунной системе при развитии острой мезентериальной ишемии в эксперименте

## ВЫВОДЫ

1. Воспроизведена экспериментальная модель острой мезентериальной ишемии, позволяющая объективно оценить особенности динамики общего числа лимфоцитов, CD3, CD4, CD8, В и NK-клеток, соотношения CD4/CD8, содержания интерлейкина-6, интерлейкина-8, интерлейкина-10, маркеров апоптоза (sFas-L, sCD40), тканевого фактора и морфологических изменений стенки кишечника в зависимости от продолжительности воздействия ишемии и тяжести патологического процесса.
2. Морфологические изменения стенки кишечника напрямую зависят от времени окклюзии краниальной брыжеечной артерии, при этом ишемическая стадия регистрируется у всех экспериментальных животных с 3-го по 8-й час, а некротическая - с 8-го часа наблюдения.
3. В условиях острой необратимой ишемии кишечника наблюдается прогрессивное снижение общего числа лимфоцитов венозной крови с 8998 кл/мкл. до 3113,5 кл/мкл. с развитием дисбаланса в их субпопуляции (снижение CD4-клеток с 2594 кл/мкл. до 1598,5 кл/мкл., CD8-клеток с 2122 кл/мкл. до 412,5 кл/мкл.), увеличение соотношения CD4/CD8 с 1,26 до 3,94.
4. Установлено, что содержание лимфоцитов венозной крови находится в прямой зависимости от времени ишемии кишечника. При моделировании острой необратимой мезентериальной ишемии максимальное снижение общего числа лимфоцитов отмечается в некротическую стадию заболевания. Кроме того регистрируется развитие дисбаланса между про- и противовоспалительными цитокинами, при этом прогрессирование ишемии характеризуется преобладанием

провоспалительного потенциала. Так содержание IL-6 к восьмому часу ишемии увеличивается в 16,6 раз, IL-8 – в 12,3 раза, тогда как содержание IL-10 - лишь в 2,5 раза относительно исходных показателей.

5. В условиях острой обратимой ишемии кишечника изменения в иммунной системе, системе апоптоза и TF напрямую зависят от времени ишемии. Так реперфузия после трехчасовой ишемии характеризуется стабилизацией показателей субпопуляций лимфоцитов, соотношения CD4/CD8, ростом содержания IL-10 в 5,5 раз относительно показателя в подгруппе ишемии. Восстановление мезентериального кровообращения после шестичасовой ишемии приводит к стабилизации соотношения CD4/CD8, преобладанием роста содержания IL-8, последнее увеличивается в 7,3 раза относительно показателя в подгруппе ишемии. Реперфузия на сроке трех и шестичасовой ишемии в первые 24 часа наблюдения не приводит к некрозу кишечника.

6. Восстановление мезентериального кровообращения после восьмичасовой ишемии приводит к прогрессированию некроза кишечника, снижению лимфоцитов до 1229кл/мкл, росту показателя соотношения CD4/CD8 до 6,27, снижению содержания IL-10 на 95,7% относительно подгруппы восьмичасовой ишемии.

7. Установлена сильная отрицательная корреляционная связь между относительным содержанием CD4-клеток, соотношением CD4/CD8 и длиной ворсин ( $r = -0,8$ ) и сильная положительную корреляционная связь между относительным числом CD8-клеток и длиной ворсин ( $r = 0,8$ ). Средняя положительная корреляционная связь выявлена между относительным и абсолютным числом лимфоцитов, абсолютным числом CD8-клеток, абсолютным и относительным числом В-клеток, абсолютным числом NK-клеток с длиной ворсин. Средняя отрицательная корреляционная связь регистрируется между содержанием IL-6 в плазме крови и длиной ворсин ( $r = -0,6$ ).

8. По содержанию CD4-клеток, CD8-клеток, соотношению CD4/CD8, концентрации IL-6, IL-10 в плазме крови можно судить о стадии острой



мезентериальной ишемии. Снижение абсолютного числа лимфоцитов более чем на 65%, абсолютного числа CD8-клеток на 80% и более наряду с увеличением соотношения CD4/CD8 свидетельствует о некротической стадии заболевания.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Комплексное обследование больных с острой мезентериальной ишемией должно включать определение субпопуляции лимфоцитов венозной крови. Для прогнозирования тяжести заболевания, продолжения некроза кишки в послеоперационном периоде следует в динамике определять наряду с числом лимфоцитов, относительное число CD4-клеток, относительное и абсолютное число CD8-клеток, NK, В-клеток, соотношение CD4/CD8, концентрацию IL-6 и IL-10. Прогрессивное снижение общего числа лимфоцитов, CD8, В и NK-клеток, увеличение относительного числа CD4-клеток с ростом соотношения CD4/CD8 свидетельствуют о течении заболевания. Рост концентрации IL-6 в сочетании со снижением концентрации IL-10 указывают на прогрессирование некроза кишечника. При снижении абсолютного числа лимфоцитов более чем на 65%, абсолютного числа CD8-клеток на 80% и более наряду с увеличением соотношения CD4/CD8 следует диагностировать стадию некроза острой мезентериальной ишемии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Адаптивные и патогенные эффекты реперфузии и реоксигенации миокарда / П.Ф. Литвицкий, В.А. Сандриков, Е.А. Демуров - М.: Медицина, 1994.- 318с.
2. Алексеев, Т.В. Пути оптимизации лечения больных с мезентериальным тромбозом в муниципальных учреждениях здравоохранения малых городов и сельской местности / Т.В. Алексеев, А.И. Безносков, И.Ф. Лозовский // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. - 2010. - № 2 - С. 92-95.
3. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / под ред. А.С. Быкова, А.А. Воробьева, В.В. Зверева - 2-е изд. - М. : Медицинское информационное агентство, 2008. – С. 201–254.
4. Багненко С.Ф. Ишемия/реперфузия тонкой кишки при острой кишечной непроходимости / С.Ф. Багненко, В.Г. Чуприс, И.Н. Ершова // Социальные аспекты хирургической помощи населению в современной России: Матер. Всерос. науч. конф. с межд. участием. – Тверь, 2008. – С. 113 – 114.
5. Багненко С.Ф. Коррекция ишемических и реперфузионных повреждений тонкой кишки при острой кишечной непроходимости неопухолевого генеза / С.Ф. Багненко, Г.И. Синенченко, В.Г. Чуприс [и др.]: пособие для врачей. – СПб.: Изд-во СПб Гос. НИИ СП им. И.И. Джанелидзе, 2008. – 16 с.
6. Багненко С.Ф. Коррекция реперфузионной дисфункции при острой кишечной непроходимости / С.Ф. Багненко, Г.И. Синенченко, А.А. Курыгин, В.Г. Чуприс // Вестник хирургии им. И.И.Грекова. – 2008. – Т. 167, № 4. – С. 32 – 35.
7. Багненко С.Ф. Опыт консервативного лечения больных с острой спаечной тонкокишечной непроходимостью / С.Ф. Багненко, Г.И. Синенченко, В.М. Луфт [и др.] // Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения больных в

- многопрофильном лечебном учреждении: Матер. VIII Всерос. науч.-практ. конф. 24 – 25 апреля 2007. – Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2007. – Прил. № 1 (17). – Часть II. – С. 722 – 723.
8. Багненко С.Ф. Энтеральная терапия как элемент патогенетического лечения больных с острой кишечной непроходимостью / С.Ф. Багненко, Г.И. Синенченко, В.М. Луфт [и др.]// Искусственное питание и инфузионная терапия больных в медицине критических состояний: Матер. 7 Межрег. науч.-практ. конф. 11 – 12 апреля 2007. – Великий Новгород. – С. 8 – 10.
9. Баешко, А.А. Инфаркт кишечника / А.А. Баешко // Медицинский вестник. - 2005. - № 41. - С. 7-10.
10. Баешко, А.А. Оптимизация хирургической тактики при остром нарушении брыжеечного кровообращения / А.А. Баешко, Г.П. Шорох, А.В. Сысов // Ангиология и сосудистая хирургия. - 1995. - № 2. - С. 43.
11. Баешко, А.А. Острые нарушения брыжеечного кровообращения — этиология, факторы риска, распространенность / А.А. Баешко // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2004. - Т. 10, № 4. - С. 99 - 113.
12. Баешко, А.А. Причины и особенности поражений кишечника и его сосудов при остром нарушении брыжеечного кровообращения / А.А. Баешко, С.А. Климук, В.А. Юшкевич // Хирургия. - 2005. - № 4. - С. 57 - 63.
13. Баешко, А.А. Острая интестинальная ишемия: диагностика и хирургическое лечение / А.А. Баешко, В.В. Климович, В.А. Юшкевич // Новые технологии в медицине: диагностика, лечение, реабилитация : сб. науч. тр. - Минск, 2002. - Т. 1. - С. 48-50.
14. Белов, Ю.В., Комаров Р.Н. Абдоминальные катастрофы в хирургии аорты и сердца/ Ю. В. Белов, Р. Н. Комаров //Хирургия. Журнал им. Пирогова.-2010.-№ 4.- С.4-11.
15. Белова, Н.И. Новые маркеры риска сердечнососудистых заболеваний в популяции ненцев Ненецкого автономного округа/Н.И. Белова, П.А. Лавринов,

- Н.А. Воробьева // Вестник Северного (Арктического) федерального университета им. М.В. Ломоносова. Сер. Медико-биологические науки. – 2014. - № 2.-С. 12-20.
16. Белокуров, Ю.Н. Тромбэктомия из верхней брыжеечной вены / Ю.Н. Белокуров, В.В. Гагарин // Хирургия. - 1988. - № 10. - С. 130-131.
17. Белоусова, Е.А. Иммунные механизмы при воспалительных заболеваниях кишечника и принципы селективной иммунокоррекции / Е.А. Белоусова // Рос. журн. гастроэнтерологии гепатологии, колопроктологии. – 1999. – Т. 9, № 4. – С. 48–57.
18. Беляев А.М. Исследование микроциркуляции толстой кишки методом лазерной доплеровской флоуметрии / А.М. Беляев, С.Ю. Дворецкий, В.Г. Чуприс // Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения больных в многопрофильном лечебном учреждении: Матер. VIII Всерос. науч.-практ. конф. 24 – 25 апреля 2007. – Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2007. – Прил. № 1 (17). – Часть II. – С. 694.
19. Белякин С.А. Клинико-патогенетические варианты течения хронической абдоминальной ишемии / С.А. Белякин // Вестник Российской военно-медицинской академии. - 2011. - № 3. - С. 23-26.
20. Бокарев, И.Н. Тромбофилии / И.Н. Бокарев, Л.В. Попова // Врач. - 2010. - № 5. - С. 2-5.
21. Бокарев, И.Н. Что такое тромбофилии сегодня? / И.Н. Бокарев, Л.В. Попова // Клиническая медицина, 2013. – Т. 91. - №12. – С.4-8.
22. Бондарь, И.А. Система CD40 лиганд CD40 в развитии сахарного диабета и его осложнений / И.А. Бондарь, В.В. Климонтов // Сахарный диабет. - 2011. - № 13. - С. 21-25.
23. Вовк, А.В. Пути оптимизации лечения больных с острым нарушением артериального кровоснабжения кишечника : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / Вовк Андрей Владиславович. - СПб., 2009. - 116 с.

24. Вишневская, А.Н. Лапароскопия в лечении послеоперационного перитонита / А.Н. Вишневская, К.В. Стегний, В.Г. Раповка // Тихоокеан. мед. журн. – 2011. – № 1. – С.34–36.
25. Волков, А.О. Уровень противовоспалительного цитокина IL-10 в крови у родильниц после кесарева сечения при тотальной внутривенной анестезии / А. О. Волков // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. - 2013. - Т. 8, № 4. - С. 171-174.
26. Григорьева, Т.Ю. Различная чувствительность к индукции апоптоза Т-лимфоцитов субклассов CD4+ и CD8+ / Т.Ю. Григорьева, М.Ф. Никонова, А.А. Ярилин // Иммунология. - 2002. - №4. – С. 200–206.
27. Давыдов, Ю.А. Инфаркт кишечника и хроническая мезентериальная ишемия / Ю.А. Давыдов. - М. : Медицина, 1997. - 205 с.
28. Долгушина, А.И. Иммунный статус пациентов пожилого и старческого возраста с хронической ишемией органов пищеварения / А.И. Долгушина // Цитокины и воспаление. - 2011. – Т.10, №1. – С.56-59.
29. Долгушина, А.И. Патология органов пищеварения и атеросклероз брюшной аорты / А.И. Долгушина // Материалы XII Тихоокеанской международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых. – Владивосток, 2011. – С.35.
30. Долгушина, А.И. Исследование брюшной аорты у больных пожилого и старческого возраста с патологией органов пищеварения / А.И. Долгушина, А.Г. Богданов, А.К. Демидов // Материалы III-й Российской научно-практической конференции. - Казань, 2011. - С.53-57.
31. Дуброва, С.Э. Компьютерная томография в диагностике острой мезентериальной ишемии./ С.Э. Дуброва, Г.А. Сташук // Клиническая геронтология. - 2015. - №7-8. - С. 16-21.
32. Дубцова, Е.А. Некоторые иммунологические аспекты язвообразования / Е.А. Дубцова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2002. - № 4. - С. 9-14.

33. Жданов, Г.Н. О связи течения ишемического инсульта головного мозга с содержанием интерлейкина-10 в сыворотке крови больных / Г.Н. Жданов // Иммунология. – 2006. - Т. 27, № 1. – С. 26-27.
34. Зубарев, П.Н. Острые нарушения мезентериального кровообращения / П.Н. Зубарев // Неотложная хирургия груди и живота. - СПб. : Гиппократ, 2002. - С. 474 -480.
35. Иваненко, И.Л. Роль цитокинов в патогенезе осложнений при ожоговой болезни / И.Л., Иваненко, Г.П., Гладилин, С.И. Веретенников // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1-4. – С. 752-754.
36. Игнатович, И.Н. Тромбэктомия из верхней брыжеечной вены в лечении геморрагического инфаркта тонкой кишки / И.Н. Игнатович, А.В. Юшкевич // Хирургия. Журнал им. Пирогова. - 2010. - № 4. - С. 60-61.
37. Изменения иммунного статуса у больных воспалительными заболеваниями кишечника под влиянием терапии мезенхимальными стромальными клетками и инфликсимабом / Л.Б. Лазебник, В.Э. Сагынбаева, О.В. Князев [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2011. - № 9. - С. 11-17.
38. Интерлейкин 10, 4. Роли интерлейкина 10 и 4 при воспалении [интернет-ресурс MedUniver]. — Режим доступа : <http://meduniver.com/Medical/pulmonologia/108.html>
39. Иоскевич Н.Н. Практическое руководство по клинической хирургии. Болезни пищеварительного тракта, брюшной стенки и брюшины / Н.Н. Иоскевич. – Минск : Вышэйшая шк., 2001. - 685 с.
40. Итоги и перспективы совершенствования помощи больным с острыми хирургическими заболеваниями органов брюшной полости / А.М. Сазонов, Л.А. Эндер, А.И. Пирогов [и др.] // Хирургия. - 1987. - №1. - С. 5 -14.
41. К вопросу прогнозирования гнойно-воспалительных осложнений в травматологии. Клинико-иммунологические аспекты / Е.В. Намоконов, В.Н. Луценко, А.М. Мироманов, П.П. Коновалов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2006. - № 4(50). - С. 198-200.

42. Клеточные механизмы генерации иммунологической памяти / В. И. Селедцов, Л. С. Литвинова, А. Г. Гончаров и др. // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 9–15.
43. Клиническая хирургия: национальное рук-во : в 3-х т. / под ред. В.С. Савельева, А.И. Кириенко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010.
44. Когаладзе, Р.А. Работа с лабораторными животными в контексте биоэтики – история, современность, перспективы / Р.А. Когаладзе // Успехи физиологических наук. – 2004. – Т. 35, № 2. – С. 92–109.
45. Козаченко, А.В. Нарушение мезентериального кровообращения как проблема неотложной практики / А.В. Козаченко // Медицина неотложной состояний. - 2007. - № 11. - С. 5 - 10.
46. Коржевский, Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров. – СПб. : СпецЛит, 2010. – 95 с
47. Кувшинов А.Г. Закономерности развития бактериальной транслокации при ранних ишемических и реперфузионных повреждениях тонкой кишки, вызванных острым нарушением магистрального кровотока : дис . канд. мед. наук / Артем Геннадьевич Кувшинов. - СПб., 2004. - 109 л.
48. Лемешевский, А.И. Проблема острой мезентериальной ишемии / А.И. Лемешевский // Белорусский медицинский журнал. - 2008. - № 3. - С. 34 - 38.
49. Матюхин В.В. Интестиногенный абдоминальный сепсис: критерии диагностики и принципы лечения / Г.И.Жидовинов, В.В.Матюхин, И.Н. Климович и др. // XI съезд хирургов РФ: Матер. Съезда.-Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2011.- С. 516-517.
50. Матюхин В.В. Роль кишечного тракта в патогенезе мультиорганной дисфункции у больных с острой абдоминальной хирургической патологией / С.С. Маскин, И.Н.Климович, Г.И.Жидовинов, В.В.Матюхин и др. // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2010.-№3.- С.101-102

51. Микроциркуляция в тонкой и толстой кишке при тромбозе и тромбоземболии и брыжеечных артерий / А.И. Хрипун, С.Н. Шурыгин, А.Б. Миронков [и др.] // Хирургия. – 2011. – № 9. – С. 27-32.
52. Неспецифический язвенный колит / Ф.И. Комаров, А.М. Осадчук, М.А. Осадчук, И.М. Кветной. – М.: ООО Медицинское информационное агентство, 2008. – 256 с.
53. Основы клинической иммунологии / Э. Чепель, М. Хейни, С Мисбах [и др.]; пер. с англ. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 416 с.
54. Основы прикладной статистики (использование Excel и Statistica в медицинских исследованиях) : учебное пособие / И.Ф. Спрейс, М.А. Алферова, И.М. Михалевич [и др.]. – Иркутск, ИГИУВ, 2006. – 71 с.
55. Павлов, О.Н. Цитокиновый статус при инфекции *Helicobacter pylori* / О.Н. Павлов // Цитокины и воспаление. – 2013. № 3(12). – С. 24-28.
56. Парахонский, А.П. Механизмы иммуномодуляции пробиотиками / А.П. Парахонский // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2013. - № 3. - С. 151.
57. Парахонский, А.П. Особенности хеликобактерной инфицированности / А.П. Парахонский // В мире научных открытий : материалы VI Междунар. науч.-практ. конф. ( Таганрог, 2012 г.). — М. : Спутник+, 2013. — С. 47—51.
58. Патогенетические аспекты синдрома ишемии реперфузии в прогрессировании системного воспаления и эндотоксикоза при кишечной непроходимости / П.Е. Пермяков, А.А. Жидовинов, В.А. Зурнаджянц [и др.] // Вестник ВолГМУ. 2010. - № 1 (33). - С. 11-14.
59. Патогенетические особенности течения гнойного воспаления верхних дыхательных путей (риносинусита) в зависимости от генетического контроля продукции интерлейкина 1 $\beta$  / Азнабаева Л. Ф., Шарипова Э. Р., Арефьева Н. А. [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 50-55.



60. Пешков, М.В. Метод гистологической проводки тканей с использованием изопропанола и минерального масла / М.В. Пешков, И.И. Дыгало // Архив патологии. – 2009. – Т. 71, № 3. – С. 39–41.
61. Платонов, А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы / А.Е. Платонов. – М. : Изд-во РАМН, 2000. – 52 с.
62. Пути оптимизации лечения больных с мезентериальным тромбозом в муниципальных учреждениях здравоохранения малых городов и сельской местности / Т.В. Алексеев, А.И. Мовчан, А.И. Безносков [и др.] // Вестник хирургии. - 2010. - №2. - С. 92-95.
63. Регуляция и модуляция иммунологического ответа / Добротина Н. А., Бабаев А. А., Казацкая Ж. А. [и др.] // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. – 2007. – № 5. – С. 62-64.
64. Родионова О. Н., Бабаева А. Р. Патогенетическая роль сывороточных цитокинов при синдроме раздраженного кишечника // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 38-41.
65. Роль интерлейкина-6 в синдроме ишемии-реперфузии и отторжении почечного трансплантата / А.В. Ватазин, А.Б. Зулкарнаев, П.В. Астахов [и др.] // Клиническая нефрология. – 2012. – № 5- 6. – С. 9-14.
66. Савельев, В.С. Лапароскопические вмешательства в неотложной хирургии: состояние проблемы и перспективы / В.С. Савельев, А.Г. Кригер // Эндоскопическая хирургия. - 1999. - Т. 5, № 3 - С. 3 - 6.
67. Савельев, В.С. Острые нарушения мезентериального кровообращения / В.С. Савельев, И.В. Спиридонов. - М. : Медицина, 1979. - 232 с.
68. Семинский И. Ж. Структура и закономерности развития разных форм экспериментального воспаления: дисс...д-ра мед. наук. – Иркутск, 1999. – 303 с.
69. Симбирцев, А. С. Достижения и перспективы использования рекомбинантных цитокинов в клинической практике / А. С. Симбирцев // Медицинский академический журнал. - 2013. Т. 13, № 1. - С. 7–22.

70. Симбирцев, А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека / А.С. Симбирцев // Медицинский академический журнал. - 2013. - Т. 13, № 3. - С. 18-41.
71. Соколов, Ю.А. Роль малоинвазивных методик в диагностике распространенного перитонита / Ю.А. Соколов, В.Н. Бордаков, С.А. Алексеев // Актуальные вопросы хирургии: Материалы XXV Пленума правления Ассоциации белорусских хирургов и Республиканской научно-практической конференции. – Борисов, 2008. – С. 183-185.
72. Соловьев, Г.М. Иммунокоррекции, профилактика и лечение гнойно-септических заболеваний / Г.М. Соловьев, И.В. Петрова, С.В. Ковалев. - М., 1987. – 169.
73. Способ интраоперационной оценки кровоснабжения тонкой кишки при острой мезентериальной ишемии / О.Н. Боцула, Г.Ц. Дамбаев, М.М. Соловьёв, А.М. Попов // Вестник новых медицинских технологий (Томск). - 2012. - Том 19, № 4. - С. 78-79.
74. Сравнительная иммунологическая характеристика ингаляционного и комбинированного наркоза у онкологических больных / С.З. Танатаров, М.И. Неймарк, Е.В. Черепкова, А.Е. Горбатенко // Российский онкологический журнал. - 2013. - № 1. - С. 39-42.
75. Сывороточные маркеры апоптоза при травматическом и ишемическом повреждении головного мозга / Н.Н. Елифанцева, Т.И. Борщикова, П.Г. Ситников [и др.] // Общая реаниматология. — 2009. — № 6. — С. 54-60.
76. Трудности диагностики острых сосудистых заболеваний брюшной полости / В.В. Луканов, И.Г. Фомина, З.О. Георгадзе, О.В. Кавешникова // Клиническая медицина. – 2005. - № 5. – С. 61-65.
77. Функциональный профиль цитокинов и иммунологическая дисфункция у нейрореанимационных больных / Борщикова Т. И., Елифанцева Н. Н., Чурляев Ю. А. [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 42-49.

78. Хаитов, Р. М. Новые данные о строении и функционировании иммунной системы желудочно-кишечного тракта (сообщение 1) / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин // *Анналы хирургической гепатологии*. — 2002. — Т. 7, № 2. — С. 105–110.
79. Хаитов, Р.М., Изменение иммунитета при хирургических вмешательствах / Р.М., Хаитов, Б.В. Пинегин // *Анналы хирургической гепатологии*. – 1998. - Т. 3. - С. 100-110.
80. Хрипун, А.И. Диагностика острой окклюзии верхней брыжеечной артерии / А.И. Хрипун, С.Н. Шурыгин, А.Д. Прямиков // *Хирургия*. - 2009. - № 10. - С. 56-58.
81. Хрипун, А.И. Современный подход к диагностике и лечению острого нарушения мезентериального кровообращения / А.И. Хрипун, А.В. Саликов, А.Д. Прямиков // *Хирургия*. - 2014. - № 6. - С. 36-42.
82. Цитокиновый профиль крови и раны больных с одонтогенными флегмонами / Хараева З. Ф., Мустафаев М. Ш., Рехвиашвили Б. А. [и др.] // *Цитокины и воспаление*. – 2007. – Т. 6, № 4. – С. 38-41.
83. Цитокиновая регуляция иммунных реакций при ревматоидном артрите / Свиридова В. С., Кологривова Е. Н., Пронина Н. А. [и др.] // *Цитокины и воспаление*. – 2010. – Т. 9, № 2. – С. 3-6.
84. Цитокиновый профиль и уровень гормонов щитовидной железы у пациентов с эндогенными увеитами / Зайнутдинова Г. Х., Шевчук Н. Е., Мальханов В. Б. [и др.] // *Цитокины и воспаление*. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 70-74.
85. Чернышева, Г.Г. Д-димер – тест выбора в диагностике нарушений системы гемостаза у больных с ишемической болезнью сердца / Г.Г. Чернышева, О.А. Попова, Е.Ю. Таращук // *Тромбоз, гемостаз и реология*. – 2011. – Т. 1 (45). - С. 69-76.
86. Шаробаро, В.И. Определение субпопуляционного состава клеток иммунной системы больных с язвой двенадцатиперстной кишки / В.И. Шаробаро, Р.С. Богачев, А.С. Соловьев // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. — 1999. — № 6. — С. 49—54.

87. Шварц В. Регуляция метаболических процессов интерлейкином 6 // Цитокины и воспаление. – 2009. – Т. 8, № 3. – С. 3-10.
88. Этиопатогенетические варианты абдоминальной ишемии по материалам аутопсии / С.А. Белякин, Н.Н. Рыжман, Е.П. Кохан [и др.] // Вестник Российской военно-медицинской академии. - 2012. - № 1. - С. 188-192.
89. Этиопатогенетические варианты абдоминальной ишемии по материалам аутопсии / С.А. Белякин, Н.Н. Рыжман, Е.П. Кохан [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской Академии. - 2012. - № 1(37). - С. 188-192.
90. Ярошенко, И.Ф. Поражение тонкой кишки при ее ишемии-реперфузии / И.Ф. Ярошенко, И.С. Попова, Т. Фатх // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН и Администрации Волгоградской области. — 2005. — № 1. — С. 3—6.
91. Acosta, S. Current status on plasma biomarkers for acute mesenteric ischemia / S. Acosta, T. Nilsson // J. Thromb. Thrombolysis. – 2011. – Vol. 33. – P. 355–361.
92. Acute superior mesenteric artery embolism: reperfusion with AngioJet hydrodynamic suction thrombectomy and pharmacologic thrombolysis with the EKOS catheter / U.K. Ballehaninna, A. Hingorani, E. Ascher [et al.] // Vascular. – Vol. 20. – P. 166–169.
93. Arslan, F. Innate immune signaling in cardiac ischemia / F. Arslan, D. de Kleijn, G. Pasterkamp // Nature Reviews Cardiology.- 2011.- Vol. 8.-P. 292–300.
94. Aschoff, A.J Evaluation of acute mesenteric ischemia: accuracy of biphasic mesenteric multi-detector CT angiography [Electronic resource] / A.J, Aschoff, G. Stuber, B.W. Becker // Abdom Imaging. – 2009. – Vol. 8. – P. 345–357. – Mode of access: doi: 10.1007/s00261-008-9392-8.
95. Berland, T. Acute mesenteric ischemia / T. Berland, W.A Oldenburg // Curr. Gastroenterol, - 2008. – Rep. – 10. – P.341–346.
96. Beutler B. Microbe sensing, positive feedback loops, and the pathogenesis of inflammatory diseases /B. Beutler // Immunol. Rev.— 2009.— Vol. 227.— P. 248–263.

97. Björnsson S. Thrombolysis for acute occlusion of the superior mesenteric artery / Björnsson S, Björck M, Block T. [et al.] // *J Vasc Surg.*, - 2011. - 54.- P.1734-1742.
98. Camporeale, A. IL-6, IL-17 and STAT3: a holy trinity in autoimmunity / A. Camporeale, V. Poli // *Front. Biosci.* – 2012. – Vol. 17. – P. 2306-2326.
99. Cassel, S. Sterile inflammatory responses mediated by the NLRP3 inflammasome / S. Cassel, F. Sutterwala // *Eur. J. Immunol.*- 2010.- Vol. 40, № 3.- P. 607–611.
100. Caspi, R. Autoimmunity in the immune privileged eye: pathogenic and regulatory T cells /R. Caspi // *Immunol. Res.* – 2008. – Vol. 42, № 1-3. – P. 41-50.
101. Chronic mesenteric ischemia: open surgery versus percutaneous angioplasty and stenting / K. Kasirajan, P.J. O’Hara, B.H. Gray [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 2001. – Vol. – 33. – P. 63-70.
102. Cortese B., Limbruno U. Acute mesenteric ischemia: primary percutaneous therapy / B. Cortese, U. Limbruno//*Catheter Cardiovasc Interv.* – 2010. – 75. – P. 283-285.
103. A comparison of endovascular revascularization with traditional therapy for the treatment of acute mesenteric ischemia / ZM. Arthurs, J. Titus, M. Bannazadeh [et al.] // *J Vasc. Surg.* – 2011. – Vol. 53. – P. 698-705.
104. Determinants of mortality and treatment outcome following surgical interventions for acute mesenteric ischemia / P. Kougias, D. Lau, HF. El Sayed [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 2007. – Vol. 46. – P. 467-474.
105. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin and phosphorus in acute mesenteric ischemia / K, Karabulut, M. Gul, ZD Dundar [et al.] // *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* – 2011. – Vol. 17. – P. 193–198.
106. Diagnostic value of plasma cytokine levels in acute mesenteric ischemia: an experimental study / H. Karaagaç, N. Zeybek, Y. Peker [et al.] // *Gulhane J. Med.* – 2007. – Vol.49. – P. 216-221.
107. Donath, M. Type 2 diabetes as an inflammatory Endogenous interleukin-10 inhibits angiotensin II-induced vascular dysfunction / Didion S. P., Kinzenbaw D. A., Schrader L. I. [et al.] // *Hypertension.* – 2009. – Vol. 54, № 3. – P. 619-624.

108. Emergent treatment of acute embolic superior mesenteric ischemia with combination of thrombolysis and angioplasty: report of two cases / H. Wakabayashi, T. Shiode, M. Kurose [et al.] // *Cardiovasc Intervent Radiol.* – 2004. – Vol. 27. – P. 389–393.
109. Endogenous interleukin-10 inhibits angiotensin II-induced vascular dysfunction / Didion S. P., Kinzenbaw D. A., Schrader L. I. [et al.] // *Hypertension.* – 2009. – Vol. 54, № 3. – P. 619-624.
110. Frangogiannis, N. The immune system and cardiac repair / N. Frangogiannis // *Pharmacol. Res.* - 2008.- Vol. 58.- P. 88–111.
111. Freeman, H.J. Venous thromboembolism with inflammatory bowel disease / H.J. Freeman // *World J. Gastroenterol.* - 2008. - Vol. 14, №7. - P. 991 – 993.
112. Grant, R. Mechanisms of disease: inflammasome activation and the development of type 2 diabetes / R. Grant, W. Dixit // *Front. Immunol.*- 2013.- Vol. 4.- P. 50.
113. Gupta R, Chimpiri A.R., Saucedo J.F. Superior mesenteric artery thrombosis managed percutaneously by timely combining aspiration thrombectomy with angioplasty and stents / R. Gupta, A.R. Chimpiri, J.F. Saucedo // *J Thromb Thrombolysis.*- 2010. – 29. – P. 105-107.
114. Inflammation and coagulation in inflammatory bowel disease: The clot thickens / S. Danese, A. Papa, S. Saibeni [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* - 2007. - Vol. 102. - P. 174-186.
115. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor / Moore K. W., de Waal Malefyt R., Coffman R. L. [et al.] // *Annu Rev. Immunol.* – 2001. – Vol. 19. – P. 683-765.
116. Interleukin-10 reduces inflammation, endothelial dysfunction, and blood pressure in hypertensive pregnant rats / Tinsley J. H., South S., Chiasson V. L. [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2010. – Vol. 298, № 3. – P. 713-719.
117. Is inflammatory bowel disease an independent and disease specific risk factor for thromboembolism? / W. Miehsler, W. Reinisch, E. Valic [et al.] // *Gut.* - 2004. - Vol. 53. - P. 542-548.

118. Kelsall B. Interleukin-10 in inflammatory bowel disease // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 361, № 21. – P. 2091-2093.
119. Kono, H. How dying cells alert the immune system to danger/ H. Kono, K. Rock // *Nat. Rev. Immunol.*-2008.- Vol. 8.- P.279–289.
120. Landy, J. Halothane, surgery, immunosuppression and artificial pulmonary metastases / J. Landy, E.J. Lovett, S. Hamilton // *Cancer.* – 1978. – Vol. 41. – P.827-830.
121. L-lactate after embolization of the superior mesenteric artery [Electronic resource] / S Acosta, T.K. Nilsson, J. Malina, M. Malina // *J. Surg Res.* - 2007. - 143. - P. 320–328. – Mode of access: doi: 10.1016/j.jss.2007.02.003.
122. Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease / B. Lindahl, H.Toss, A.Siegbahn [et al.] // *New Engl. J. Med.* — 2000.— Vol. 343. — P. 1139–1147.
123. Martinon, F. Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation / F. Martinon, J. Tschopp // *Cell Death Differ.*-2007.- Vol. 14.- P. 10–22.
124. Meager A. Cytokine regulation of cellular adhesion molecule expression in inflammation /A. Meager// *Cytokine and growth factor reviews.* – 1999. – Vol. 10. – P. 27-39.
125. Medzhitov R., Janeway C. A. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition /R. Medzhitov, C. A. Janeway // *Cell.* – 1997. – Vol. 91. – P. 295-298.
126. Mesenteric revascularization: management and outcomes in the United States, 1988-2006 / M.L. Schermerhorn, K.A Giles, A.D Hamdan [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 2009. – Vol. 50. – P. 341-8.
127. Morbidity and mortality after bowel resection for acute mesenteric ischemia / P.K. Gupta, B. Natarajan, H. Gupta [et al.] // *Surgery.* – 2011. – Vol. - 150. – P. 779–789.
128. Naka T., Nishimoto N., Kishimoto T. The paradigm of Il-6: from basic science to medicine /T. Naka, N. Nishimoto, T. Kishimoto // *Arthritis Res.* – 2002. – Vol. 4, suppl. 3. – P. 233-242.

129. Neutra, M.R. Antigen sampling across epithelial barriers and induction of mucosal immune responses / M.R. Neutra, E. Pringault, JP. Kraehenbuhl // *Annu Rev Immunol.* – 1996. – Vol. 14. – P. 275–300.
130. Neutrophil and monocyte adherence to and migration across monolayers of cytokine-activated endothelial cell: the contribution of CD18, ELAM-1, and VLA-4 / Hakkert B. C., Kuijpers T. W., Leeuwenberg J. F. [et al.] // *Blood.* – 1991. – Vol. 78, № 10. – P. 2721-2726.
131. Oderich, G.S. Open surgical treatment for chronic mesenteric ischemia in the endovascular era: when it is necessary and what is the preferred technique? / G.S. Oderich, P. Gloviczki, T.C. Bower // *Semin Vasc Surg.* – 2010. – 23. – P. 36-46.
132. Open versus endovascular revascularization for chronic mesenteric ischemia: risk-stratified outcomes / G.S. Oderich, T.C. Bower, T.M. Sullivan [et al.] // *J. Vasc. Surg.* – 2009. – Vol. 49. – P. 1472-9.
133. Outcomes of revascularized acute mesenteric ischemia in the American College of Surgeons National Surgical Quality Improvement Program database / W.B. 3rd Newton, M.J. SAGRANSKY, J.S. Andrews [et al.] // *Am. Surg.* – 2011. – Vol. 77. – P. 832–838.
134. Pedersen B. K. IL-6 signaling in exercise and disease /B. K. Pedersen // *Biochem. Soc. Trans.* – 2007. – Vol. 35. – P. 1295-1297.
135. Pedersen B. K., Febbraio M. A. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6 /B. K. Pedersen, M. A. Febbraio // *Physiol. Rev.* – 2008. – Vol. 88. – P. 1379-1406.
136. Pickup J. C. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes / J. C. Pickup // *Diabetes Care.* – 2004. – Vol. 27. – P. 813-823.
137. Primary percutaneous aspiration and thrombolysis for the treatment of acute embolic superior mesenteric artery occlusion / P. Heiss, B. Loewenhardt, C. Manke [et al.] // *Eur Radiol.* – 2010. – Vol. 20. – P. 2948–2958.



138. Rawat, N. Surgical or endovascular treatment for chronic mesenteric ischemia: a multicenter study / N. Rawat, C.P. Gibbons // *Ann Vasc Surg.* – 2010. – 24. – P. 935-945.
139. Schroder, K. The inflammasomes / K. Schroder, J. Tschopp // *Cell.*— 2010.— Vol. 140.— P. 821–832
140. Schilmerich J. Interleukins in acute pancreatitis /J. Schilmerich // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1996. – Vol. 219. – P. 37-42.
141. Shimanchi H., Ogawa T., Okuda K. // *Infect. and Immun.* – 1999. – Vol. 67, № 5. – P. 2153-2159.
142. Successful recanalization of acute superior mesenteric artery thrombotic occlusion with primary aspiration thrombectomy / H.J Yang, Y.K Cho, Y.J Jo [et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 16. – P. 4112–4114.
143. Stephens, J.C. Percutaneous retrograde revascularization of the superior mesenteric artery via the celiac artery for chronic mesenteric ischemia / J.C. Stephens, G. Cardenas, R.D. Safian // *Catheter Cardiovasc Interv.* – 2010. – 76. – P. 222-228.
144. Steven M. Opal, Vera A. Depalo. Anti-inflammatory cytokines // *Infect. Disease.* – 1999. Sep. – P. 95-105.
145. The correlation of the D-dimer test and biphasic computed tomography with mesenteric computed tomography angiography in the diagnosis of acute mesenteric ischemia / H. Akyildiz, A. Akcan, A. Oztürk [et al.] // *Am. J. Surg.* – 2009. – Vol. 197, № 4. – P. 429–433.
146. The CD16-/CD56bright subset of NK cells is resistant to oxidant-induced cell death / F. B. Thorén, A. I. Romero, S. Hermodsson, K. Hellstrand // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 179, №2. – P. 781–785.
147. The influence of surgical operations on components of the human immune system / T.W. Lennard, B.K. Shenton, A. Borzotta [et al.] // *Br. J. Surg.* - 1985. – Vol. 72. – P. 771-776.

148. Treatment of acute mesenteric thrombosis/ischemia by transcatheter thromboaspiration / P. Hladí'k, J. Raupach, M. Lojí'k [et al.] // Surgery. – 2004. – Vol. 137. – P. 122–123.
149. Vinten-Johansen, J. Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury / J.Vinten-Johansen // Cardiovasc. Res. — 2004. — Vol. 61. — P. 481–497.
150. Wyers, M.C. Acute mesenteric ischemia: diagnostic approach and surgical treatment / M.C. Wyers // Semin Vasc Surg. – 2010. – Vol. 23. – P. 9-20.
151. Yoshida, H. Inflammatory bowel disease: a paradigm for the link between coagulation and inflammation / H. Yoshida, D.N. Granger // Inflamm Bowel Dis. - 2009. -Vol. 15. - P. 1245-1255.
152. Zitomersky, N. N. Thrombosis and inflammatory bowel disease: a call for improved awareness and prevention / N. N. Zitomersky, M.Verhave, C. C. Trenor // Inflamm. Bowel Disease. -2011. - № 17 (1). - P. 458-470.