

КУРАШИНОВА ЛИАНА СУЛТАНОВНА

**ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ
СТРАНГУЛЯЦИОННОЙ ТОНКОКИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ**

3.1.9. Хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук

Тягунов Александр Евгеньевич

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор

Кригер Андрей Германович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, хирургическое отделение абдоминальной онкологии, старший научный сотрудник

Доктор медицинских наук, профессор

Ярцев Пётр Андреевич

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» Департамента здравоохранения города Москвы, отделение неотложной хирургии, эндоскопии и интенсивной терапии, заведующий

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «___» _____ 2023 года в 14:00 часов на заседании Диссертационного совета 21.2.058.08 на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1; и на сайте: www.rsmu.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Хашукоева Асият Зульчифовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Странгуляционная кишечная непроходимость является самой опасной формой кишечной непроходимости, для которой характерна ишемия кишечной стенки вследствие внезапного сдавления мезентериальных сосудов. В качестве наиболее частых причин странгуляции указывается ущемленная грыжа и спаечная кишечная непроходимость (Saverio S.D. et al., 2013; Ярцев П.А. и др., 2019). Пациентам со странгуляционной непроходимостью рекомендуется немедленное оперативное лечение (Costa G. et al., 2016; Кригер А.Г., 2017), однако из-за низкой точности диагностики операция задерживается у 15-30% пациентов (Ярцев П.А. и др., 2018; Matsushima K. et al., 2019). С другой стороны, из-за гипердиагностики странгуляции пациентам со спаечной непроходимостью часто выполняются неоправданно ранние операции, хотя большинство из них нуждается только в консервативном лечении, что увеличивает частоту осложнений и летальность (Keenan J. E. et al., 2014; Хавкин А.И. и др., 2021). Таким образом, проблема точного определения пациентов, нуждающихся в ранней операции, решена только отчасти (Шаповальянц С. Г. и др., 2013; Сигуа Б.В. и др., 2020).

Для диагностики странгуляционной непроходимости применяется клиническая, лабораторная и инструментальная диагностики. Информативность клинических данных и лабораторных анализов для диагностики интестинальной ишемии – странгуляции составляет не более 40-50%. Рекомендуемые к применению лабораторные анализы – уровень лейкоцитов, лактат, амилаза плазмы крови демонстрируют низкую специфичность для интестинальной ишемии (Broekten R. P. et al., 2018; Атаян А.А. и др., 2019). В качестве наиболее точного метода диагностики интестинальной ишемии указывается мультиспиральная компьютерная томография (Кошелев Э. Г. и др., 2018), чувствительность и специфичность которой составляет 73–95%, однако точность зависит от уровня специалистов лучевой диагностики и оборудования (Kittaka H. et al., 2014; Хабаева М.Т. и др., 2020).

Степень разработанности темы исследования

В течение нескольких десятилетий предпринимаются попытки диагностики ишемии тонкой кишки с помощью биологических маркеров, многие из которых показали «полезность», однако ни один из них не применяется в клинической практике (Nuzzo A. et al., 2017; Чернооков А. И. и др., 2018).

В качестве маркера ишемии мышечной оболочки кишечной стенки указывается белок гладких мышц – SM22 (Smooth muscle protein of 22 kDa, англ.), максимальная экспрессия которого в плазме крови, совпадает с трансмуральным повреждением кишечной стенки (Schellekens D. H. et al., 2018). Однако, исследований метаболизма маркера при кишечной непроходимости в доступной литературе нет.

В отличие от SM22 – гипотетического маркера повреждения мышечной оболочки, в качестве маркера слизистой оболочки кишечной стенки большое внимание уделяется кишечной фракции белка, связывающего жирные кислоты, I-FABP

(intestinal-type fatty acid-binding protein) (Sun D. L. et al., 2016; Костина О.В. и др., 2020). I-FABP содержится в энтероцитах ворсинок слизистой тонкой кишки, которые при ишемии повреждаются в первую очередь, что сопровождается увеличением экспрессии маркера в сыворотке крови и других биологических жидкостях (Matsumoto S. et al., 2014; Хавкин А.И. и др., 2021). Несмотря на теоретическое обоснование и продолжающиеся экспериментальные и клинические исследования, вопрос применения данного маркера в клинике далек от решения. (Wijck van K. et al., 2013; Nuzzo A. et al., 2021).

Недостаточно исследована специфичность, чувствительность, а также влияние на экспрессию вышеуказанных маркеров продолжительности странгуляции, длины ишемизированной петли кишки, изменений приводящей кишки, что может быть детально исследовано только в экспериментальных исследованиях, что и послужило основанием для проведения данного исследования.

Цель исследования

В эксперименте исследовать прогностическое значение рутинных и перспективных биологических маркеров для диагностики странгуляционной тонкокишечной непроходимости.

Задачи исследования

1. На основании анализа выживаемости экспериментальных животных, сравнительной динамики уровня маркеров плазмы крови и морфологических изменений кишечной стенки стандартизировать методику 12-часовой странгуляционной и обтурационной тонкокишечной непроходимости в эксперименте на крысах
2. Исследовать 12-часовую динамику морфологических изменений стенки тонкой кишки при экспериментальной странгуляционной и обтурационной тонкокишечной непроходимости
3. Исследовать и сопоставить с морфологическими изменениями экспрессию SM22 в мышечной оболочке тонкой кишки при 12-часовой экспериментальной тонкокишечной непроходимости
4. Изучить динамику и диагностическую ценность рутинных лабораторных маркеров (лейкоцитоза, СРБ, КФК, ЩФ, АСТ, АЛТ, Са²⁺, L-лактата) крови крыс при экспериментальной кишечной непроходимости
5. Исследовать и сопоставить с морфологическими изменениями динамику экспрессии I-FABP; установить чувствительность, специфичность и пороговые значения I-FABP в крови крыс при экспериментальной кишечной непроходимости.

Научная новизна

Установлено, что маркеры, применяющиеся в клинической практике (лейкоцитоз, лактат, С-реактивный белок и др.), обладают низкой специфичностью для диагностики странгуляционной кишечной непроходимости.

Показана корреляция экспрессии белка SM22 и степени морфологических изменений мышечной оболочки кишечной стенки при странгуляционной кишечной непроходимости.

В 12-часовом эксперименте установлена высокая точность I-FABP для диагностики странгуляционной кишечной непроходимости, в частности, чувствительность и специфичность маркера при пороговом значении (cut-off) 5,148 нг/мл составила 83,33% и 85,19% соответственно.

В экспериментальном исследовании определена зависимость экспрессии I-FABP от морфологических изменений кишечной стенки при обтурационной и странгуляционной тонкокишечной непроходимости.

Теоретическая и практическая значимость работы

На основании проведенного экспериментального исследования впервые в России дана оценка традиционным и перспективным лабораторным тестам в диагностике ишемии тонкой кишки при странгуляционной тонкокишечной непроходимости. Предложена воспроизводимая модель экспериментальной кишечной непроходимости. Созданы предпосылки для экспериментальных исследований диагностических возможностей SM22 при кишечной непроходимости. Детально исследована динамика I-FABP в 12-часовом эксперименте при странгуляционной и обтурационной непроходимости в соотношении с морфологическими изменениями кишечной стенки. Установлены факторы снижения специфичности маркера для диагностики странгуляции в эксперименте, как основание для дальнейших экспериментальных и клинических исследований маркеров.

Методология и методы исследования

Для решения поставленных научных задач проведено экспериментальное исследование на кафедре факультетской хирургии №1 ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский университет имени Н. И. Пирогова (зав. кафедрой – д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, Сажин Александр Вячеславович). У 40 животных (крыс) в эксперименте продолжительностью 12 часов создана обтурационная или странгуляционная непроходимость. У экспериментальных животных исследован уровень биологических маркеров, в том числе, I-FABP в плазме крови.

Результаты исследования оценены методами параметрической статистики. Сравнение зависимых переменных внутри одной группы проводили с помощью теста Фридмана. Для сравнения групп использовался непараметрический критерий Манна – Уитни и ROC-анализ. После выведения животных из эксперимента исследовано соотношение динамики морфологических изменений в кишечной стенке и уровня маркеров в плазме крови (I-FABP), а также уровня экспрессии SM22 в кишечной стенке.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В 12-часовом эксперименте динамика маркеров плазмы крови: лейкоцитоза, С-реактивного белка, L-лактат показала низкую специфичность для странгуляционной непроходимости.

2. I-FABP продемонстрировал самую высокую чувствительность и специфичность (83,33% и 85,19% соответственно) для странгуляционной кишечной непроходимости среди исследованных маркеров.

3. Обратимые морфологические изменения слизистой оболочки при нестрангуляционной кишечной непроходимости являются причиной снижения специфичности I-FABP при странгуляционной кишечной непроходимости.

4. Экспрессия SM22 в мышечной оболочке отражает степень ишемического повреждения кишечной стенки.

Степень достоверности результатов исследования

Проведено экспериментальное исследование (40 крыс), одобренное локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Животные содержались в условиях, соответствующих ГОСТ 33216-2014 и ГОСТ 33215-2014. Методики выполнения оперативного вмешательства, забора крови и анестезии животных соответствовали медицинским стандартам, с использованием сертифицированного хирургического оборудования, расходного материала и препаратов для анестезии. Проводилось фотопротоколирование всех этапов оперативных вмешательств. Полученные лабораторные анализы и гистологические пробы хранились в соответствии с инструкциями по хранению образцов крови и гистологического материала. Лабораторные измерения выполнялись слепым методом, на сертифицированном оборудовании с использованием лабораторных реактивов для экспериментальных животных. Гистологическое и иммуноферментное исследование также проведено слепым методом, препараты оценивали согласно принятым классификациям и шкалам. Статистический анализ проведён с использованием статистического пакета Statistica StatSoft 13.0. Размер выборки достаточен для использования чувствительных параметрических методов исследования.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены и обсуждены на: Национальном хирургическом конгрессе – 2022 и на XIV Съезде хирургов России 25–27 ноября 2022 года.

Апробация диссертационной работы состоялась на совместной научно-практической конференции сотрудников кафедры факультетской хирургии № 1 лечебного факультета и кафедры анестезиологии и реаниматологии ФДПО Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и коллектива сотрудников хирургических отделений ГБУЗ «ММКЦ «Коммунарка»» ДЗМ от «12» сентября 2022 года, протокол № 2.

Личный вклад автора

Автор принимала непосредственное участие в планировании научной работы, разработке эксперимента и ее реализации (выполнение оперативных вмешательств на животных, сбор биологического материала). Провела анализ и интерпретацию лабораторных и гистологических данных, их систематизацию. Автор описала полученные данные, написала и оформила основные публикации по теме диссертации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют формуле специальности 3.1.9 Хирургия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования, а именно пунктам 1 и 4 паспорта специальности «Хирургия».

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные практические данные: чувствительность, специфичность лабораторных анализов крови, для диагностики странгуляционной тонкокишечной непроходимости, внедрены в лечебную практику хирургических, отделений ГБУЗ Городской клинической больницы № 1 имени Н. И. Пирогова ДЗМ, ГБУЗ Московского многопрофильного клинического центра «Коммунарка» ДЗМ.

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе при подготовке студентов, ординаторов и аспирантов на кафедре факультетской хирургии № 1 лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 3 работы, из них 2 в рецензируемых изданиях, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 113 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, 2 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического указателя литературы, включающего 183 источника, из них 36 русскоязычных авторов, 147 – иностранных. Иллюстративный материал представлен 22 таблицами и 22 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Экспериментальная работа выполнена на кафедре факультетской хирургии № 1 лечебного факультета РНИМУ им. Н. И. Пирогова (зав. кафедрой – член-корреспондент РАН, проф., д.м.н. Сажин А.В.). Для изучения прогностической точности биологических маркеров странгуляционной кишечной непроходимости было проведено экспериментальное исследование на 40 животных – крысах линии Wistar (экспериментальное исследование произведено совместно с зав. отделом экспериментальной хирургии, д.м.н. Ануровым М.В. в виварии РНИМУ им. Н. И. Пирогова). В ходе основного этапа исследования проведено сравнение динамики и диагностической точности лейкоцитоза, креатинфосфокиназы, С-реактивного белка, L-лактата и I-FABP для странгуляционной кишечной непроходимости. Лабораторные анализы проведены в научно-испытательном центре РНИМУ им. Н. И. Пирогова (директор научно-испытательного центра, доцент, д.х.н. Негребецкий В.В.). В дальнейшем динамика маркеров была сопоставлена с морфологическими изменениями кишечной стенки. На этапе морфологического исследования с помощью иммуногистохимического анализа изучена и сопоставлена с изменениями кишечной стенки динамика экспрессии SM22 в мышечной оболочке кишечной стенки

(гистологическое исследование проведено в ФГБНУ «Научно-исследовательском институте морфологии человека», директор – член-корреспондент РАН, проф., д.м.н. Михалева Л.М.).

В ходе оперативных вмешательств у животных создавали обтурационную (n = 12) или странгуляционную (n = 25) кишечную непроходимость. Экспериментальные животные случайным образом были разделены на четыре группы:

Группа I – O, обтурационная кишечная непроходимость (n = 12).

Группа II – S, «короткая» странгуляционная непроходимость (n = 13).

Группа III – SL, «длинная» странгуляционная непроходимость (n = 12).

Группа IV – K, контрольная группа (n = 3).

Для создания странгуляционной непроходимости петлю тонкой кишки вместе с брыжейкой изолировали путем лигирования, вследствие чего были блокированы мезентериальный кровоток и проходимость кишечника. Группы странгуляционной непроходимости (S и SL) отличались по длине изолированной петли: в группе S ее длина составила 9–11 см, в группе SL – 18 см. В группе O, по аналогии с группой странгуляционной непроходимости, кишка лигирована в двух точках, расположенных на расстоянии 16–19 см, но без брыжейки, вследствие чего была нарушена проходимость кишечника с сохранением мезентериального кровотока. В группе K выполняли только лапаротомию. Выполнен забор крови для общего, биохимического и иммуноферментного анализа крови и препаратов тонкой кишки для морфологического и иммуногистохимического исследования на экспрессию SM – 22 через 0, 2, 4, 6, 8 и 12 часов от начала эксперимента. Для морфологического исследования проведен забор изолированной и приводящей кишки, степень ишемических изменений которых оценивали по классификации Park – Chiu (Chiu C. J. et al., 1970):

0 Grade – нормальная слизистая оболочка

1 Grade – отек верхушек ворсинок

2 Grade – отек собственной пластинки

3 Grade – нарастание отека и инфильтрации собственной пластинки

4 Grade – массивный подъем по бокам ворсинок, некроз части верхушек ворсин

5 Grade – некроз и слущивание ворсинок, полнокровие сосудов

6 Grade – распад собственной пластинки и повреждение подслизистого слоя

7 Grade – инфаркт слизистого и подслизистого слоя

8 Grade – трансмуральный инфаркт.

Для оценки иммуногистохимической реакции использована гистохимическая шкала HS (Histochemical Score). Метод заключается в подсчете следующей формулы:

$$HS = \sum P(i)i, \quad (1)$$

где i – интенсивность окрашивания, выраженная в баллах: 0 – нет окрашивания, 1 – слабое окрашивание, 2 – умеренное окрашивание, 3 – интенсивное окрашивание;

$P(i)$ — процент клеток, окрашенных с разной интенсивностью.

Максимальное значение HS соответствует 300 баллам.

Статистическая обработка данных проведена с помощью статистического пакета Statistica StatSoft 13.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе эксперимента погибло 11 (25,6%) животных. В группах О и S погибло по одному животному, в группе SL – 9. Таким образом, странгуляция с ущемлением «длинной» петли (18 см) статистически значимо отличалась от ущемления «короткой» петли кишки (9 см) [$p = 0,0036$].

Результаты морфологического исследования

В группах животных со *странгуляционной* непроходимостью для гистологической оценки степени повреждения было исследовано 20 препаратов кишечной стенки. Были установлены следующие изменения (степень ишемического повреждения указана по классификации Park – Chiu, 1970):

1. Ко второму часу эксперимента обнаружены ишемические изменения, соответствующие G4–G8, хотя трансмуральное повреждение занимало не более 20% площади препаратов кишечной стенки

2. К четвертому часу установлено нарастание глубины повреждения слизистой. Уровень повреждения соответствовал G6–G8. Увеличение площади трансмурального повреждения не установлено (Рисунок 1.3)

3. К шестому часу в обеих группах странгуляционной непроходимости установлен некроз всей слизистой оболочки, что в сочетании с трансмуральным повреждением соответствовало G7–G8, хотя площадь трансмурального повреждения в разных препаратах отличалась, занимая от 15 до 95% (один препарат G8 – 95%).

4. К восьми и двенадцати часам на фоне тотального некроза слизистой оболочки площадь трансмурального повреждения не увеличилась значительно, за исключением единственного препарата животного группы SL, у которого к 12 часам установлен трансмуральный некроз 80% препарата (Рисунок 1.4).

Таким образом, в группе странгуляционной непроходимости в течение первых 2–4 часов установлено разрушение слизистой в 100% исследованных препаратов. Очаговое трансмуральное поражение установлено, начиная со 2-го часа эксперимента. Тотальное трансмуральное поражение, занимавшее 80 – 95% площади, обнаружено только в двух препаратах (на 6 и 12 часах, один – S, один – SL), что составило 10% исследованных препаратов.

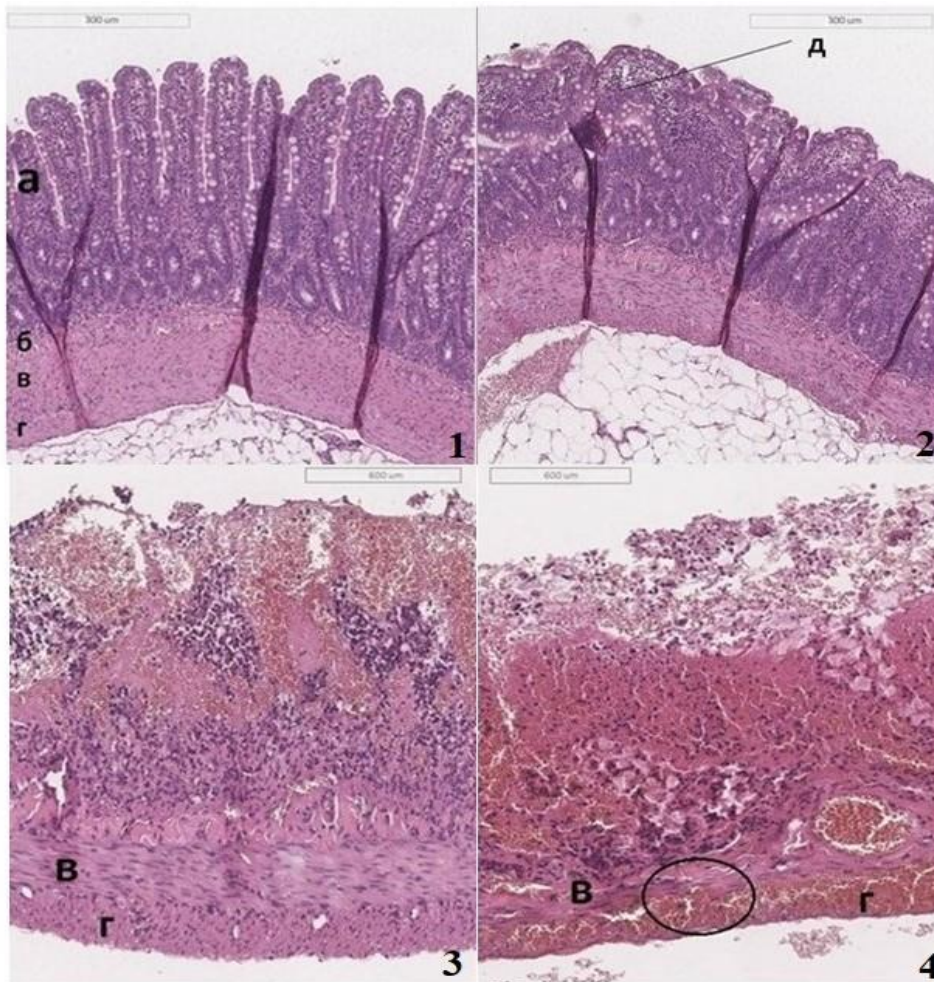


Рисунок 1 – Микрофотографии приводящей петли при обтурационной непроходимости

Примечание: а – слизистый слой, кишечные ворсины; б – подслизистый слой; в – внутренний (циркулярный) мышечный слой; г – наружный (продольный) мышечный слой; д – отек вершушек ворсин. **1** – длительность непроходимости 4 часа. **2** – длительность непроходимости 12 часов. Увеличение $\times 40$, шкала 300 нм. Окраска гематоксилин-эозином. **3, 4:** Микрофотографии участков ущемленной петли тонкой кишки при странгуляционной кишечной непроходимости: **3** – длительность ишемии 4 часа, **4** – длительность ишемии 12 часов, выделен участок трансмурального некроза мышечного слоя. Увеличение $\times 200$, шкала 600 нм. Окраска гематоксилин-эозином.

В группе обтурационной непроходимости было исследовано 22 препарата: 11 – приводящей петли кишки, 11 – изолированной петли кишки. Большинство препаратов кишечной стенки, независимо от времени эксперимента имели нормальное гистологическое строение. В 4-х препаратах обнаружены однотипные изменения в виде отека вершушек ворсин. Данные изменения обнаружены в трех (27%) препаратах приводящей петли кишки на 4 (1 из 4 препаратов) и 12 часах (2 из 5 препарата) и одном (из 5) препарате изолированной петли кишки на 12 часах. В указанных препаратах верхушки ворсин выглядели булавовидно утолщенными за счет расширения субэпителиального пространства (Грюнхагена), что соответствовало уровню

повреждения G1 (Рисунок 1). Необходимо отметить ограничения исследования по возможности установления частоты встречаемости данного признака, т. к. количество препаратов, исследованных в разных временных точках, отличалось от 1 (6 и 8 часов) до 5 (12 часов).

На основании гистологического исследования установлены две важные особенности, имеющие значение для объяснения динамики тканеспецифичных маркеров:

Во-первых, все изменения при странгуляционной непроходимости носили в большей или меньшей степени мозаичный характер, когда наряду некроза кишечной стенки чередовались с полностью или относительно жизнеспособными участками.

Во-вторых, при нестрангуляционной непроходимости в части препаратов, преимущественно в конце эксперимента, обнаружены участки повреждения верхушек ворсин, что может иметь важное значение для объяснения динамики маркеров при нестрангуляционной непроходимости.

Результаты иммуногистохимического исследования SM22

Результаты иммуногистохимического исследования показали прогрессирующее снижение экспрессии SM22 в мышечной оболочке, начиная с 4-го часа странгуляционной кишечной непроходимости, что в целом соответствовало результатам морфологического исследования. Показатели экспрессии маркера (HS) снизились со 190–200 до 50–90 к 12-му часу эксперимента, т. е. примерно в 2–4 раза. На рисунке 2 представлена микрофотография иммуногистохимического исследования.

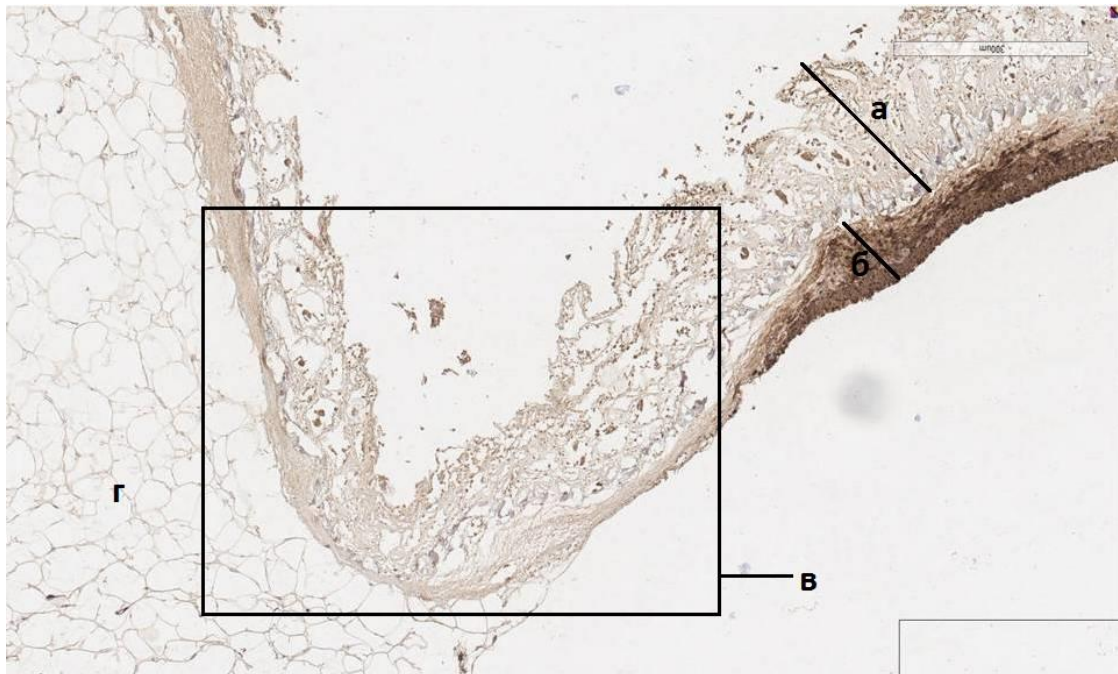


Рисунок 2 – Микрофотография участка ишемизированной кишки, экспериментальная странгуляционная непроходимость длительностью 8 часов. Увеличение $\times 100$, шкала 600 нм. Иммуногистохимическое исследование

Примечание: а – разрушенная слизистая оболочка; б – мышечный слой; в – трансмуральный очаг некроза стенки кишки; г – брыжейка; в – снижение интенсивности экспрессии SM22 в стенке кишки, вплоть до полного отсутствия его в зоне некроза, хотя, на отдельных участках накопление красителя очень интенсивное

В недавней работе (Schellekens D. H. et al., 2018) динамика экспрессии маркера при мезентериальной ишемии представлена в виде равномерного снижения интенсивности окрашивания препаратов на SM22. В нашем исследовании экспрессия SM22, как и трансмуральное повреждение кишечной стенки при гистологическом исследовании, носило мозаичный характер, из-за чего даже к 12-му часу эксперимента в стенке кишки сохранялись участки мышечной стенки, интенсивно накапливающие маркер. Отсутствие экспрессии маркера соответствовало трансмуральному повреждению кишечной стенки, установленному при морфологическом исследовании.

При обтурационной непроходимости экспрессия маркера в мышечной оболочке находилась в диапазоне 170–200 (HS) и не зависела от продолжительности непроходимости.

Таким образом, начиная с 4-го часа странгуляционной кишечной непроходимости, экспрессия SM22 в мышечной оболочке кишечной стенки прогрессивно снижалась и была значительно меньше, чем при обтурационной непроходимости. К 12-му часу странгуляционной непроходимости ишемическое повреждение кишечной стенки носило мозаичный характер (Рисунок 2).

Отсутствие экспрессии маркера в мышечной оболочке соответствовало необратимому повреждению кишечной стенки, установленному при гистологическом исследовании.

Результаты исследования, во-первых, позволяет рассчитывать на детекцию повышенной экспрессии маркера в биологических жидкостях, что требует дополнительных исследований.

Во-вторых, динамика экспрессии SM22 в кишечной стенке коррелировала с тяжестью ишемического повреждения, что, наряду с морфологическим исследованием, может быть использовано в качестве объективного метода диагностики необратимого ишемического повреждения кишечной стенки при странгуляционной непроходимости.

Результаты лабораторных исследований

В контрольной группе статистически значимых изменений во всех исследуемых лабораторных анализах выявлено не было, таким образом, влияния операционной травмы на уровень маркеров не установлено.

В Таблице 1 представлены результаты уровня лейкоцитов в экспериментальных группах, в Таблице – 2 отображена концентрация С-реактивного белка в эксперименте, динамика креатинфосфокиназы представлена в Таблице 3, динамика уровня L-лактата и I-FABP соответственно, в Таблицах 4 и 5.

Таблица 1 – Динамика лейкоцитоза ($10^9/\text{л}$) в течении 12-часового эксперимента по группам

Время, в часах	Группы экспериментальных животных			
	О	S	SL	К
0 часов	8,89±3,42 8,43 [7,79; 11,35]	10,52±2,58 10,58 [8,53; 2,52]	9,03±4,15 7,17 [6,21; 13,56]	10,11±2,67 10,1 [8,22; 12]
2 часа	10,84±2,55 11,52 [9,16; 2,51]	10,08±4,26 8,94 [7,54; 12,63]	10,36±2,65 9,05 [8,93; 12,28]	
4 часов	9,91±1,82 10,72 [8,90; 0,91]	12,27±2,79 11,62 [10,35; 4,19]	11,93±2,95 13,14 [10,05; 13,82]	
Критерий Фридмана, p	0,779	0,472	0,368	
6 часов	12,11±1,87 12,48 [10,41; 13,78] p = 0,391 (4ч. vs 6ч.)	11,59±0,94 11,67 [10,97; 12,21]	13,15±1,86 12,49 [12,08; 14,82] p = 0,713 (4ч. vs 6ч.)	10,46±4,78 10,5 [7,08; 13,84]
8 часов	11,99±1,69 11,3 [10,68; 13,73]	13,24±2,68 13,87 [11,15; 15,34]	17,34 (n = 1)	
12 часов	12,43±3,1 12,48 [11,94; 15,09]	14,17±2,1 14,69 [12,76; 15,59]	19,66 (n = 1)	8,64±2,43 8,6 [6,92; 10,36]
Критерий Фридмана, p	0,449	0,472	N.S.	0,223

Во всех группах, за исключением контрольной, наблюдался рост уровня лейкоцитов крови с увеличением срока «заболевания», хотя статистически значимых отличий внутри групп не выявлено ($p = 0,779$, $0,472$ и $0,368$ соответственно в группах О, S, SL). Наиболее значительное увеличение показателя уровня лейкоцитов (более чем в 2 раза) произошло к 12 часам в группе SL у единственного выжившего животного (статистическая обработка данных была невозможна).

Таблица 2 – Динамика С-реактивного белка (нг/мл) в течении 12-часового эксперимента по группам

Время, в часах	Группы экспериментальных животных			
	О	S	SL	К
0 часов	0,91±0,18 0,94 [0,93; 0,96]	0,78±0,18 0,77 [0,64; 0,92]	0,77±0,15 0,79 [0,60; 0,88]	1,00±0,19 1,0 [0,87; 1,13]
2 часа	0,76±0,11 0,82 [0,71; 0,82]	0,98±0,16 0,94 [0,87; 1,08]	0,76±0,10 0,77 [0,71; 0,78]	
4 часов	0,91±0,13 0,87 [0,82; 1,01]	0,76±0,12 0,82 [0,70; 0,83]	0,73±0,09 0,70 [0,67; 0,79]	
Критерий Фридмана, p	0,627	0,549	0,779	

Продолжение таблицы 2

Время, в часах	Группы экспериментальных животных			
	О	S	SL	К
6 часов	0,81±0,22 0,88 [0,76; 0,94] p = 0,712 (4ч. vs 6ч.)	0,81±0,08 0,79 [0,74; 0,88] p = 0,772 (4ч. vs 6ч.)	0,83±0,16 0,81 [0,79; 0,93] p = 0,391 (4ч. vs 6ч.)	0,82±0,03 0,82 [0,79; 0,84]
8 часов	0,81±0,12 0,76 [0,71; 0,82]	0,74±0,12 0,78 [0,67; 0,82]	0,74 (n = 1)	
12 часов	0,93±0,12 0,92 [0,86; 1,02]	0,85±0,16 0,80 [0,75; 0,95]	0,93 (n = 1)	0,59±0,05 0,59 [0,56; 0,63]
Критерий Фридмана, p	0,247	0,472	N.S.	0,135

Во всех группах, в течение эксперимента концентрация С-реактивного белка достоверно не изменилась, что указывает на невозможность использования данного маркера в качестве критерия хирургической тактики в течение 12 часов от начала кишечной непроходимости.

Таблица 3 – Динамика креатинфосфокиназы (КФК, Ед/мл) в течении 12-часового эксперимента по группам

Время, в часах	Группы экспериментальных животных		
	О	S	SL
0 часов	263,8±102,5 233 [183,6; 363,8]	233,9±135,9 238,4 [129,3; 338,6]	275,5±138,6 311,8 [185,4; 382,4]
2 часа	1119,9±719,6 1120 [573; 1584,5]	652,1±159,8 629,4 [535,7; 768,4]	1268,2±732,7 1221,3 [687,7; 1696,8]
4 часов	1080,7±514,3 1100,4 [1081; 1190]	1219,3±651,3 990,4 [790,9; 1647,8]	1462,1±362,4 1404,4 [1336,4; 1462]
Критерий Фридмана, p	0,074	0,039	0,009
6 часов	930,19±1199,71 560 [262; 597,4] p = 0,296 (4ч. vs 6ч.)	1058,23±650,69 822,7 [682,7; 1433,75] p = 0,433 (4ч. vs 6ч.)	1290,9±1028,32 1024,45 [532,35; 2049,45] p = 0,535 (4ч. vs 6ч.)
8 часов	724,74±483,75 636 [513,3; 809,1]	868,98±457,48 912,5 [483,7; 1254,25]	783,9 (n = 1)
12 часов	675,2±310,2 382,2 [459,8; 900]	859,8±50,61 874,9 [824,15; 895,45]	740 (n = 1)
Критерий Фридмана, p	0,819	1	N.S.

Уровень общей креатинфосфокиназы в течение эксперимента увеличивался во всех группах, с пиком концентрации через 4 часа в группах странгуляции и через 2 часа в группе обтурационной непроходимости.

Данные изменения следует рассматривать как неспецифические, возможно, вследствие операционной травмы (стресса).

Креатинфосфокиназа не показала специфичности для мезентериальной ишемии.

Таким образом, креатинфосфокиназа, как маркер, не показала специфичности для мезентериальной ишемии. Пиковое кратное повышение концентрации маркера через 4 часа экспериментальной непроходимости с последующим снижением до значений, в 2–4 раза превышающие исходные показатели в период до 12 часов, следует рассматривать как неспецифические изменения, возможно, вследствие операционной травмы.

Таблица 4 – Динамика лактата (L-лактат, моль/л) в течении 12-часового эксперимента по группам

Время, в часах	Группы экспериментальных животных			
	О	S	SL	К
0 часов	0,73±0,21 0,82 [0,40; 1,07]	0,91±0,10 0,90 [0,87; 0,94]	0,70±0,21 0,73 [0,52; 0,78]	0,68±0,07 0,68 [0,64; 0,73]
2 часа	2,57±0,48 2,62 [2,17; 2,97]	2,58±0,35 2,4 [2,4; 2,75]	4,55±1,67 4,11 [3,94; 5,52]	
4 часов	2,35±0,34 2,31 [2,08; 2,62]	3,15±0,10 3,2 [3,10; 3,20]	4,56±2,02 3,92 [3,10; 6,02]	
Критерий Фридмана, р	0,049	0,039	0,049	
6 часов	3,54±1,08 3,85 [2,78; 4,15] p = 0,111 (4ч. vs 6ч.)	5,36±0,79 5,74 [4,95; 5,76] p = 0,03 (4ч. vs 6ч.)	5,14±2,4 4,03 [3,4; 6,07] p = 0,540 (4ч. vs 6ч.)	0,74±0,13 0,77 [0,64; 0,85]
8 часов	4,03±1,6 4,9 [2,55; 5,17]	6,35±0,14 6,34 [6,26; 6,44]	5,88 (n = 1)	
12 часов	4,52±1,547 5,49 [3,44; 5,63]	6,67±0,36 6,7 [6,37; 6,97]	6,7 (n = 1)	0,79±0,19 0,79 [0,64; 0,95]
Критерий Фридмана, р	0,041	0,039	N.S.	0,529

У животных каждой группы, за исключением контроля, установлено нарастание уровня L-лактата в зависимости от длительности эксперимента. Несмотря на статистически значимое увеличение каждые 2–4 часа в группах, более крутые кривую прироста в группах странгуляции и статистически значимые отличия между группами обтурации и странгуляции в отдельные временные промежутки (2 часа) (Таблица 4), практическое применение маркера с целью дифференциальной диагностики форм непроходимости представляется невозможным – абсолютные значения маркера в группах отличались несущественно, а разброс данных был значительным.

На основании данных нашего исследования, L-лактат нельзя рассматривать иначе, как неспецифический маркер неблагополучия без возможности таргетного применения для диагностики ишемии.

Таблица 5 – Динамика (I-FABP, нг/мл) в течении 12-часового эксперимента по группам

Время, в часах	Группы экспериментальных животных			
	O	S	SL	K
0 часов	0,34±0,13 0,29 [0,24; 0,34]	0,81±0,48 0,79 [0,45; 1,17]	0,36±0,14 0,36 [0,21; 0,43]	0,59±0,26 0,56 [0,40; 0,79]
2 часа	1,52±1,61 0,90 [0,47; 2,57]	3,05±1,87 2,18 [2,02; 4,07]	4,58±2,15 5,52 [2,67; 5,66]	
4 часов	3,29±3,95 1,73 [0,91; 5,67]	8,57±1,54 8,43 [7,26; 9,88]	9,25±1,58 9,58 [9,25; 10,36]	
Критерий Фридмана, p	0,105	0,018	0,007	
6 часов	1,36±0,64 1,49 [1,37; 1,71] p = 0,713 (4ч. vs 6ч.)	7,15±0,34 7,17 [6,85; 7,44] p = 0,312 (4ч. vs 6ч.)	10,83±3,57 10,19 [8,20; 14,14] p = 0,676 (4ч. vs 6ч.)	0,74±0,51 0,49 [0,48; 0,99]
8 часов	1,06±0,48 1,31 [0,89; 1,32]	8,36±1,08 8,59 [7,63; 9,09]	13,21 (n = 1)	
12 часов	5,24±3,08 5,34 [4,6; 7,31] p = 0,021 vs, 0 ч	9,60±0,61 9,43 [9,14; 10,06]	10,74 (n = 1)	1,31±0,98 1,16 [0,49; 2,13]
Критерий Фридмана, p	0,074	0,038	N.S.	0,751

В контрольной группе (K) концентрация I-FABP оставалась на одном уровне в течение всего эксперимента (p = 0,751). В остальных группах концентрация маркера линейно зависела от времени с максимальной скоростью прироста показателя в группах странгуляции.

Результаты межгруппового (группы O и групп странгуляции S + SL) сравнения уровня маркеров: лейкоцитоза, L-лактата и I-FABP в 12-часовом эксперименте представлена в Таблице 6.

Таблица 6 – Значимость отличий уровня I-FABP, L-лактата и лейкоцитоза в группах обтурационной и странгуляционной непроходимости (S+SL) по часам; Mann – Whitney U-test, p

<i>Время, в часах</i>	<i>U-test (p)</i>		
	I-FABP	L-лактат	Лейкоцитоз
0	0,3913	0,9025	0,4624
2	0,0449	0,0308	0,1649
4	0,0272	0,1742	0,8651
6	0,0027	0,6407	0,0388
8	0,0090	0,6015	0,9168
12	0,0090	0,4647	0,7540
Интервал 0–12 часов	< 0,001	0,3551	0,0484

Нами установлено, что в группах странгуляционной кишечной непроходимости в интервале от 0 до 12 часов отмечалась следующая динамика маркеров. В обеих группах (S и SL):

- не установлен статистически значимый рост уровня лейкоцитов ($p = 0,472$ и $p = 0,368$);
- отсутствовала какая-либо динамика уровня СРБ ($p = 0,474$ и $p = 0,135$);
- установлено статистически значимое повышение уровня КФК к 4 часам ($p = 0,039$ и $p = 0,009$) с последующим снижением;
- установлено повышение уровня L-лактата ($p = 0,039$ и $0,049$);
- установлено повышение экспрессии I-FABP до 4 часа ($p = 0,018$ и $p = 0,007$) с последующим выходом на плато высокого уровня маркера, значительно превышавшим исходные показатели ($p = 0,038$), продолжительностью до 12 часа.

Таким образом, в обеих группах странгуляции в динамике нарастали однотипные изменения маркеров, в виде лейкоцитоза, увеличения L-лактата и колебания КФК, отсутствие какой-либо динамики С-реактивного белка и статистически значимый быстрый рост I-FABP.

В группе обтурационной кишечной непроходимости установлена следующая динамика маркеров:

- отсутствие статистически значимого роста уровня лейкоцитов ($p = 0,449$)
- отсутствие динамики уровня СРБ ($p = 0,247$)
- имела тенденция к повышению уровня КФК к 2–4 часам с дальнейшим снижением, однако статистически значимые отличия достигнуты не были ($p = 0,074$)
- установлен статистически значимый рост уровня L-лактата ($p = 0,041$)

– до 8-го часа уровень I-FABR увеличился, однако статистически значимые отличия достигнуты не были ($p = 0,074$)

– в интервале от 8 до 12 установлен статистически значимый рост маркера ($p = 0,021$).

Таким образом, в динамике, по мере прогрессирования обтурационной и странгуляционной непроходимости установлены похожие неспецифические изменения маркеров в виде роста лейкоцитоза, повышение КФК, уровень которого был несколько выше в группе странгуляции, но без статистически значимых отличий. Статистически значимое повышение L-лактата в динамике установлено и при странгуляции, и при обтурации, что является еще одним доказательством недостаточной информативности абсолютных значений маркера для решений о хирургической тактике. С-реактивный белок показал наименьшую динамику за 12 часов эксперимента и не отличался в группах.

При нестрангуляционной непроходимости в период от 0 до 8 часов экспрессия I-FABR была низкой, но в интервале от 8 до 12 часов установлен ее статистически значимый рост, сопоставимый с ростом маркера в первые 4 часа странгуляционной непроходимости и требующий объяснения.

Межгрупповое сравнение маркеров

При почасовом сравнении групп обтурационной и странгуляционной непроходимости статистически значимые отличия по уровню СРБ, лейкоцитоза, L-лактату не достигнуты (Таблица 6). За время эксперимента (12 часов) между группами обтурации и странгуляции установлены статистически значимые отличия по уровню лейкоцитоза ($p = 0,0484$). Однако только I-FABR показал статистически значимые отличия между группами странгуляции и обтурации в каждом исследованном временном интервале, и отличия за все время эксперимента ($p < 0,001$).

По результатам ROC-анализа, лейкоцитоз при пороговом значении (cut-off) $8,157 \times 10^9$ имел очень низкую чувствительность и специфичность, соответственно 38,89% [95%-й ДИ: 33,41–44,37%] и 43,48% [95%-й ДИ: 36,51–50,45%], точность – 40,68%, AUC 0,3551 [95%-й ДИ: 0,306–0,404] при $p = 0,2901$. При пороговом значении L-лактата 3,129 моль/л наличие ишемии кишки установлено с чувствительностью 41,67% [36,12–47,21%], специфичностью 70,37% [64,44–76,3%], точностью 53,97%, AUC 95%-й ДИ составил 0,5381 [0,448–0,588] ($p = 0,46$). Пороговое значение I-FABR выше 5,148 нг/мл означало наличие признака ишемии с чувствительностью 83,33% [79,14–87,52%], специфичностью 85,19% [80,57–89,8%], точностью 84,13%, AUC 95%-й ДИ составил 0,899 [0,87–0,928] ($p < 0,001$).

При сравнении групп странгуляции с коротким и длинным ущемленным сегментом до 6 часа эксперимента статистически значимых отличий по уровню I-FABR не установлено ($p = 0,178$). Более позднее сравнение было невозможным из-за гибели животных в группе SL, что требует дополнительных исследований.

Таким образом, в 12-часовом эксперименте традиционные маркеры (лейкоцитоз, лактат) показали очень низкую точность диагностики странгуляционной кишечной

непроходимости. По сравнению с ними, I-FABP оказался высокочувствительным и специфичным маркером странгуляции во всех исследованных временных точках.

Сопоставление результатов динамики I-FABP и морфологических изменений

При исследовании морфологических изменений кишечной стенки обнаружен ряд особенностей, которые отчасти объясняют закономерность динамики экспрессии маркера. Установлено, что ко 2-му часу странгуляционной непроходимости верхушки ворсин слизистой – основной источник I-FABP – разрушены, чем можно объяснить его стремительный рост до 4 часа эксперимента с последующем выходом на плато с высоким уровнем данного маркера. Отсутствие дальнейшего роста можно объяснить отсутствием нового источника маркера. Наблюдаемое до 12-го часа эксперимента плато высокой экспрессии маркера при странгуляции можно связать с остаточным маркером некротизированной слизистой, хотя высказаны предположения о других промежуточного депо маркера, например, печени или перитонеальной жидкости (Elsayes K. M. et al., 2007). Ранее в экспериментальном исследовании артериальной мезентериальной ишемии максимальный уровень маркера был достигнут в течение 2 часов, а плато высокого уровня I-FABP продолжалось 8 часов с последующим постепенным его снижением (Kanda T. et al., 1996). Динамика маркера в плазме при странгуляционной непроходимости в нашем исследовании была похожей, хотя и с некоторой задержкой, а снижения экспрессии маркера не установлено. Указанная особенность может быть характерна для странгуляционной непроходимости за счет отложенного поступления маркера от изолированной петли кишки вследствие заблокированного мезентериального оттока. При этом уровень маркера не зависел от площади ишемического повреждения, хотя ранее о такой зависимости сообщалось (Schellekens D. H. et al., 2014), что нуждается в дополнительном исследовании.

До 12-го часа разница экспрессии маркера в группах странгуляции и обтурации была статистически значимой, несмотря на значительную экспрессию маркера в группе обтурации в интервале от 8-го до 12-го часа эксперимента, о которой ранее не сообщалось. Морфологическое исследование показало, что преимущественно в поздние сроки обтурационной непроходимости в слизистой верхушек ворсин тонкой кишки обнаружены начальные ишемические изменения, которые могли быть причиной неспецифического повышения уровня I-FABP. Отек верхушек ворсин слизистой оболочки и расширение пространства Грюнхагена соответствует 1-й ст. кишечной ишемии по Park – Chiu и сопровождается нарушением проницаемости клеточных мембран (Chiu C. J. et al., 1970; Boley S. J. et al., 1978). Если высокую экспрессию маркера действительно связана с указанными обратимыми изменениями, то их следует рассматривать в качестве фактора снижения специфичности маркера. По-видимому, разрушение ворсин – необязательное условие высокой экспрессии маркера в периферической крови, которая также была установлена у здоровых субъектов вследствие физиологических причин – интенсивной физической нагрузки (Wijck van K. et al., 2013; March D. S. et al., 2017).

Таким образом, помимо высокой точности I-FABP в течение первых 12 часов кишечной непроходимости, следует указать на существование, как минимум, двух разнонаправленных факторов, вызывающих снижение специфичности маркера для интестинальной ишемии в данном временном интервале, и, особенно, после 12-го часа тонкокишечной непроходимости. Во-первых, это истощение запасов маркера в некротизированных ворсинах при странгуляции, и, во-вторых, отек жизнеспособных ворсин приводящей кишки при любом виде непроходимости.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Говоря о перспективах I-FABP, помимо высокой точности маркера для диагностики странгуляции в течение первых 12 часов, следует указать на существование, как минимум, двух разнонаправленных факторов, вызывающих снижение специфичности маркера для интестинальной ишемии. Во-первых, это истощение запасов маркера в некротизированных ворсинах, и, во-вторых, отек жизнеспособных ворсин приводящей кишки при любом виде непроходимости. Однако не ясно, как надолго «хватит запасов» маркера в некротизированной кишке, и будет ли уровень маркера за счет отека ворсин сопоставим с пиковым уровнем маркера при более длительном наблюдении.

Исследование установило прогрессивное и последовательное снижение экспрессии SM22 с зависимостью от степени ишемического повреждения мышечной оболочки, т. е. маркер «покидал» мышечную оболочку, что позволяет рассчитывать на его детекцию в физиологических жидкостях.

Ответы на данные вопросы в более мощных и продолжительных исследованиях позволят продвинуться в решении одного из главных проблем кишечной непроходимости.

ВЫВОДЫ

1. При 12-часовой экспериментальной странгуляционной кишечной непроходимости морфологические изменения и уровень лабораторных маркеров не зависели от длины изолированной петли кишки, однако изоляция длиной кишечной петли (18 см) сопровождалась более высокой летальностью экспериментальных животных ($p = 0,0036$). Изоляция сегмента тонкой кишки длиной 16–19 см без брыжейки, позволило создать в приводящей петле кишки модель нестрангуляционной (обтурационной) кишечной непроходимости без ишемии изолированного сегмента кишечника.

2. При обтурационной тонкокишечной непроходимости состояние кишечной стенки соответствовало здоровой кишке у 82,0% экспериментальных животных. У 18,0% животных с обтурационной непроходимостью, преимущественно к 12-му часу эксперимента, обнаружен отек верхушек ворсин кишки с расширением подэпителиального пространства (Грюнхагена). При странгуляционной кишечной непроходимости тотальный некроз верхушек ворсин тонкой кишки установлен ко 2-му часу, а тотальный некроз слизистой – к 4-му часу странгуляционной непроходимости. Трансмуральное повреждение кишечной стенки установлено со 2-го часа

эксперимента. В период от 2 до 12 часов трансмуральное повреждение кишечной стенки носило очаговый характер.

3. Экспрессия SM-22 коррелировала с результатами морфологического исследования. При обтурационной кишечной непроходимости экспрессия маркера в мышечной оболочке соответствовала здоровой кишке. Начиная с 4 часа странгуляционной кишечной непроходимости, экспрессия маркера в препаратах снизилась и носила очаговый характер. Уменьшение содержания маркера в кишечной стенке при нарастающем ишемическом повреждении позволяет рассчитывать на детекцию повышенной экспрессии маркера в биологических жидкостях и указывает на принципиальную возможность применение исследования SM 22, наряду с морфологическим исследованием, в качестве объективного метода диагностики необратимого ишемического повреждения кишечной стенки.

4. Изменение показателей клинического и биохимического анализов крови в группах экспериментальных животных не были специфичны для странгуляционной кишечной непроходимости. В течение 12 часов эксперимента уровень С-реактивного белка не показал какой-либо динамики ни в одной из групп. Лейкоцитоз при пороговом значении $8,157 \times 10^9$ показал чувствительность и специфичность для странгуляции, соответственно, 38,89% и 43,48%. Чувствительность и специфичность лактата при пороговом значении 3,129 ммоль/л составила 41,67% и 70,37% соответственно, что не позволяет использовать его в качестве самостоятельного маркера странгуляционной кишечной непроходимости.

5. В 12-часовом эксперименте при пороговом значении I-FABP 5,148 нг/мл чувствительность и специфичность маркера для странгуляционной кишечной непроходимости составила 83,33% и 85,19% соответственно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В эксперименте модель странгуляции с короткой изолированной кишечной петлей имеет преимущества по выживанию экспериментальных животных.

2. Экспрессия SM22 в мышечной оболочке коррелирует с морфологическими изменениями, что позволяет рассчитывать на возможность применения маркера для стандартизированной оценки трансмурального ишемического повреждения кишечной стенки.

3. Применение С-реактивного белка в качестве маркера странгуляционной непроходимости продолжительностью до 12 часов нецелесообразно.

4. Низкая специфичность традиционных маркеров не позволяет использовать их для диагностики странгуляционной кишечной непроходимости.

5. Точность I-FABP для диагностики в эксперименте странгуляционной кишечной непроходимости превосходит все существующие маркеры. Необходимо проведение исследований для определения клинического значения I-FABP для диагностики странгуляционной непроходимости.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Курашинова, Л. С. Выбор срока оперативного лечения при острой спаечной тонкокишечной непроходимости (мультицентровое проспективное рандомизированное исследование) / А. В. Сажин, А. Е. Тягунов, С. Е. Ларичев, Л. С. Курашинова, // **Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.** – 2018. – № 3. – С. 24–30.
2. Курашинова, Л. С. Выбор срока оперативного лечения спаечной тонкокишечной непроходимости / А. В. Сажин, А. Е. Тягунов, А. А. Тягунов, И. В. Сажин, Т. В. Нечай, Л. С. Курашинова // **Московский хирургический журнал.** – 2018. – № 3 (61). – С. 19–20.
3. Курашинова, Л. С. Факторы риска летального исхода при острой спаечной тонкокишечной непроходимости. результаты многоцентрового исследования / А. Е. Тягунов, А. А. Тягунов, Т. В. Нечай, В. Н. Виноградов, А. В. Сажин, Л. С. Курашинова // **Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.** – 2021. – № 3. – С. 26–35.