

РОЛЬ ЭКСПРЕССИИ HIF-1 α В ФОРМИРОВАНИИ СПАЕК БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ

Клюйко Д.А., Корик В.Е.

*Военно-медицинский институт в УО «Белорусский государственный
медицинский университет»*

*Минск Беларусь
fildsurg@bsmu.by*

В статье представлены результаты влияния гипоксии на брюшину. В выборку включены 10 пациентов, у которых методом прямой оксиметрии интраоперационно регистрировалось парциальное давление кислорода в ткани спайки с последующим иммуногистохимическим исследованием в ней экспрессии HIF-1 α . В ходе исследования было выявлено: гипоксия тканей способствует экспрессии HIF-1 α , влияет на развитие фибробластов и, как следствие, на продукцию грубой волокнистой ткани в брюшной полости. Снижение гипоксии в зоне оперативного вмешательства очевидно позволит уменьшить вероятность развития спаечного процесса в брюшной полости.

Ключевые слова: спаечная болезнь; гипоксия тканей; HIF-1 α .

THE ROLE OF HIF-1 α EXPRESSION IN THE FORMATION OF ABDOMINAL ADHESIONS

Kluiko DA, Korik V.E.

*Military Medical Institute in the Belarusian State Medical University
Minsk, Belarus*

The article presents the results of the effect of hypoxia on the peritoneum. The sample included 10 patients in whom the partial pressure of oxygen in the adhesion tissue was recorded intraoperatively by direct oxymetry with subsequent immunohistochemical study of HIF-1 α expression in it. The study revealed that tissue hypoxia promotes the expression of HIF-1 α , affects the development of fibroblasts and, as a consequence, the production of coarse fibrous tissue in the abdominal cavity. Reducing hypoxia in the area of surgery will obviously reduce the likelihood of adhesions in the abdominal cavity.

Key words: adhesive disease; tissue hypoxia; HIF-1 α .

Проблема образования спаек после оперативных вмешательств не снижает своей актуальности несмотря на бурное развитие новых подходов к диагностике и лечению хирургических заболеваний органов брюшной полости [1, 2].

Значительное место в процессах регуляции, доставки и утилизации кислорода, регенерации тканей и образования сосудов занимает фактор, индуцированный гипоксией (HIF-1 α). Исследования участия HIF-1 α в физиологических и патофизиологических процессах увеличиваются с от года к году. Формирование мезотелия на поверхности поврежденной кишки происходит из фибробласта, который дифференцируется под влиянием окружающих условий, важнейшим из которых, является гипоксия. Регуляция дифференцировки осуществляется через HIF-1 α . На основании данного предположения нами была сформулирована гипотеза: экспрессия HIF-1 α

коррелирует с уровнем оксигенации тканей на поверхности кишечной трубки [3].

Материалы и методы. С целью подтверждения гипотезы нами было проведено пилотное клиническое исследование. В выборку включены 10 пациентов, проходивших в 2019 году лечение в отделениях экстренной, малоинвазивной хирургии и отделении колопроктологии УЗ «2-я Городская клиническая больница» г. Минска. Средний возраст исследуемых составил $52 \pm 8,4$ года, доли пациентов мужского и женского пола были равны – 50%.

Для изучения влияния гипоксии на брюшину, были проведены прямая оксиметрия с последующим иммуногистохимическим исследованием данного участка спайки по стандартной методике.

Для регистрации изменений парциального давления (pO_2) в исследуемой ткани производили прямую оксиметрию с помощью оксиметра TCM 400 (Radiometr), сертифицированный Министерством здравоохранения Республики Беларусь (регистрационное удостоверение № ИМ-7.2594/1310). Измерение парциального давления кислорода производили на поверхности спайки перед не иссечением с последующим иммуногистохимическим и морфометрическим исследованием.

Материал для иммуногистохимического исследования подготавливали по стандартной методике и окрашивали для выявления экспрессии HIF-1 α . Для визуализации использовалась АВС-система (авидин-биотиновая система) (Santa Crus Biotechnology, США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Далее с помощью программы ImageJ производили подсчет интенсивности окраски клеток. При проведении световой микроскопии регистрировали изменения от светло-коричневой до насыщено коричневой. Исходя из этого клетки, окрашенные в светло-коричневый цвет, оценивались знаком +, часть клеток, окрашенных в коричневый цвет ++, окрашенные в темно-коричневый цвет клетки соответственно оценивались +++ . Так, как выраженность окраски клеток реактивом напрямую зависит от наличия экспрессии HIF-1 α в мембране последних, то интенсивность окраски +, ++ или +++ отображала существующие различия в количестве функционально активных клеток.

Результаты и их обсуждение. В ходе проведенного исследования выявлена зависимость экспрессии HIF-1 α и парциального давления кислорода на поверхности исследуемой спайки брюшной полости. Данные получены у каждого пациента представлены в

Парциальное давление кислорода варьирует в пределах от 35 до 74 мм рт. ст. и зависит от выраженности кровоснабжения в месте измерения, состояния кровеносного русла и глубины повреждения спаечным процессом стенки кишки.

При иммуногистохимическом изучении препаратов оказалось, что снижение парциального давления кислорода на поверхности спайки усиливает экспрессию HIF-1 α , тем самым, способствует низкой дифференцировке фибробластов в грубую соединительная ткань.

Так при среднем уровне парциального давления $pO_2=67,5$ мм рт.ст., ($Q_i=64,5$, $Q_u=70,5$) выраженность экспрессии слабая (+), то есть нормоксия не способствует активации HIF-1 α .

Умеренно выраженная гипоксия, $pO_2=56,0$ мм рт.ст., ($Q_I=52,5$, $Q_U=59,5$) также способствует экспрессии HIF-1 α средней степени (++).

Существенно более выраженную экспрессию удалось зафиксировать в ткани, находящейся в состоянии гипоксии, при парциальном давлении $pO_2=45,5$ мм рт.ст., ($Q_I=42,5$, $Q_U=49,5$) экспрессия HIF-1 α максимальная и составляет (+++).

Применение одностороннего дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса для проверки равенства медиан парциального давления кислорода у пациентов, обобщенный в группы по выраженности экспрессии HIF-1 α , показало достоверные различия - $H(2, N=10)=6,33$ $p=0,042$.

Таким образом, выявлена обратная корреляционная связь между уровнем парциального давления кислорода на поверхности спайки и выраженностью экспрессии сигнального белка HIF-1 α . Сила корреляционной связи требует дальнейшего изучения.

Оказывая влияние на HIF-1 α через регуляцию уровня парциального давления кислорода в брюшной полости, возможна коррекция дифференцировки фибробластов, увеличение количества зрелых мезотелиоцитов, уменьшение выраженности спаечного процесса в брюшной полости у оперированных пациентов.

Представленные данные являются пилотным исследованием с целью подтверждения гипотезы. Выявленные зависимости являются строго направленными, исследование сигнальных молекул и направление дифференцировки компетентных клеток требует дальнейшего исследования.

На развитие спаечного процесса в брюшной полости влияет не только гипоксический фактор, а комплекс предрасполагающих и производящих факторов. Однако на современном этапе неоспоримым является утверждение о том, что именно посредством влияния на дифференцировку фибробластов и развитие неповрежденного мезотелия возможно решить проблему спаечного синдрома в абдоминальной хирургии.

Заключение. Гипоксия тканей способствует экспрессии HIF-1 α , влияет на развитие фибробластов и продукцию грубой волокнистой ткани в брюшной полости. Снижение гипоксии в зоне оперативного вмешательства очевидно позволит уменьшить вероятность развития спаечного процесса в брюшной полости.

Список литературы

1. Аюшинова, Н.И. Госпитальная эпидемиология спаечной болезни брюшной полости. / Аюшинова Н.И., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Григорьев Е.Г. // Acta Biomedica Scientifica. – 2016. – Т. 1, № 4(110). – С. 115-118.
2. Сахаров, В.Н. Роль различных фенотипов макрофагов в развитии заболеваний человека / В.Н. Сахаров, П.Ф. Литвицкий // Вестник РАМН. – 2015. – № 1. – С. 26-31.
3. Pezzuto, A. Role of HIF-1 in Cancer Progression: Novel Insights. A Review. / A.Pezzuto // Curr Mol Med. – 2018. – №18(6). – P. 343–351. Doi: 10.2174/1566524018666181109121849.