

Е.М. Климова
Т.И. Кордон
В.Г. Грома
Ю.В. Калашикова

ГУ «Институт общей
и неотложной хирургии»
НАМН Украины, Харьков,
Украина

Ключевые слова:

колоректальный рак, ишемия
кишечника, несостоятельность
анастомоза, эндотелин-1,
прогноз послеоперационных
осложнений.

ДИНАМИКА УРОВНЯ ЭНДОТЕЛИНА-1 И РАЗВИТИЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ, ОПЕРИРОВАННЫХ ПО ПОВОДУ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Резюме. В данном исследовании осуществлена попытка выяснения диагностической и прогностической значимости изменения содержания эндотелина-1 (ЭТ-1) в плазме крови больных, оперированных по поводу колоректального рака на фоне непроходимости толстого кишечника и его ишемии в связи с нарушением мезентериального кровообращения. Для определения концентрации ЭТ-1 использовали методы хроматографии и иммуноферментного анализа. У всех обследованных пациентов до операции выявили значительное увеличение концентрации ЭТ-1. В послеоперационный период у 31% больных при развитии необратимых осложнений (некротизирование кишечника и несостоятельность анастомоза) концентрация ЭТ-1 к 10-м суткам оставалась высокой (превышение нормы в 5–8 раз), что свидетельствует о необратимости нарушений микроциркуляции в кишечнике, возможно, за счет повышения вазоконстрикции сосудов. У 69% пациентов не отмечали развития осложнений в послеоперационном периоде, процессы ишемии были обратимыми, при этом концентрация ЭТ-1 постепенно снижалась и к 10-м суткам составила $5,8 \pm 0,6$ нг/мл, возвратившись в диапазон нормы. Динамика изменения концентрации ЭТ-1 в плазме крови указывает на обратимость метаболических нарушений, взаимосвязанных с ишемией кишечника, а также об диагностической и прогностической значимости определения этого фактора относительно риска развития послеоперационных осложнений.

ВВЕДЕНИЕ

Хирургическое вмешательство является основным методом лечения больных колоректальным раком (КРР). Несмотря на использование современных методик формирования анастомоза толстой кишки, остается высоким процент послеоперационных осложнений при его наложении в условиях ишемии кишечника в связи с нарушениями мезентериального кровообращения и некротизирования кишечника в результате его непроходимости. В раннем и позднем послеоперационном периодах отмечается целый ряд осложнений: у одних больных выявляется рубцовое перерождение соустья, у других вследствие длительной ишемии кишечника развиваются нарушения микроциркуляции, некроз и несостоятельность анастомозов. Течение процесса заживления раны и восстановление функций кишечника определяются большим количеством факторов, к которым в первую очередь относятся: обратимость процессов ишемии, метаболизм межклеточного матрикса соединительной ткани (коллагена, эластина и гликозаминогликанов), иммунофизиологические нарушения различного характера, а также техника оперативного вмешательства, длительность операции и степень кровопотери [2].

Как известно, соединительная ткань обладает большим полиморфизмом и пластичностью за счет межклеточного соединительнотканного матрикса. Еще более разнообразны клетки системы иммунитета, прямо или опосредованно взаимодействующие с клетками стромы. Основными клетками микроокружения опухолей являются фибробласты, муральные клетки, формирующие внутренний слой сосудов, и многочисленные клетки иммунной системы — нейтрофилы, макрофаги, мастоциты, участвующие в реакциях воспаления. Взаимодействие опухоли здоровой окружающей ткани и организма в целом является сложным процессом, исход которого во многом зависит от функционального состояния соединительной ткани. Существует также и метаболический аспект микроокружения опухоли, к которому относят такие патологические показатели, как внутриопухолевый кровоток, проницаемость сосудов, особенности кровотока брыжеечных сосудов. Есть основания утверждать, что существует тесная взаимосвязь между биохимическими особенностями и функциональной активностью клеток окружения опухоли, поскольку метаболические особенности могут изменять жизнеспособность и функциональную активность клеток, а они в свою очередь способны секретировать продукты, влияющие на биохимические процессы [1].

Ранее в наших исследованиях была показана роль клеточного звена иммунитета, а также нарушений обмена серосодержащих аминокислот в формировании несостоятельности толстокишечного анастомоза у пациентов, оперированных по поводу КРР. Установлено, что факторами риска развития необратимых изменений стенки кишечника у больных являются снижение содержания CD2⁺, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ Т-лимфоцитов и NK-клеток CD16⁺, повышение экспрессии маркеров цитотоксичности CD175^{s+} и CD40⁺, а также повышение содержания продуктов катаболизма коллагена — пролина и оксипролина [2, 5, 11].

Важной проблемой формирования состоятельного рубца является активность репарации тканей в зоне анастомоза. Регенерация раны является сложнейшим феноменом, в котором участвуют не только клеточные элементы соединительной ткани, но и факторы, продуцируемые сосудистым эндотелием. Одним из наиболее важных производных эндотелия является эндотелин (ЭТ). Это самый мощный вазоконстриктор кровяного русла, синтез которого усиливается при различных патологических процессах. Оксид азота и другие вещества, продуцируемые эндотелием, расширяют кровеносные сосуды, что приводит к стимулированию выработки ЭТ. Кроме вазоконстрикторного действия, ЭТ участвует в регуляции роста клеток. Сейчас известно о существовании 3 типов: ЭТ-1, ЭТ-2, ЭТ-3, которые являются продуктами 3 различных генов и имеют выраженные отличия в структуре и вазоконстрикторной активности [3, 4, 8]. После повреждения ткани эндотелиновая система реагирует первой, резко повышение уровня ЭТ-1 в плазме является маркером активности процесса деструкции. Определена достоверная значимость ЭТ в формировании рубца в ткани миокарда после инфаркта. При угрозе развития аневризмы и разрыва миокарда отмечается повышение уровня ЭТ в плазме [7, 9]. ЭТ являются диагностическими маркерами процессов инволюции, реорганизации и деструкции коллагенов и эластинов соединительной ткани рубца [6].

Сейчас ведется активный поиск новых критериев, которые позволили бы прогнозировать характер послеоперационного течения заболевания у пациентов с КРР. Важным является выяснение механизмов формирования обратимых и необратимых нарушений в ишемизированной ткани кишечника, в частности у больных с кишечной непроходимостью, обусловленной КРР. Известно, что в зависимости от характера межклеточных взаимодействий в эндотелии брыжеечных сосудов могут формироваться различные состояния, проявляющиеся либо спонтанной регенерацией кишечника в послеоперационный период и образованием рубцовой ткани с участием соединительнотканного матрикса, либо нарушениями регенерации с последующим развитием несостоятельности толстокишечных анастомозов после удаления опухоли. Эти процессы ре-

гулируются множеством факторов, определенная роль принадлежит экзометаболитам эндотелиальных клеток, в частности ЭТ-1. Определение уровня ЭТ-1 может иметь прогностическое и диагностическое значение при развитии ишемии и некроза кишечника в пред- и ранний послеоперационный периоды для определения состоятельности анастомоза в процессе его формирования.

Целью данного исследования было определение диагностической значимости изменения содержания ЭТ-1 в плазме крови у больных, оперированных по поводу КРР, на фоне непроходимости толстого кишечника и на его ишемии в связи с нарушениями мезентериального кровообращения, в пред- и послеоперационный период.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовали плазму крови 42 пациентов, оперированных по поводу КРР, в возрасте от 54 до 72 лет. Они были разделены на 2 группы: 1) пациенты, оперированные по поводу КРР, с благоприятным послеоперационным течением заболевания (29 человек); 2) больные, оперированные по поводу КРР, с несостоятельностью толстокишечного анастомоза (13 человек).

Исследования концентрации ЭТ-1 в плазме крови проводили в дооперационный период, на 2–3-и, а также 7–10-е сутки после операции. Содержание ЭТ-1 в плазме определяли с помощью тест-набора «Peninsula Laboratories, Inc». Этапы исследования включали хроматографию белков плазмы крови и последующее иммуноферментное определение содержания ЭТ-1, связывающегося со специфическими моноклональными антителами. Измерения проводили с помощью иммуноферментного анализатора «Stat Fax 3200».

Статистическую обработку данных проводили с помощью лицензионного пакета программ «Statistica». Достоверность отличий между сравниваемыми показателями определяли по критерию Стьюдента и его аналогу для непараметрических распределений — критерию Манна-Уитни. Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения динамики уровня ЭТ-1 в плазме крови пациентов в различные периоды обследования отображены на рисунке. В дооперационный период у пациентов с КРР концентрация ЭТ-1 превышала контрольную (медиану физиологических значений концентрации ЭТ-1 в плазме крови) в среднем в 5 раз ($p < 0,05$), что, возможно, обусловлено опухолевым процессом.

В послеоперационный период отмечено статистически достоверные отличия концентрации этого маркера в исследуемых группах, характеризующихся различным послеоперационным течением заболевания (рисунок). В 1-й группе больных на 2–3-и сутки после операции содержание ЭТ-1 несколько

снизилось (до $11,4 \pm 2,1$ нг/мл), а на 7–10-е сутки составило $5,8 \pm 0,6$ нг/мл ($p < 0,05$ по сравнению с дооперационным показателем), что укладывалось в диапазон нормы (0–10 нг/мл). Во 2-й группе больных с неблагоприятным послеоперационным течением в ранний послеоперационный период отмечали дальнейшее повышение концентрации ЭТ-1 (до $25,8 \pm 3,2$ нг/мл), которая удерживалась на высоком уровне и на 7–10-е сутки — $24,9 \pm 4,2$ нг/мл ($p < 0,05$ по сравнению с 1-й группой в оба периода определения ЭТ-1).

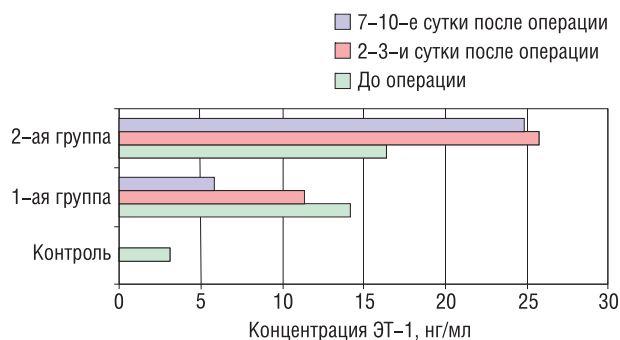


Рисунок. Показатели содержания ЭТ-1 в плазме у пациентов с КРР

Таким образом, данные статистического анализа свидетельствуют, что есть существенные достоверные отличия как абсолютных показателей, так и динамики изменения концентрации ЭТ-1 в плазме крови пациентов разных групп в послеоперационный период.

Известно, что главным стимулом образования и секреции ЭТ является ишемия или острый стресс. ЭТ, являясь мощным констриктором кровяного русла и воспалительным пептидом, вызывает увеличение количества Т-лимфоцитов в тканях и органах, что в свою очередь привлекает другие иммунокомпетентные клетки, в частности макрофаги, которые продуцируют факторы, стимулирующие воспаление и деструкцию очага, что приводит к неблагоприятному прогнозу для нормальной репарации [8, 9]. Некоторыми авторами показано, что макрофаги могут дифференцироваться в 2 субпопуляции: первые способны уничтожать опухолевые клетки, вторые — усиливать их рост [1]. Первые характеризуют как клетки с выраженными эффекторными свойствами, способные участвовать в защите и против микроорганизмов, и от малигнизированных клеток. Они активно продуцируют различные биологически активные вещества, в том числе NO. Его избыточное количество в сочетании с супероксидами приводит образованию пероксинитритов, которые нарушают функцию гемоглобина и вызывают гипоксию, нарушающую процессы регенерации ткани [10].

Поскольку ЭТ действует преимущественно местно, можно предположить, что повышение образования и поступления его в кровь может быть причиной возникновения и усугубления тяжести послеоперационного течения заболевания. Известно, что при

высокой концентрации ЭТ-1 происходит его взаимодействие со специфическим рецептором ЭТ-1А, экспрессированным на гладкомышечных клетках сосудов, следствием чего является вазоспазм; в случае низкой концентрации ЭТ-1 образуется лигандрецепторный комплекс ЭТ-1+ЭТ-1В и развивается эндотелийзависимая вазодилатация. Поэтому можно предположить, что несостоятельность толстокишечного анастомоза связана с вазоконстрикцией, возникающей при повышении концентрации ЭТ-1, и нарушающей процессы, которые обеспечивают репаративную регенерацию. Выявленное нами 8-кратное повышение концентрации ЭТ-1 в ранний послеоперационный период у пациентов с несостоятельностью анастомоза указывает, что повышение уровня ЭТ-1 может иметь прогностическое и диагностическое значение для определения состоятельности анастомоза в процессе его формирования.

ВЫВОДЫ

У всех обследованных больных КРР на фоне кишечной непроходимости, сопровождающейся ишемией кишечника в связи с нарушениями мезентериального кровообращения, до оперативного вмешательства выявлено достоверное повышение концентрации ЭТ-1 в плазме крови.

В послеоперационный период у 31% пациентов развились необратимые осложнения, проявляющиеся некротизированием кишечника и несостоятельностью анастомозов. При этом концентрация ЭТ-1 продолжала возрастать (к 10-м суткам превышала медиану нормы почти в 8 раз), что свидетельствует о необратимости нарушений микроциркуляции в кишечнике.

У 69% больных, оперированных по поводу КРР, не отмечено развития осложнений в послеоперационный период, при этом концентрация ЭТ-1 к 10-м суткам составила $5,8 \pm 0,6$ нг/мл, вернувшись в пределы физиологической нормы. Динамика изменения концентрации ЭТ-1 в плазме крови больных этой группы свидетельствует об обратимости метаболических нарушений, связанных с ишемией кишечника при КРР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бережная НМ. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли. Онкология 2009; 11 (1(39)): 6–17.
2. Бойко ВВ, Криворотько ИВ. Одно- и двухмоментное оперативное лечение осложненного местно-распространенного рака прямой кишки: факторы риска развития несостоятельности анастомозов. Вісн Вінн нац мед ун-ту 2010; 14 (1): 73–8.
3. Гозмаков ОА. Система эндотелиновых пептидов: механизмы эндovasкулярных патологий. Кардиология 2000; (1): 32–9.
4. Климова ЕМ, Криворотько ИВ, Кордон ТИ и др. Диагностическая значимость показателей иммунореактивности для прогноза несостоятельности анастомозов у больных колоректальным раком. Харківська хірург шк 2011; 1 (46): 15–20.
5. Климова ЕМ, Савви СА, Кордон ТИ и др. Роль иммунологических факторов в формировании рубцовой ткани у боль-

ных после ожогов пищевода и на экспериментальной модели. Харківська хірург шк 2009; **1** (35): 274–7.

6. **Пивовар СН.** Динамика уровня эндотелина-1 и параметров функционального состояния сердца у больных с осложненным течением инфаркта миокарда. Укр мед часопис 2000; (4): 140–3.

7. **Сидоренко БА, Масенко ВП.** Биохимия и физиология семейства эндотелинов. Кардіологія 2000; **40** (6): 78–85.

8. **Філяева ЮА, Тенчурина ТГ.** Гомеостатические особенности ангиогенных факторов при заживлении раны гипертрофическим рубцом после маммопластики. Современная наука образов 2007; (2): 73–7.

9. **Carncek P, Stewart DJ.** Immunoreactive endothelin in human plasma: marked elevation in patients in cardiovascular shock. Biochem Biophys Res Commun 1989; **161**: 562–7.

10. **Eltze E, Wild PJ, Wülfing C, et al.** Expression of the endothelin axis in noninvasive and superficially invasive bladder cancer: relation to clinicopathologic and molecular prognostic parameters. Eur Urol 2009; **56** (5): 837–45.

11. **Klimova O, Boyko V, Kryvorotko I, et al.** Prognosis criteria of insolvency of anastomosis of large intestine. 22nd Europ Congr Pathol. 4-9 September, 2009 — Florence, Italy. Eur J Patol 2009; **455**: 203.

DYNAMICS OF ENDOTHELIN-1 LEVEL AND POSTOPERATIVE COMPLICATIONS IN OPERATED PATIENTS ON COLORECTAL CANCER

*E.M. Klimova, T.I. Kordon, V.G. Groma,
J.V. Kalashnikova*

Summary. *The purpose of this research was elucidation of diagnostic and prognostic importance of change of endothelin-1 (ET-1) level in plasma of blood of patients, operated concerning a colorectal cancer (CRC) on a background of obstruction of large bowel and abdominal*

ischemia in connection with violations of mesenteric circulation of blood. For determination of concentration of ET-1 we used the methods of chromatography and ELISA-analysis. In all inspected patients before operation considerable concentration of ET-1 was detected. In a follow-up period at 31% patients are exposed by irreversible complications, showing up intestine necrosis and insolvency of anastomosis, here the concentration of ET-1 to 10 days remained high, that testifies to irreversibility of violations of microcirculation in an intestine, possibly due to the increase of vasoconstriction vessels due to the increase of concentration of ET-1. At 69% patients, operated concerning CRC, did not look after development of complications in a follow-up period, processes of ischemia were convertible, here the concentration of endothelin-1 gradually went down and to 10 days $5,8 \pm 0,6$ ng/ml. The dynamics of change the concentration of endothelin-1 in plasma of blood testifies to the presence of convertibility of metabolic processes, associate with the abdominal ischemia in connection with violations of mesenteric circulation of blood at a CRC.

Key words: colorectal cancer, abdominal ischemia, intestinal impassability, endothelin-1, prognosis of follow-up complications.

Адрес для переписки:

Климова Е.М.
61018, Харьков, ул. Въезд Балакирева, 1,
ГУ «Институт общей и неотложной
хирургии» НАМН Украины
E-mail: klimova_elena@list.ru