УДК 612.014.469

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЭНТЕРАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Шибитов В.А., Власова Т.И., Полозова Э.И., Власов П.А., Анаскин С.Г., Матвеева М.В.

ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск, e-mail: vap.61@yandex.ru

Изучены патогенетические основы энтеральной недостаточности при остром перитоните. Установлено, что развитие энтеральной недостаточности при остром перитоните сопряжено с мембранодестабилизирующими явлениями в тканях кишечника, проявлением которых являются изменение состава основных мембранообразующих фракций липидов и увеличение уровня липидов, обладающих хаотропным действием (свободных жирных кислот и лизофосфолипидов). Показано, что в формировании липидных перестроек важную роль играют гипоксия и процессы перекисного окисления липидов. В начале заболевания наибольшие метаболические нарушения возникают в слизистой оболочке, по мере прогрессирования заболевания – и в серозно-мышечном слое кишечника. При перитоните в слизистой оболочке отмечается наибольший темп роста гипоксических явлений, в серозно-мышечном слое – процессов перекисного окисления липидов.

Ключевые слова: эндотоксикоз, энтеральная недостаточность, гипоксия, перекисное окисление липидов

PATHOGENETIC BASES OF ENTERAL INSUFFICIENCY

Shibitov V.A., Vlasova T.I., Polozova E.I., Vlasov P.A., Anaskin S.G., Matveeva M.V.

Mordvinian State University, Saransk, e-mail: vap.61@yandex.ru

Pathogenetic bases of enteral insufficiency are studied at an acute peritonitis. It is established that development of enteral insufficiency at an acute peritonitis is interfaced with membrane destabilization phenomena in the intestine tissues which implication are change of structure of the basic membrane fractions of lipids and augmentation of level of the lipids possessing destroying action (free fat acids and lisophospholipids). It is shown that in formation of lipide reorganizations an important role the hypoxia and processes peroxidation play oxidations of lipids. In the disease beginning the greatest metabolic disturbances arise in a mucosa, in process of disease advance – and in serous-muscular layer an intestine. At a peritonitis in a mucosa the greatest rate of increase of the hypoxemic phenomena, in serous-muscular layer – processes peroxidations of lipids becomes perceptible.

Keywords: endointoxication, enteral insufficiency, hypoxia, peroxidation of lipids

Проблема энтеральных повреждений остается одной из актуальных в современной медицине. Наиболее частой причиной энтеральных повреждений является острый перитонит, при котором кишечник в силу своего анатомического расположения в числе первых вовлекается в патологический процесс и запускает механизм системного поражения [3, 4, 8, 9]. При синдроме энтеральной недостаточности, формирующейся в рамках острой хирургической патологии, происходит нарушение всех функций пищеварительного тракта, а кишечник становится основным источником интоксикациии развитияполиорганнойнедостаточности [6, 7, 8].

По данным последних исследований, в основе патогенеза расстройств морфофункционального состояния кишечника рассматриваются мембранодеструктивные процессы, обусловленные нарушениями липидного метаболизма. Несмотря на повышенный интерес исследователей к данному виду обмена, молекулярные механизмы нарушений липидного метаболизма, а также роль других патогенетических механизмов в прогрессировании энтеральных повреждений остаются до конца не изученными, что, вероятно, и обусловливает недостаточную эффективность терапии данного патологического состояния [1, 2, 5, 6, 11]. В связи с чем целью работы явилось установление особенностей патогенетических основ энтеральной недостаточности при остром перитоните.

Материалы и методы исследования

В основу работы положены экспериментальные исследования на взрослых беспородных половозрелых собаках ($n = 15$) обоего пола массой от 8,72 до 14,31 кг. Животным моделировали острый перитонит по способу профессора А.П. Власова (1991). Собакам под внутривенным тиопентал-натриевым наркозом (0,04 мг/кг массы тела) в брюшную полость шприцем вводили 20 % каловую взвесь из расчета 0,5 мл/кг массы тела. Через сутки выполняли срединную лапаротомию, оценивали выраженность патологических изменений в брюшной полости, проводили санацию брюшной полости, шов раны. В контрольные сроки (1-е, 2-е, 3-и и 5-е сутки) послеоперационного наблюдения производили релапаротомию, забор венозной крови из брыжеечных и нижней полой вен, биопсию серозно-мышечного и слизистого слоя тонкой кишки. Каждому животному выполняли не более одной релапаротомии. Животных из эксперимента выводили введением летальной дозы тиопентал-натрия.

В послеоперационном периоде животным проводили антибактериальную и инфузионную терапию: внутримышечные инъекции 2 раза в сутки раствора гентамицина из расчета 0,8 мг/кг массы тела; внутривенно 1 раз в сутки 5 % раствор глюкозы и 0,89 % раствор хлорида натрия из расчета 50 мл/кг.

Для получения исходных данных (условная норма) были изучены вышеперечисленные показатели у 10 здоровых животных.

Выраженность эндогенной интоксикации (ЭИ) оценивали по следующим показателям: содержание молекул средней массы (МСМ) определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-46 при длинах волн 254 и 280 нм (Пикуза О.И., Шакирова Л.З., 1994); общую и эффективную концентрацию альбумина (ОКА и ЭКА) в сыворотке крови – флуоресцентным методом на специализированном анализаторе АКЛ-01 «Зонд»; резерв связывания альбумина (РСА) определяли по формуле РСА = ЭКА/ОКА; индекс токсичности (ИТ) плазмы – по формуле ИТ = ОКА/ЭКА – 1 (Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е., 1994). Уровень токсических продуктов оценивали в плазме крови общего кровотока и в портальной системе (брыжеечного кровотока). Содержание пирувата исследовали при проведении реакции с 2,4-динитрофенилгидразином (Кушманова О.Д., Ивченко Г.М., 1983), лактата – по реакции с параоксидифенилом (Меньшиков В.В., 1987). Липиды из тканей кишечника экстрагировали хлороформметаноловой смесью (Хиггинс Дж.А., 1990), фракционировали их методом тонкослойной хроматографии: полярные фосфолипиды разделяли на пластинах фирмы «Merk» на стеклянной основе, нейтральные липиды – на силикагелевых пластинах для обращеннофазной тонкослойной хроматографии (Хиггинс Дж.А., 1990; Vaskovsky V.E. et al., 1975). Молекулярный анализ липидов проводили на денситометре Model GS-670 (BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (Phosphor Analyst/PS Sowtware). Показатели интенсивности ПОЛ: диеновые и триеновые конъюгаты (ДК и ТК) определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 232–233 и 275 нм (Ганстон Ф.Д., 1986); малоновый диальдегид (МДА) – спектрофотометрическим методом в реакции с тиобарбитуровой кислотой (Sigma), активность каталазы определяли спектрофотометрическим методом с помощью молибдата аммония (Королюк М.А., 1988); активность супероксиддисмутазы (СОД) оценивали в реакции с нитросиним тетразолием (Гуревич В.С. и др., 1990).

Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Работа проведена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследования показали, что модель острого экспериментального перитонита была вполне адекватна для решения цели и задач работы. У экспериментальных животных выявлен существенный рост концентрации гидрофильных и гидрофобных токсинов в плазме крови на уровне общего кровотока, что свидетельствовало о формировании синдрома ЭИ. Так, в общем кровотоке показатели среднемолекулярных пептидов ($\lambda = 254$ нм и $\lambda = 280$ нм) возрастали соответственно на 70,94–132,31 и 48,59–111,45 % ($p < 0,05$) по сравнению с нормой. Также регистрировалось снижение ЭКА и РСА на 43,26–52,78 и 37,87–56,79 % ($p < 0,05$) соответственно относительно первоначальных показателей, одновременно с повышением индекса токсичности плазмы на 220,49–456,84 % ($p < 0,05$) (рис. 1).

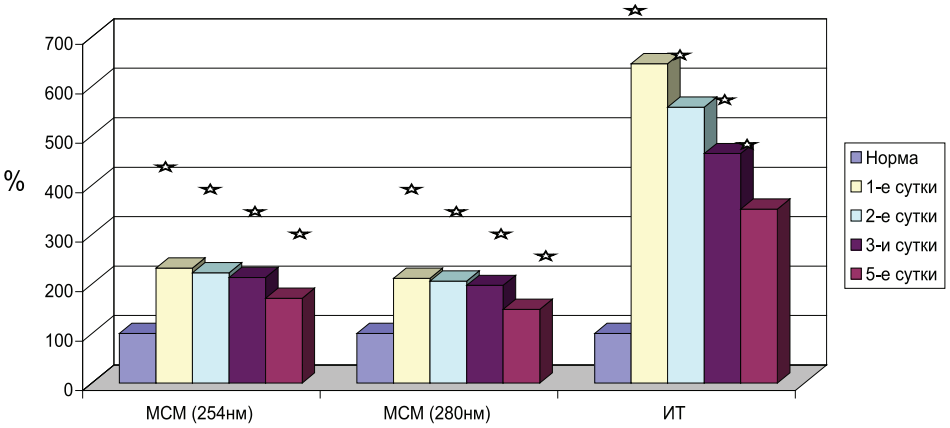

*Рис. 1. Показатели эндогенной интоксикации в системном кровотоке при остром перитоните (значения нормы приняты за 100 %, * – достоверность отличий по сравнению с исходными значениями)*

По сравнению с системным кровотоком в локальном кровотоке исследуемые показатели претерпевали более значительные изменения: уровень молекул средней массы ($\lambda = 254$ и $\lambda = 280$ нм) возрастал соответственно на 70,99–132,31 и 48,60–111,47 % ($p < 0,05$) по отношению к исходным данным. ЭКА и РСА сравнимо с нормой были снижены на 47,46–60,22 и 42,23–59,18 % ($p < 0,05$), также фиксировалось увеличение ИТ плазмы на 251,59–545,47 ($p < 0,05$). Вышеприведенные данные демонстрируют развитие энтеральной недостаточности при остром перитоните.

Известно, что ЭИ, неизбежно возникающая при остром перитоните, играет значимую роль в патогенезе заболевания, а также во многом определяет его тяжесть и прогноз [3]. Насыщение организма эндотоксинами, происходящее в результате раз-

вития синдрома энтеральной недостаточности, и сопутствующая ему транслокация микроорганизмов из просвета кишечника в брюшную полость в настоящее время оцениваются как основные индукторы формирования абдоминального сепсиса, синдрома системного воспалительного ответа, полиорганной и полисистемной недостаточности при остром перитоните [9], что согласуется с результатами, полученными в ходе исследования.

Ряд исследований свидетельствует, что происходящее при остром перитоните изменение липидного спектра формируется за счет повышения активности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1]. Наиболее значимым патогенетическим аспектом энтеральной недостаточности является увеличение интенсивности, а также дисбаланс липопероксидации и системы собственной антиоксидантной защиты.

Дефицит кислорода и энергетических субстратов способствует накоплению недоокисленных метаболитов, ацидозу и интенсификации свободнорадикального окисления, что в дальнейшем разрушает липидный бислой клеток различных органов и тканей, в том числе кишечника [6].

Исследования обнаружили существенное увеличение активности процессов ПОЛ при остром перитоните. Отмечался рост концентрации ДК, ТК и МДА относительно нормы в серозно-мышечном слое тонкой кишки на 85,80–133,39; 169,27–200,03 и 85,24–180,92 % ($p < 0,05$) соответственно. В слизистом слое тонкой кишки также регистрировалось увеличение содержания ДК, ТК и МДА сравнительно с первоначальными показателями соответственно на 68,20–77,29; 78,53–85,77 и 37,93–71,05 % ($p < 0,05$).

Вместе с тем отмечалось ингибирование ферментативной способности СОД и каталазы в серозно-мышечном слое на 54,49–67,36 и 52,11–76,37 % ($p < 0,05$), в слизистой оболочке тонкой кишки снижение составило 32,56–57,69 % ($p < 0,05$) и 27,84–66,28 % ($p < 0,05$) соответственно.

Доказанным является факт модификации липидного спектра клеточных структур кишечника при синдроме энтеральной недостаточности. Изменение метаболизма липидов в тканях кишечника является патоморфологическим компонентом острого перитонита, что может содействовать прогрессированию нарушения функции органов, расстройству перистальтики кишечника и увеличивать насыщение организма кишечными эндотоксинами [1].

В результате проведенных исследований обнаружена модификация липидного спектра биомембран как в серозно-мышечном, так и в слизистом слоях тонкой кишки, причем изменения липидного состава были различными (рис. 2).

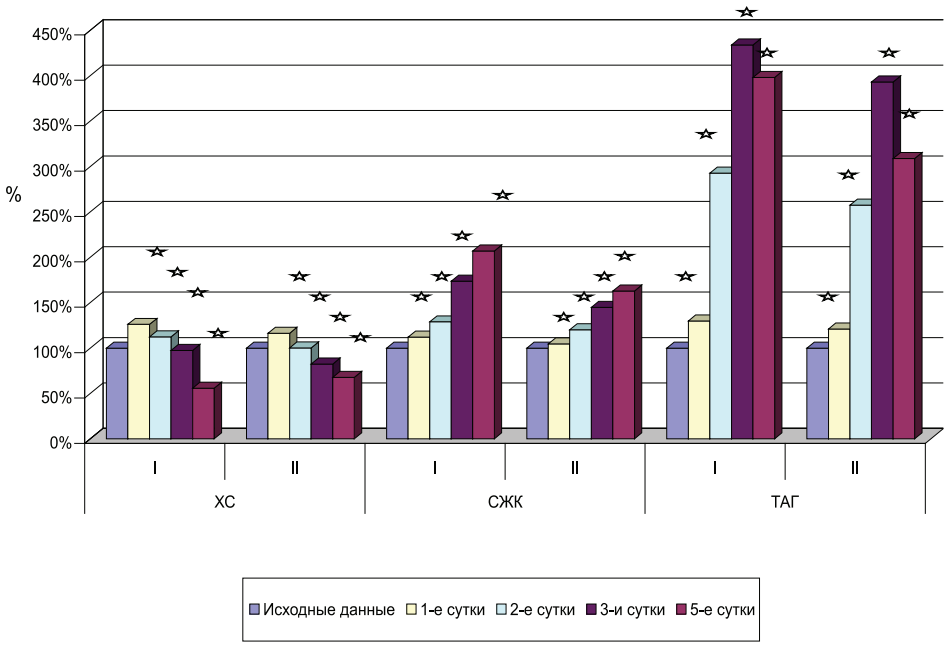

*Рис. 2. Динамика липидного спектра серозно-мышечного слоя (I) и слизистой оболочки (II) тонкой кишки при остром экспериментальном перитоните (значения нормы приняты за 100 %, * – достоверность отличий по сравнению с исходными значениями)*

Так, в серозно-мышечном слое на начальных этапах эксперимента отмечалось уменьшение доли суммарных фосфолипидов на 27,98 % ($p < 0,05$), эфиров холестерола – на 16,90 % ($p < 0,05$), параллельно с увеличением холестерола (ХС) на 26,15 %

($p < 0,05$), триацилглицеролов (ТАГ) – на 29,93–75,38% ($p < 0,05$), свободных жирных кислот (СЖК) – на 28,97% ($p < 0,05$).

В начале заболевания в серозно-мышечном слое кишечника установлено увеличение фракции лизофосфолипидов на 351,26% ($p < 0,05$). В дальнейшем наблюдались более выраженные изменения и других фракций. Регистрировалось увеличение доли фосфатидилэтаноламина на 440,08% ($p < 0,05$), фосфатидилинозита – на 69,59% ($p < 0,05$), фосфатидилсерина – на 50,18% ($p < 0,05$), снижение фракции фосфатидилхолина на 68,32% ($p < 0,05$), сфингомиелина – на 80,07% ($p < 0,05$) относительно нормы.

В слизистой оболочке на первых этапах динамического наблюдения отмечалось снижение фракции суммарных фосфолипидов на 34,61% ($p < 0,05$), эфиров холестерола – на 19,33% ($p < 0,05$), синхронно с ростом удельного веса ХС на 31,31% ($p < 0,05$), ТАГ – на 39,47% ($p < 0,05$), СЖК – на 34,85% ($p < 0,05$).

Состав фосфолипидов слизистой оболочки также претерпевал изменения. На начальном этапе периода наблюдения установлено увеличение относительно нормы доли лизофосфолипидов на 370,69% ($p < 0,05$). В конце эксперимента регистрировалось увеличение содержания фосфатидилэтаноламина на 360,07% ($p < 0,05$), фосфатидилинозита – на 75,19% ($p < 0,05$), фосфатидилсерина – на 59,47% ($p < 0,05$), снижение фракции фосфатидилхолина на 72,38% ($p < 0,05$), сфингомиелина – на 89,75% ($p < 0,05$).

Формирующаяся при остром перитоните гипоксия тканей приводит к прогрессированию ацидоза, накоплению лактата и ингибированию аденозинтрифосфата [10]. Происходящая при заболевании централизация кровообращения делает зону спланхнического бассейна наиболее уязвимой, проявляясь клинически синдромом энтеральной недостаточности. В экспериментальной группе животных выявлено увеличение уровня молочной и пировиноградной кислот в серозно-мышечном слое тонкой кишки на 24,95–226,47 и 6,79–165,58% ($p < 0,05$) соответственно и рост показателей в слизистой оболочке на 64,52–250,48 и 52,95–211,79% ($p < 0,05$) соответственно.

Также регистрировалось повышение коэффициента гипоксии: на третьи сутки достигавшее максимума увеличение относительно нормы на 26,34% ($p < 0,05$) в серозно-мышечном слое и 31,08% ($p < 0,05$) – в слизистом слое стенки тонкой кишки. Следует отметить большую выраженность гипоксии в начале заболевания в тканевых структурах слизистой оболочки (рис. 3).

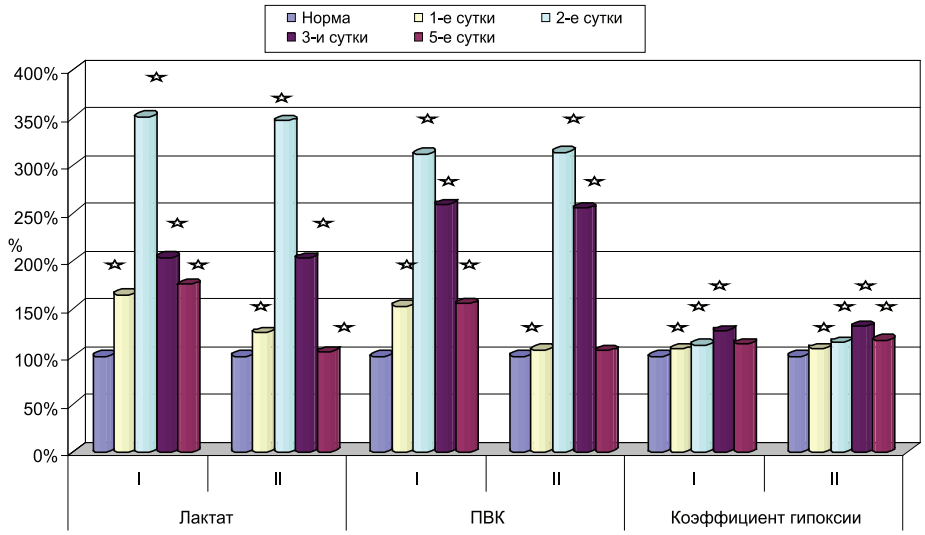

*Рис. 3. Лабораторно-диагностические показатели гипоксии серозно-мышечного слоя (I) и слизистой оболочки (II) тонкой кишки при остром экспериментальном перитоните (значения нормы приняты за 100%, * – достоверность отличий по сравнению с исходными значениями)*

Таким образом, результаты экспериментальных исследований показали, что в патогенезе развития энтеральной недостаточности при перитоните определяющую роль играют мембранодестабилизирующие явления, которые в большей степени (особенно в начале заболевания) выражены в слизистой, и в меньшей степени – в серозно-мышечной оболочке. В развитии мембранодестабилизирующих явлений в клеточных структурах кишечной стенки при остром перитоните важную роль играют гипоксия и ПОЛ. Причем в начале заболевания в слизистой оболочке превалируют явления

гипоксии, в серозно-мышечной оболочке – процессы ПОЛ. В динамике заболевания в исследованных тканевых объектах до 2-х суток отмечается пропорциональное повышение активности указанных патогенных агентов, а затем вплоть до конца периода наблюдения – их снижение, с преобладанием темпа снижения явлений гипоксии в слизистой оболочке.

Важным аспектом проведенного исследования являются полученные данные, констатирующие развитие модификаций качественного и количественного состава липидов тканевых структур кишечника, детерминирующими проявлениями которых явились снижение содержания суммарных фосфолипидов и накопление детергентных форм липидов, обладающих хаотропным действием (свободных жирных кислот и лизофосфолипидов).

Выводы

1. Развитие при остром перитоните энтеральной недостаточности сопряжено с мембранодестабилизирующими явлениями в тканях кишечника, характеризующимися изменением состава основных мембранообразующих фракций липидов и увеличением уровня липидов, обладающих хаотропным действием (свободных жирных кислот и лизофосфолипидов).

2. В формировании мембранодестабилизирующих явлений в тканях кишечника при остром перитоните важную роль играют гипоксия и процессы перекисного окисления липидов.

3. В начале заболевания наибольшие метаболические нарушения возникают в слизистой оболочке, по мере прогрессирования заболевания – и в серозно-мышечном слое кишечника.

Список литературы

1. Системные липидные дестабилизации при синдроме эндогенной интоксикации / А.П. Власов, И.В. Меркушкина, Р.Р. Алмакаев, Е.П. Тюрина // Вестник интенсивной терапии. – 2007. – № 5. – С. 16–17.

2. Власов А.П., Крылов В.Г., Тарасова Т.В. Липидмодифицирующий компонент в патогенетической терапии. – М.: Наука, 2008. – 374 с.

3. Ерюхин И.А., Светухин А.М., Шляпников С.А. Сепсис в хирургической клинике // Инфекции и антимикробная терапия. – 2002. – № 4. – С. 1–6.

4. Завада Н.В., Гаин Ю.М., Алексеев С.А. Хирургический сепсис: учебное пособие. – Минск: Новое знание, 2003. – 237 с.

5. Зайцев А.В., Зайцева О.Б., Фадеев Б.М. Методы профилактики и интенсивной терапии синдрома энтеральной недостаточности у больных с абдоминальным сепсисом // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т. XV, № 1. – С. 205–207.

6. Захаркин А.Г., Григорьева Т.И., Логинова О.В. Липидмодифицирующие факторы в патогенезе синдрома эндогенной интоксикации // Медико-биологические науки для теоретической и клинической медицины: сборник тезисов докладов научно-практической конференции. – М.: РГМУ, 2008. – С. 42.

7. Изимбергенов Н.И., Изимбергенов М.Н., Елемесов А.А. Синдром перитонеально-кишечной недостаточности при разлитом гнойном перитоните // Актуальные проблемы современной хирургии: материалы Международного хирургического конгресса. – М., 2003. – С. 106.

8. Косинец А.Н., Андрейченко В.В. Перитонит – абдоминальный сепсис // Новости хирургии. – 2001. – Т. 12, № 2. – С. 3–8.

9. Савельев В.С. Руководство по неотложной хирургии органов брюшной полости. – М.: Триада-Х, 2004. – 640 с.

10. Смирнов А.В., Криворучко Б.И. Гипоксия и ее фармакологическая коррекция – одна из ключевых проблем анестезиологии и интенсивной терапии // Анестезиология и реаниматология. – 1997. – № 3. – С. 97–98.

11. Köylüoğlu M., Elker D., Altun H. Validation of MPI and PIA II in two different groups of patients with secondary peritonitis // Hepatogastroenterology. – 2001. – Vol. 48, Iss. 37. – P. 147–151.

References

1. Vlasov A.P., Merkushkina I.V., Almakaev R.R., Tjurina E.P. *Vestnik intensivnoj terapii*, 2007, no. 5, pp.16–17.

2. Vlasov A.P., Krylov V.G., Tarasova T.V. *Lipidmodificirujuschij komponent v patogeneticheskoy terapii*. M, Nauka, 2008. 374 p.

3. Erjuhin I.A., Svetuhin A.M., Shljapnikov S.A. *Infekcii i antimikrobnaja terapija*, 2002, no. 4, pp. 1–6.

4. Zavada N.V., Gain Ju.M., Alekseev S.A. *Hirurgicheskij sepsis:* uchebnoe posobie. Minsk.: Novoe znanie, 2003. 237 p.

5. Zajcev A.V., Zajceva O.B., Fadeev B.M. *Vestnik novyh medicinskih tehnologij*, 2008, no. 1, pp. 205–207.

6 Zaharkin A.G., Grigor'eva T.I., Loginova O.V. *Sbornik tezisov dokladov nauchno-prakticheskoj konferencii «Medikobiologicheskie nauki dlja teoreticheskoj i klinicheskoj mediciny»*. M., RGMU, 2008. pp. 42.

7. Izimbergenov N.I., Izimbergenov M.N., Elemesov A.A. *Mezhdunarodnyj hirurgicheskij kongress: Aktual'nye problemy sovremennoj hirurgii*, M, 2003. pp. 106.

8. Kosinec A.N., Andrejchenko V.V. *Novosti hirurgii*, 2001, no. 2, pp. 3–8.

9. Savel'ev V.S. *Rukovodstvo po neotlozhnoj hirurgii organov brjushnoj polosti*. M., Triada-H, 2004. 640 p.

10. Smirnov A.V., Krivoruchko B.I. *Anesteziologija i reanimatologija*, 1997, no. 3, pp. 97–98.

11. Köylüoğlu M., Elker D., Altun H. V*alidation of MPI and PIA II in two different groups of patients with secondary peritonitis – Hepatogastroenterology*. 2001. Vol. 48. Iss. 37. pp. 147–151.

Рецензенты:

Смолькина А.В., д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск.

Рубцов О.Ю. , д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск.

Работа поступила в редакцию 14.02.2012.