

УДК 616-003.826

РОЛЬ ОРГАННОГО ЛИПИДНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА В ПРОГРЕССИРОВАНИИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Власова Т.И., Власов А.П., Трофимов В.А., Лещанкина Н.Ю.

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

В экспериментальных исследованиях на модели острого перитонита и острого панкреатита различной тяжести изучена функциональная способность органов естественной детоксикации и состояние липидного метаболизма. Установлено значение органных (кишечник, печень, легкие, почки) липидных дестабилизаций в прогрессировании эндогенной интоксикации при исследуемой острой хирургической патологии. В рамках молекулярной динамики мембранных клеточных фосфолипидных перестроек и модуляции дисфункционального состояния исследованных органов сформулирована концепция значимости мембранодестабилизирующего процесса в прогрессировании эндотоксикоза. Концепция не только определяет сам факт возможности прогрессирования эндогенной интоксикации вследствие утраты детоксикационной способности органов, на которые возложена эта функция, но и «активное» их участие в прогрессировании эндотоксикоза. Фактически на определенных этапах патологического процесса органы детоксикационной системы могут становиться дополнительным источником эндотоксикоза.

Ключевые слова: панкреатит, перитонит, липиды, эндотоксикоз

ROLE OF LIPID DISTRESS SYNDROME IN PROGRESSION OF ENDOGENOUS INTOXICATION

Vlasova T.I., Vlasov A.P., Trofimov V.A., Leschankina N.Y.

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

In experimental studies on the model of acute peritonitis and acute pancreatitis varying severity studied the functional ability of natural detoxification and the state of lipid metabolism. Set body (intestine, liver, lungs, kidneys) lipid destabilization in the progression of endogenous intoxication in the study of acute surgical pathology. Within the framework of the molecular dynamics of membrane phospholipid cell rearrangements and modulation of dysfunctional state of the investigated organs formulated the concept of the importance of membranodestabiliziruyushego process in the progression of endotoxemia. The concept not only determines the fact of the possibility of progression of endogenous intoxication due to the loss detoxification ability of the bodies entrusted with this function, but also «active» participation in the progression of endotoxemia. In fact, at certain stages of the pathological process of detoxification organs may become an additional source of endotoxemia.

Keywords: pancreatitis, peritonitis, lipids, endotoxemia

В настоящее время в медицине, особенно хирургии, большое внимание уделяется синдрому эндогенной интоксикации (ЭИ). Причины его развития многообразны. Чаще всего эндогенная интоксикация возникает при патологиях, сопровождающихся воспалительно-деструктивными явлениями. В хирургии одними из основных причин развития эндогенной интоксикации являются перитонит и панкреатит [1, 3, 4].

Лечение больных с тяжелым перитонитом остается сложной проблемой в абдоминальной хирургии. В этой категории пациентов летальность остается на высоком уровне и достигает 50%. Основной причиной смерти больных перитонитом является прогрессирующая ЭИ, приводящая к системным полиорганным нарушениям [6–10, 12].

Тяжелой патологией до настоящего времени остается панкреатит. Неуклонный рост заболеваемости острым панкреатитом, частое прогрессирование заболевания до деструктивных форм, высокая (до 80% при панкреонекрозах) летальность определяют

необходимость дальнейшей разработки теоретических и клинических вопросов этой тяжелой патологии. Тяжелое состояние больных и летальные исходы при остром панкреатите обусловлены панкреатогенным эндотоксикозом, приводящим к плевровисцеральным поражениям, которые оказываются причиной смерти [2, 5, 11, 13, 14].

Поэтому исследования последних лет сконцентрированы на проблеме выбора способа лечения не только основного заболевания, но и борьбы с прогрессирующим ЭИ.

Важно отметить, что наиболее спорным и обсуждаемым является вопрос о том, какое значение имеют полиорганные поражения в прогрессировании эндотоксикоза.

Цель работы – установить значение органных (кишечник, печень, легкие, почки) липидных дестабилизаций в прогрессировании эндогенной интоксикации при острой хирургической патологии на примере острого перитонита и острого панкреатита.

Материалы и методы исследования

Поставлены следующие серии опытов:

1 серия – модель острого серозного перитонита (10 животных);

2 серия – модель острого гнойно-фибринозного перитонита (10 животных);

3 серия – модель острого отечного панкреатита (10 животных);

4 серия – модель острого деструктивного панкреатита (панкреонекроза) (10 животных). Для получения данных, принятых за норму, произведены исследования у 8 здоровых животных.

Перитонит моделировали путем введения в брюшную полость каловой взвеси: при серозном перитоните экспозиция 24 ч, при гнойно-фибринозном – экспозиция 48 ч.

Панкреатит моделировали путем введения в паренхиму поджелудочной железы желчи: при отечном панкреатите – 4 точки введения, при панкреонекрозе – 8 точек введения.

В контрольные сроки исследования (1-е, 3-и и 5-е сутки) животным производили релапаротомию, оценивали состояние поджелудочной железы, кишечника, определяли характер их повреждений, а также производили биопсию тканей, забор венозной крови.

Опыты проводились под внутривенным наркозом с использованием тиопентал-натрия из расчета 0,04 мг/кг массы тела животного. После проведения исследований животных выводили из эксперимента введением летальной дозы тиопентал-натрия.

Остановимся на особенностях забора крови. Как указано выше, нами впервые поставлена задача изучить детоксикационную роль основных органов детоксикационной системы. С этой целью оценен уровень токсических продуктов гидрофильной и гидрофобной природы в притекающей и оттекающей от органа крови. Для кишечника, почек, и легких исполнить это не так уж и сложно. Большие затруднения возникли по отношению к печени. Нами разработана оригинальная методика, позволяющая производить забор крови, оттекающей от печени.

Нами выполнялась биопсия исследованных органов, в тканях которых оценен липидный состав, а также интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и фосфолипазная активность.

Отметим, что по этому фрагменту работы нам представилось возможным не только оценить активность основных мембранодеструктивных факторов, но и непосредственный результат их действия по изменениям состава фосфолипидного бислоя мембран.

Липиды из тканей экстрагировали хлороформ-метаноловой смесью (Хиггинс Дж.А., 1990). Липиды фракционировали методом тонкослойной хроматографии (Хиггинс Дж.А., 1990; Vaskovsky V.E. et al., 1975). Молекулярный анализ проводили на денситометре Model GS-670 (BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (Phosphor Analyst/PS Sotware).

Показатели интенсивности ПОЛ: диеновые конъюгаты (ДК) определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 232–233 нм (Ганстон Ф.Д., 1986); уровень малонового диальдегида (МДА) – спектрофотометрическим методом в реакции с тиобарбитуровой кислотой (Sigma), активность супероксиддисмутазы (СОД) – в реакции с нитросиним тетразолием (Гуревич В.С. и др., 1990). Активность фосфолипазы A_2 (ФЛА₂) исследовали в среде, содер-

жащей 10 ммоль трис-НСL-буфер (рН 8,0), 150 ммоль тритон X-100, 10 ммоль CaCl₂ и 1,2 ммоль субстрата, в качестве которого использовали фосфатидилхолины яичного желтка (Трофимов В.А., 1999).

Определение молекул средней массы (МСМ). Сыворотку крови смешивают с 10% раствором трихлоруксусной кислоты в соотношении 1:2, центрифугируют 30 мин при скорости 3000 g. Затем 0,5 мл супернатанта смешивают с 4,5 мл дистиллированной воды и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 254 и 280 нм. Результат выражают в условных единицах (Пикуза О.И., Шакирова Л.З., 1994).

Определение общей (ОКА) и эффективной концентрации альбумина (ЭКА) проводили по методике Грызунова Ю.А. и Добрецова Г.Е. (1994) на специализированном анализаторе АКЛ-01 «Зонд». Использовали набор реактивов «Зонд-Альбумин» (г. Москва) в соответствии с прилагаемыми инструкциями. Рассчитывали: резерв связывания альбумина РСА по формуле РСА = ЭКА/ОКА; индекс токсичности плазмы (ИТ), отражающий степень заполнения тканевых центров различными токсическими веществами, по формуле: ИТ = ОКА/ЭКА – 1.

Исследования проведены в соответствии с этическими требованиями к работе с экспериментальными животными («Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1987 г.) Федеральный закон «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г., «Об утверждении правил лабораторной практики» (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 267) и одобрены локальным этическим комитетом.

Полученные цифровые экспериментальные данные обработаны методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента. Оценена корреляционная зависимость показателей по t-критерию. Вычисления и построение диаграмм, отражающих динамику изученных показателей, совершали с поддержкой программы Microsoft Excel XP. Применен текстовый процессор Microsoft Word XP.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты опытов показали, что при нетяжелых формах как перитонита, так и панкреатита барьерная функция органов детоксикационной системы существенно не страдает. Несмотря на повышение содержания продуктов эндотоксикоза в плазме крови, а также печени, легких, почках и кишечнике, проявляющееся ростом показателей среднемoleкулярных пептидов и индекса токсичности в 2–6 раз ($p < 0,05$) по сравнению с нормой, уровень токсических продуктов в притекающей крови к печени, легким и почкам был ниже, чем в оттекающей (рис. 1).

Исключением был кишечник. В оттекающей от него крови уровень токсических продуктов был выше, особенно при остром перитоните.

Отметим, что при указанных формах заболеваний в тканевых структурах исследованных органов отмечены небольшие

приоритеты интенсивности ПОЛ, оцененные показателями ДК и МДА и фосфолипазной активности в 1,5–2 раза в сравнении с нормой ($p < 0,05$), что не приводило к заметным изменениям состава фосфолипидного

бислоя мембран клеток (рис. 2). Как видно из рисунка, уровень суммарных фосфолипидов (СФЛ), холестерина (ХЛ) и эфиров холестерина (ЭХЛ) существенно от нормы не отличался.

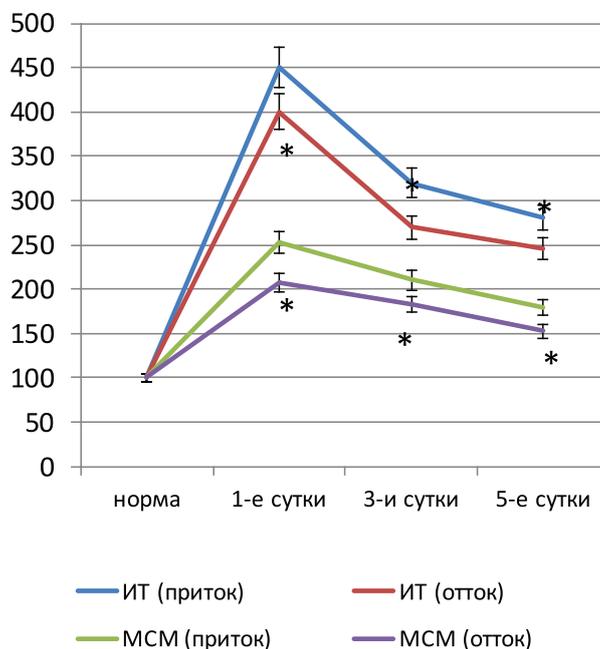


Рис. 1. Показатели детоксикационной активности печени при остром серозном перитоните (* – достоверность отличия показателей при $p < 0,05$)

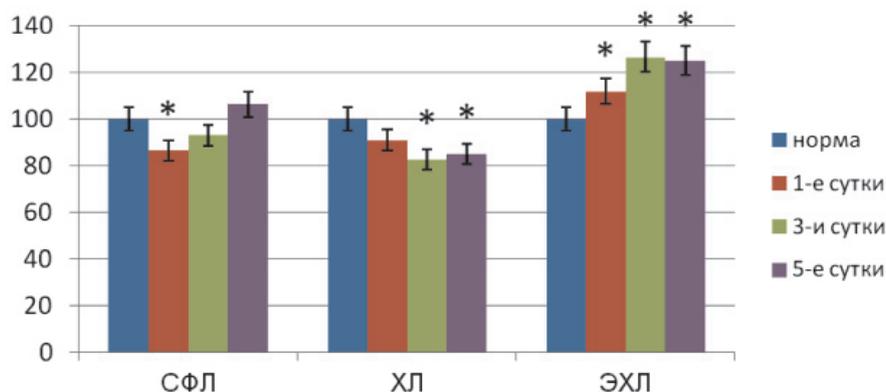


Рис. 2. Содержание некоторых липидов в ткани легких при остром отечном панкреатите (* – достоверность отличия показателей при $p < 0,05$)

При тяжелых формах патологий функциональное состояние органов детоксикационной системы угнеталось, и на определенных этапах патологического процесса в оттекающей крови от печени, легких и почек уровень токсических продуктов или соответствовал таковому в притекающей крови или даже был выше его (рис. 3). При этом уровень токсических продуктов (ИТ и МСМ) в исследуемых органах возрастал в сравнении с нормой в 3,5–7,5 раз ($p < 0,05$).

Подчеркнем, что при указанной тяжести заболеваний в тканевых структурах исследованных органов отмечены резкий прирост интенсивности ПОЛ (ДК, МДА), фосфолипазной активности и снижение активности СОД, что, безусловно, явилось триггером для существенной модификации состава фосфолипидного бислоя мембран клеток. При этом наиболее значимо возрастал уровень лизофосфолипидов – в 15–20 раз в сравнении с нормой (рис. 4–5).

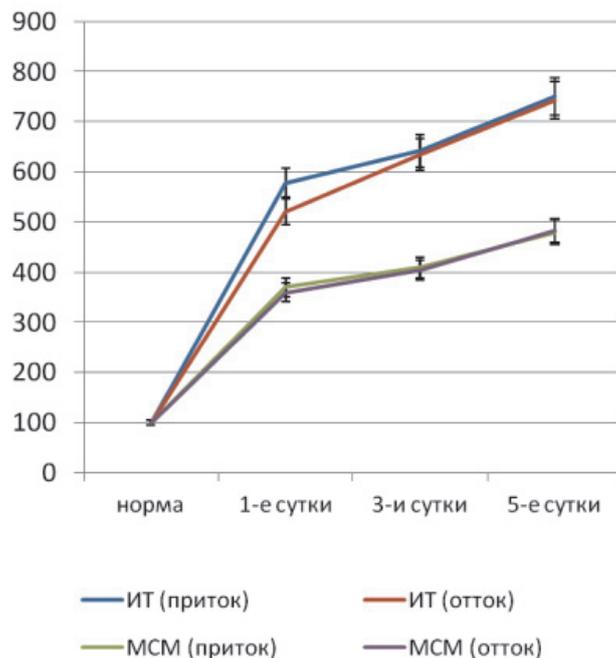


Рис. 3. Показатели детоксикационной активности печени при остром гнойно-фибринозном перитоните (* – достоверность отличия показателей при $p < 0,05$)

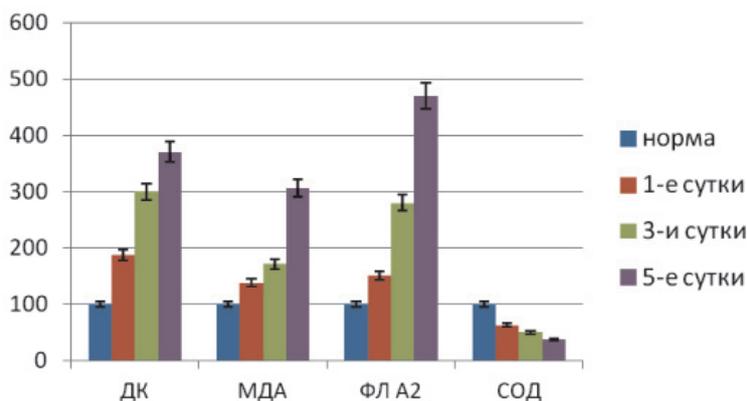


Рис. 4. Показатели ПОЛ и активности фосфолипазы А₂ в тканях легких при остром деструктивном панкреатите

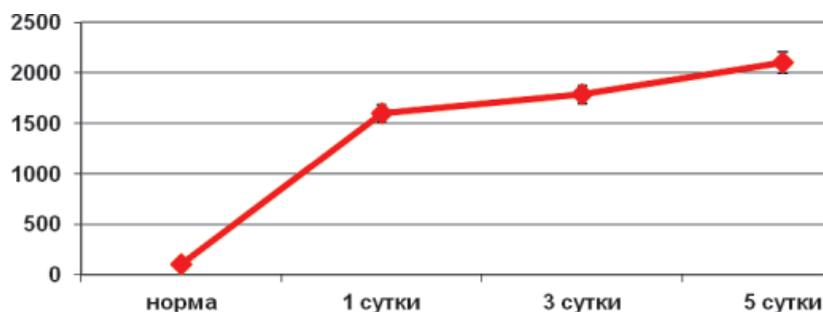


Рис. 5. Содержание лизофосфолипидов в ткани печени при остром гнойно-фибринозном перитоните

Корреляционный анализ показал, что между показателями детоксикационной способности органов и нарушениями липидного состава имеется корреляционная связь

($r = 0,678 - 0,972$). Таким образом, впервые доказана сопряженность состояния органических барьеров противотоксической защиты с мембранодестабилизирующими явлениями.

Как отмечено выше, при определенных условиях, которые в наших модельных экспериментах выражались в чрезмерной интенсивности ПОЛ и фосфолипазной активности, в клетках исследованных органов детоксикационной системы возникали такой выраженности мембранодеструктивные процессы, при которых органы не только не обеспечивали нейтрализацию токсических продуктов, а сами становились дополнительным источником ЭИ.

Заключение

В рамках молекулярной динамики мембранных клеточных фосфолипидных перестроек и модуляции дисфункционального состояния исследованных органов сформулирована концепция значимости мембранодестабилизирующего процесса в прогрессировании эндотоксикоза.

Концепция не только определяет сам факт возможности прогрессирования ЭИ вследствие утраты детоксикационной способности органов, на которые возложена эта функция, но и «активное» их участие в прогрессировании эндотоксикоза. Фактически на определенных этапах патологического процесса органы детоксикационной системы могут становиться дополнительным источником эндотоксикоза.

Полученные данные, на наш взгляд, имеют не только академическое, но и прикладное значение, определяя наиболее важный спектр направлений по решению проблемы эндотоксикоза, в частности по сохранению структурно-функциональной организации биомембран клеток органов естественной системы детоксикации.

Список литературы

1. Багненко С.Ф., Гольцов В.Р. Острый панкреатит – современное состояние проблемы и нерешенные вопросы // Альманах Института хирургии им. А.В. Вишневого. – 2008. – Т. 3. – № 3. – С. 104–112.
2. Власов А.П., Анашкин С.Г., Григорьева Т.И., Пятнова И.В. Метаболические нарушения при остром панкреатите // Анналы хирургической гепатологии. – 2013. – Т. 18, № 2. – С. 90–94.
3. Власов А.П., Крылов В.Г., Григорьева Т.И., Начкина Э.И., Тингаев М.В. Коррекция синдрома эндогенной интоксикации при остром панкреатите // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2010. – № 5. – С. 60–64.
4. Власов А.П., Логинова О.В., Васильев В.В., Власова Т.И., Шибитов В.А., Казаева Т.Н., Матвеева М.В. Фармакологические эффекты ремаксола при эндотоксикозе перитонеального генеза // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т. 74. – № 5. – С. 40–42.
5. Ермолов А.С., Иванов П.А., Гришин А.В. Патогенетические подходы к диагностике и лечению острого панкреатита // Хирургия. – 2007. – № 5. – С. 4–8.
6. Ерюхин И.А. Хирургия гнойного перитонита // Consilium Medicum (хирургия). – 2008. – № 1. – С. 43–48.
7. Ефимова И.С. Системная воспалительная реакция у больных вторичным и третичным перитонитом // Инфекция в хирургии. – 2007. – № 1. – С. 27–31.
8. Савельев В.С., Петухов В.А., Ан Е.С., Семенов Ж.С., Миронов А.В. Дисфункция эндотелия при ЛДС и дисмета-

болических последствиях перитонита // Русский медицинский журнал. – 2009. – № 14. – С. 881–890.

9. Седов В.М. Программированная санационная лапароскопия в лечении перитонитов // Вестник хирургии. – 2008. – № 1. – С. 88–91.
10. Anaya D.A., Nathens A.B. Risk factors for severe sepsis in secondary peritonitis // Surgical Infections. – 2003. – Vol. 4. – № 4. – P. 335–362.
11. Ammori B.J. Role of the gut in the course of severe acute pancreatitis // Pancreas. – 2003. – Vol. 26. – № 2. – P. 122–129.
12. Arioli D., Amateis E., Morandi C. Bile peritonitis: a case report and a review of literature about postcholecystectomy damages // Recenti Prog. Med. – 2005. – Vol. 96, № 7–8. – P. 357–61.
13. Bhatia M. Inflammatory response on pancreatic acinar cell injury // Scand. J. Surg. – 2005. – Vol. 94, № 2. – P. 97–102.
14. Browne G.W., Pitchumoni C.S. Pathophysiology of pulmonary complication of acute pancreatitis // World J. Gastroenterol. – 2006. – Vol. 12, № 44. – P. 7087–7096.

References

1. Bagnenko S.F., Gol'cov V.R. *Ostryj pankreatit sovremennoe sostojanie problemy i nereshennye voprosy* // Al'manah Instituta hirurgii im. A.V. Vishnevskogo. 2008. T. 3. no. 3. pp. 104–112.
2. Vlasov A.P., Anashkin S.G., Grigor'eva T.I., Potjanova I.V. *Metabolicheskie narusheniya pri ostrom pankreatite* // Annaly hirurgicheskoy gepatologii. 2013. T. 18, no. 2. pp. 90–94.
3. Vlasov A.P., Krylov V.G., Grigor'eva T.I., Nachkina Je.I., Tingaev M.V. *Korrekcija sindroma jendogennoj intoksikacii pri ostrom pankreatite* // Hirurgija. Zhurnal im. N.I. Pirogova, 2010. no. 5. pp. 60–64.
4. Vlasov A.P., Loginova O.V., Vasil'ev V.V., Vlasova T.I., Shibitov V.A., Kazaeva T.N., Matveeva M.V. *Farmakologicheskie jeffekty remaksola pri jendotoksikoze peritoneal'nogo geneza* // Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. 2011. T. 74. no. 5. pp. 40–42.
5. Ermolov A.S., Ivanov P.A., Grishin A.V. *Patogeneticheskie podhody k diagnostike i lecheniju ostrogo pankreatita* // Hirurgija. 2007. no. 5. pp. 4–8.
6. Erjuhin I.A. *Hirurgija gnojnogo peritonita* // Consilium Medicum (hirurgija). 2008. no. 1. pp. 43–48.
7. Efimova I.S. *Sistemnaja vospalitel'naja reakcija u bol'nyh vtorichnym i tretichnym peritonitom* // Infekcii v hirurgii. 2007. no. 1. pp. 27–31.
8. Savel'ev V.S., Petuhov V.A., An E.S., Semenov Zh.S., Mironov A.V. *Disfunkcija jendotelija pri LDS i dismetabolicheskikh posledstvijah peritonita* // Russkij medicinskij zhurnal. 2009. no. 14. pp. 881–890.
9. Sedov V.M. *Programmirovannaja sanacionnaja laparoskopija v lechenii peritonitov* // Vestnik hirurgii. 2008. no. 1. pp. 88–91.
10. Anaya D.A., Nathens A.B. *Risk factors for severe sepsis in secondary peritonitis* // Surgical Infections. 2003. Vol. 4. no. 4. pp. 335–362.
11. Ammori B.J. *Role of the gut in the course of severe acute pancreatitis* // Pancreas. 2003. Vol. 26. no. 2. pp. 122–129.
12. Arioli D., Amateis E., Morandi C. *Bile peritonitis: a case report and a review of literature about postcholecystectomy damages* // Recenti Prog. Med. 2005. Vol. 96, no. 7–8. pp. 357–61.
13. Bhatia M. *Inflammatory response on pancreatic acinar cell injury* // Scand. J. Surg. 2005. Vol. 94, no. 2. pp. 97–102.
14. Browne G.W., Pitchumoni C.S. *Pathophysiology of pulmonary complication of acute pancreatitis* // World J. Gastroenterol. 2006. Vol. 12, no. 44. pp. 7087–7096.

Рецензенты:

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

Саушев И.В., д.м.н., профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии, ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск.

Работа поступила в редакцию 29.12.2014.