

ОЦЕНКА ЭНТЕРАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ

¹Власов А.П., ¹Абрамова С.В., ¹Власов П.А., ¹Тимошкин С.П., ¹Лещанкина Н.Ю.,
¹Кочеткова Т.А., ¹Логинов М.А., ¹Полозова Э.И.

¹ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск, Россия (430005, г. Саранск, ул. Большевикская, 68), e-mail: vap.61@yandex.ru

В работе на основе изучения в динамике уровня продуктов перекисного окисления липидов, фосфолипазной активности и оценки взаимосвязи локальных (кишечник) и организменных гомеостатических расстройств определены критерии энтеральной недостаточности при остром перитоните. Исследования показали, что сравнительная оценка уровня продуктов перекисного окисления липидов и фосфолипазной активности в плазме крови общего и органного (оттекающего от кишечника) кровотока в ближайшие сроки послеоперационного периода позволяет точно определить «вклад» кишечной недостаточности в насыщение организма токсическими продуктами перекисного окисления липидов. Оценка показателей перекисного окисления липидов в оттекающей от кишечника крови позволяет наиболее полно и адекватно определить выраженность кишечной недостаточности. Существенное повышение или сохранение высокой мезентерико-кавальной разницы уровня токсических продуктов перекисного окисления липидов свидетельствует о неэффективной терапии острого перитонита и сохранении энтеральной недостаточности.

Ключевые слова: перитонит, перекисное окисление липидов, энтеральная недостаточность.

ESTIMATE ENTERIC DEFICIENT LIPID PEROXIDATION

¹Vlasov A.P., ¹Abramova S.V., ¹Vlasov P.A., ¹Timoshkin S.P., ¹Leschankina N.Y.,
¹Kochetkova T.A., ¹Loginov M.A., ¹Polozova E.I.

Mordvinian State University, Saransk, Russia (430005, Saransk, street Bolshevistskaya, 68), e-mail: vap.61@yandex.ru

In this paper, based on the study of the dynamics of the level of lipid peroxidation products, phospholipase activity and assess the relationship of local (intestine) and organismal homeostasis disorders defined criteria enteric disease in acute peritonitis. Studies have shown that a comparative evaluation of the level of lipid peroxidation and phospholipase activity in plasma total and organ (flowing from the intestine) blood flow in the near term postoperative accurately determine the "contribution" of intestinal failure in the saturation of the body toxic products of lipid peroxidation. Evaluation of lipid peroxidation in the blood flowing from the intestines can more fully and adequately determine the severity of intestinal failure. Substantial increase or retention of high - caval mezenteriko difference levels of toxic products of lipid peroxidation indicates ineffective therapy of acute peritonitis and maintaining enteral insufficiency.

Keywords: peritonitis, lipid peroxidation, enteral failure.

Распространенный перитонит является самым частым и наиболее опасным осложнением острых хирургических заболеваний, повреждений органов брюшной полости, а также оперативных вмешательств на них. Несмотря на интенсивную антибактериальную и инфузионную терапию в сочетании с адекватными методами дренирования брюшной полости, в настоящее время летальность среди больных перитонитом остается высокой и достигает 30-60% [2, 5].

При тяжелых формах перитонита развиваются нарушения важнейших функций тонкой кишки, которые в литературе получили название «энтеральная недостаточность». По мнению многих исследователей, понятие энтеральной недостаточности включает в себя не только дисфункции тонкого кишечника, но и нарушения гомеостаза всего организма [4].

Энтеральная недостаточность становится одним из главных источников прогрессирующей интоксикации при остром перитоните [6, 7].

Отсутствие единого подхода к определению степени тяжести энтеральной недостаточности, как причины эндотоксикоза, затрудняет определение оптимального объема лечения и клинически обоснованных показаний к энтеральной детоксикации. Своевременное выявление, предупреждение и коррекция нарушений, связанных с развитием энтеральной недостаточности, является одним из условий успешного лечения перитонита.

По данным литературы известны способы оценки степени выраженности энтеральной недостаточности при остром воспалительном процессе в брюшной полости. Один из них заключается в определении нарушений микроциркуляции в стенке кишки с помощью лазерной доплеровской флоуметрии [1]. Способ позволяет повысить точность диагностики стадий энтеральной недостаточности распространенного перитонита.

Следует отметить, что данный аналог имеет ряд недостатков. Во-первых, определение данных стадий происходит только лишь на основе нарушений микроциркуляции со стороны серозно-мышечной оболочки, что является не полным, поскольку функциональный статус кишечника (в том числе биологический барьер) в основном определен функциональным состоянием слизистой оболочки. Во-вторых, одним из важнейших проявлений энтеральной недостаточности является нарушение барьерной функции кишечника, что проявляется прорывом токсических продуктов в кровоток. Данный способ это не оценивает.

Вторым способом, наиболее адекватно оценивающим энтеральную недостаточность у больных перитонитом, является способ, в котором в плазме крови, а также перитонеальном экссудате, кишечном содержимом определяют концентрацию эндотоксина грамотрицательной микрофлоры при помощи ЛАЛ-теста [3].

Недостатком данного способа является возможность получения ложноположительных результатов в виде повышения содержания эндотоксина грамотрицательной микрофлоры при других воспалительных процессах, при которых этиологическим фактором может быть указанная микрофлора. Способ также не отражает весь пейзаж токсических продуктов, образующихся при кишечной недостаточности и отражающих степень выраженности нарушения барьерной функции кишечника. Недостатком способа является необходимость исследования трех сред: плазмы крови, перитонеального экссудата и кишечного содержимого.

Цель работы. На основе оценки взаимосвязи локальных (кишечник) и организменных гомеостатических расстройств определить критерии энтеральной

недостаточности при остром перитоните с учетом показателей перекисного окисления липидов.

Поставленная цель достигается тем, что при остром перитоните в раннем послеоперационном периоде исследуют венозную кровь локального кровотока (брыжеечные вены) и венозную кровь на организменном уровне (краниальная полая вена), определяя в них уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Это обусловлено тем, что при перитоните, как указано выше, большое внимание уделяется развитию эндогенной интоксикации, в условиях которой происходит каскадная активизация процессов перекисного окисления липидов, что может приводить к полиорганной недостаточности и смерти больного. Своевременная диагностика, и, что более важно, установление роли кишечной недостаточности в активизации процессов перекисного окисления липидов при остром перитоните весьма значимы для назначения адекватной терапии по ее быстрой и адекватной коррекции. Результаты такого рода исследований могут оценивать и ее эффективность в динамике лечения и своевременного назначения повторных операций.

Материалы и методы исследования

Проведены опыты на 36 взрослых беспородных половозрелых собаках, которым под тиопентал-натриевым наркозом (0,04 г/кг массы) моделировали перитонит путем введения в брюшную полость 20% каловой взвеси из расчета 0,5 мл/кг массы животного. Через 12 ч (1 группа), 24 ч (2 группа) или 48 ч (3 группа) выполняли лапаротомию, санацию брюшной полости, шов лапаротомной раны. В контрольные сроки (1, 2 и 3-е суток) животным выполняли релапаротомию, забор крови общего (из краниальной полой вены) и локального (из брыжеечных вен) кровотока. В послеоперационном периоде животным проводилась антибактериальная (внутримышечные инъекции 2 раза в сутки раствора гентамицина из расчета 0,8 мг/кг массы тела) и инфузионная (внутривенные введения 5% раствора глюкозы и 0,89% раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного) терапия.

Содержание малонового диальдегида (МДА) оценивали в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой. Для определения антиокислительной активности липидов предварительно проводили индукцию липоперекисления раствором сульфата железа в концентрации 5 мкмоль в течение часа. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по способности фермента тормозить аэробное восстановление нитросинего тетразолия до формазана (Гуревич В.С. и др., 1990; Досон Р. и др., 1991), активность каталазы – спектрофотометрическим методом, основанным на способности перекисей образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс (Королюк М. А., 1988). Регистрацию каталитической деятельности фосфолипазы А₂ (ФЛА₂) проводили титрометрическим методом по мере образования свободных жирных кислот (Трофимов В.А., 1999). Диеновые и

триеновые конъюгаты в липидах определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 232 и 275 нм.

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 критерия t Стьюдента. 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

Проведенное исследование показало, что в первой группе через 12 ч после моделирования у животных возникал диффузный серозный перитонит. Ранний послеоперационный период после санации брюшной полости протекал гладко. Летальных исходов не было. При релапаротомии выявлена быстрая регрессия воспалительного процесса брюшной полости. Результаты динамики показателей ПОЛ представлены в табл. 1. Как видно из данных таблицы, при серозном перитоните имеет место активация системы ПОЛв, наиболее выраженная при моделировании перитонита и на первые - вторые сутки эксперимента, что подтверждается увеличением в плазме крови содержания диеновых и триеновых конъюгатов соответственно на 72–124 и 71–224 % ($p < 0,05$). Уровень ТБК-активных продуктов возрастал на 64–184 % ($p < 0,05$). Активность ФЛА₂ увеличивалась в 3,7–16,6 раза, а СОД – уменьшалась на 43–74 % ($p < 0,05$). Активность каталазы менялась неоднозначно. При моделировании перитонита ее значение превышало норму на 13-25% ($p < 0,05$), в первые сутки эксперимента в общем кровотоке показатель был выше нормы на 37% ($p < 0,05$), в локальном – снижался на 22,5% ($p < 0,05$); на вторые сутки в общем кровотоке активность каталазы была выше нормы на 23% ($p < 0,05$), в локальном кровотоке – не имела достоверных отличий от нормы; к третьим суткам показатель снижался на 15-20% ($p < 0,05$) от нормальных значений. Максимальных изменений изученные показатели ПОЛ достигали на первые-вторые сутки после развития заболевания, а затем к третьим суткам эксперимента снижались, однако сохранялись отличными от нормальных значений. Нами также выявлено, что показатели локального кровотока изменялись более существенно, чем показатели общего кровотока на всех этапах динамического наблюдения.

Во второй группе через 24 ч после моделирования у животных возникал распространенный серозно-гнойный перитонит. Ранний послеоперационный период после санации брюшной полости протекал по-разному. При релапаротомии у 9 животных выявлена регрессия воспалительного процесса брюшной полости, у 3 животных – сохранение или прогрессирование острого перитонита. 2 животных в последующем погибли от прогрессирующего перитонита. Результаты динамики показателей ПОЛ представлены в табл. 2. Отмечено, что степень выраженности явлений эндогенной интоксикации, сопровождающейся активацией процессов ПОЛ у животных данной группы была более существенной по сравнению с первой группой и имела сходную динамику в виде наиболее значимого роста показателей ПОЛ при моделировании перитонита и на первые сутки эксперимента. В плазме крови существенно возрастала интенсивность ПОЛ, о чём свидетельствовало увеличение уровней его первичных и вторичных продуктов на фоне снижения активности СОД на 49-75% ($p < 0,05$). Отмечалась интенсификация фосфолипазы A_2 . На 2-е и 3-и сутки эксперимента наблюдалось снижение уровня продуктов ПОЛ в общем и локальном кровотоке, но, также как и в первой группе, они не достигали нормальных значений.

Результаты исследования в третьей группе показали, что через 48 ч после моделирования у животных возникал распространенный гнойно-фибринозный перитонит. Отмечены выраженные воспалительные явления со стороны кишечника. Ранний послеоперационный период после санации брюшной полости протекал тяжело. При релапаротомии у 8 животных выявлено прогрессирование воспалительного процесса брюшной полости, у 4 животных – сохранение или уменьшение воспалительного процесса; 6 животных в последующем погибли от прогрессирующего перитонита. Результаты динамики показателей ПОЛ представлены в табл. 3. Как видно из данных таблицы 3, показатели ПОЛ при гнойно-фибринозном перитоните отличались тенденцией к росту с 1-х по 3-и сутки динамического наблюдения, свидетельствуя о прогрессировании заболевания.

Таким образом, результаты экспериментальных исследований, с одной стороны, подтвердили развитие кишечной недостаточности при остром перитоните и об этом, в первую очередь, свидетельствует сравнительно больший уровень продуктов ПОЛ в оттекающей от кишечника крови, по сравнению с организменным уровнем. С другой стороны, получены доказательства, что течение (прогрессирование) воспалительного процесса сопряжено с кишечной недостаточностью, которую впервые удалось определить количественно.

Таблица 1

Показатели перекисного окисления липидов в плазме крови при серозном перитоните ($M \pm m$)

Показатель	Кровоток	Норма	Модель перитонита	Этапы послеоперационного наблюдения		
				1 сутки	2 сутки	3 сутки
Диеновые конъюгаты, усл.ед./мг липидов	ОК	0,39± 0,01	0,67± 0,01*	<i>0,84±</i> <i>0,01*</i>	0,87± 0,01*	0,75± 0,01*
	ЛК	0,42± 0,01	0,80± 0,01*	<i>0,91±</i> <i>0,01*</i>	0,94± 0,01*	0,83± 0,01*
Триеновые конъюгаты, усл.ед./мг липидов	ОК	0,15± 0,01	0,26± 0,01*	<i>0,31±</i> <i>0,01*</i>	0,34± 0,01*	0,28± 0,01*
	ЛК	0,17± 0,01	0,29± 0,01*	<i>0,50±</i> <i>0,01*</i>	0,55± 0,01*	0,51± 0,01*
Малоновый диальдегид, нМоль/г белка	ОК	2,11± 0,07	3,67± 0,23*	<i>5,19±</i> <i>0,14*</i>	4,38± 0,15*	3,02± 0,07*
	ЛК	2,23± 0,08	5,03± 0,12*	<i>6,04±</i> <i>0,09*</i>	5,65± 0,08*	4,51± 0,47*
Индукцированный малоновый диальдегид, нМоль/г белка	ОК	2,87± 0,14	6,79± 0,15*	<i>7,28±</i> <i>0,13*</i>	5,69± 0,12*	4,72± 0,14*
	ЛК	3,12± 0,09	8,69± 0,10*	<i>8,87±</i> <i>0,12*</i>	7,29± 0,16*	6,02± 0,14*
Фосфолипаза А ₂ , мкМоль/с/г белка	ОК	0,04± 0,01	0,53± 0,01*	<i>0,59±</i> <i>0,01*</i>	0,36± 0,01*	0,15± 0,01*
	ЛК	0,05± 0,01	0,75± 0,01*	<i>0,83±</i> <i>0,01*</i>	0,57± 0,01*	0,23± 0,01*
Каталаза, мг Н ₂ О ₂ /мин/г белка	ОК	0,030± 0,001	0,034± 0,001*	<i>0,041±</i> <i>0,001*</i>	0,037± 0,001*	0,024± 0,001*
	ЛК	0,040± 0,001	0,050± 0,001*	<i>0,031±</i> <i>0,001*</i>	0,042± 0,001*	0,034± 0,001*
Супероксиддисмутаза (усл.ед./мг белка)	ОК	4,05± 0,15	1,07± 0,08*	<i>1,45±</i> <i>0,09*</i>	1,72± 0,11*	2,03± 0,14*
	ЛК	3,25± 0,13	1,02± 0,07*	<i>1,09±</i> <i>0,08*</i>	1,63± 0,05*	1,86± 0,07*

Примечание: Здесь и далее: ОК – общий и ЛК – локальный кровоток; * – достоверность по отношению к норме при $p < 0,05$; жирный шрифт – достоверность разницы между данными общего и локального кровотока при $p < 0,05$; курсив – достоверность разницы между данными этапа модели перитонита и этапа 1 сутки после операции при $p < 0,05$

Таблица 2

Показатели перекисного окисления липидов в плазме крови при серозно-гнойном перитоните ($M \pm m$)

Показатель	Кровоток	Норма	Модель перитонита	Этапы послеоперационного наблюдения		
				1 сутки	2 сутки	3 сутки
Диеновые конъюгаты, усл.ед./мг липидов	ОК	0,39± 0,01	0,71± 0,01*	<i>0,87±</i> <i>0,01*</i>	0,92± 0,01*	0,77± 0,01*
	ЛК	0,42± 0,01	0,84± 0,01*	<i>0,95±</i> <i>0,01*</i>	0,99± 0,01*	0,88± 0,01*

Триеновые конъюгаты, усл.ед./мг липидов	ОК	0,15± 0,01	0,30± 0,01*	0,34± 0,01*	0,37± 0,01*	0,31± 0,01*
	ЛК	0,17± 0,01	0,33± 0,01*	0,55± 0,01*	0,59± 0,01*	0,56± 0,01*
Малоновый диальдегид, нМоль/г белка	ОК	2,11± 0,07	3, 17± 0,25*	5,23± 0,13*	4,42± 0,17*	3,12± 0,08*
	ЛК	2,23± 0,08	5,09± 0,14*	6,12± 0,08*	5,71± 0,09*	4,55± 0,48*
Индукцированный малоновый диальдегид, нМоль/г белка	ОК	2,87± 0,14	6,82± 0,16*	7,35± 0,15*	5,78± 0,11*	4,77± 0,17*
	ЛК	3,12± 0,09	8,75± 0,12*	8,93± 0,14*	7,37± 0,17*	6,18± 0,12*
Фосфолипаза А ₂ , мкМоль/с/г белка	ОК	0,04± 0,01	0,57± 0,01*	0,62± 0,01*	0,39± 0,01*	0,17± 0,01*
	ЛК	0,05± 0,01	0,78± 0,01*	0,89± 0,01*	0,61± 0,01*	0,26± 0,01*
Каталаза, мг Н ₂ О ₂ /мин/г белка	ОК	0,030± 0,001	0,037± 0,001*	0,045± 0,001*	0,040± 0,001*	0,029± 0,001
	ЛК	0,040± 0,001	0,056± 0,001*	0,059± 0,001*	0,068± 0,001*	0,057± 0,001*
Супероксиддисмутаза (усл.ед./мг белка)	ОК	4,05± 0,15	1,02± 0,07*	1,34± 0,08*	1,62± 0,09*	1,95± 0,15*
	ЛК	3,25± 0,13	0,95± 0,05*	1,03± 0,07*	1,49± 0,08*	1,65± 0,09*

Таблица 3

Показатели перекисного окисления липидов в плазме крови при гнойно-фибринозном перитоните (M±m)

Показатель	Кровоток	Норма	Модель перитони- та	Этапы послеоперационного наблюдения		
				1 сутки	2 сутки	3 сутки
Диеновые конъюгаты, усл.ед./мг липидов	ОК	0,39± 0,01	0,79± 0,01*	0,95± 0,01*	1,03± 0,02*	1,14± 0,04*
	ЛК	0,42± 0,01	0,91± 0,01*	1,07± 0,05*	1,15± 0,07*	1,23± 0,09*
Триеновые конъюгаты, усл.ед./мг липидов	ОК	0,15± 0,01	0,39± 0,01*	0,45± 0,01*	0,51± 0,01*	0,58± 0,01*
	ЛК	0,17± 0,01	0,44± 0,01*	0,59± 0,01*	0,68± 0,01*	0,75± 0,01*
Малоновый диальдегид, нМоль/г белка	ОК	2,11± 0,07	3, 83± 0,31*	5,48± 0,25*	5,59± 0,30*	5,78± 0,42*
	ЛК	2,23± 0,08	5,37± 0,20*	6,30± 0,17*	6,48± 0,23*	6,64± 0,21*
Индукцированный малоновый диальдегид, нМоль/г белка	ОК	2,87± 0,14	6,99± 0,19*	7,57± 0,34*	7,73± 0,24*	7,89± 0,26*
	ЛК	3,12± 0,09	8,92± 0,29*	9,15± 0,23*	9,32± 0,33*	9,58± 0,29*

Фосфолипаза A ₂ , мкМоль/с/г белка	ОК	0,04± 0,01	0,72± 0,01*	0,84± 0,01*	0,92± 0,01*	0,99± 0,01*
	ЛК	0,05± 0,01	0,84± 0,01*	0,95± 0,01*	0,99± 0,01*	1,17± 0,01*
Каталаза, мг H ₂ O ₂ /мин/г белка	ОК	0,030± 0,001	0,042± 0,001*	0,034± 0,001*	0,027± 0,001	0,021± 0,001*
	ЛК	0,040± 0,001	0,048± 0,001*	0,039± 0,001	0,030± 0,001*	0,024± 0,001*
Супероксиддисмутаза (усл.ед./мг белка)	ОК	4,05± 0,15	0,91± 0,09*	0,80± 0,05*	0,72± 0,03*	0,64± 0,02*
	ЛК	3,25± 0,13	0,83± 0,04*	0,72± 0,01*	0,64± 0,01*	0,53± 0,01*

Выводы

1. Сравнительная оценка уровня показателей перекисного окисления липидов в плазме крови общего и органного (оттекающего от кишечника) кровотока в ближайшие сроки послеоперационного периода позволяет точно определить «вклад» кишечной недостаточности в насыщение организма токсическими продуктами перекисного окисления липидов.
2. Оценка показателей перекисного окисления в оттекающей от кишечника крови позволяет наиболее полно и адекватно определить выраженность кишечной недостаточности.
3. Существенное повышение или сохранение высокой мезентерико-кавальной разницы уровня продуктов перекисного окисления липидов свидетельствует о неэффективной терапии острого перитонита и сохранении энтеральной недостаточности.

Список литературы

1. Жидовинов А.А., Алешин Д.А., Чукарев С.В., Коробова А.А. Способ ранней диагностики стадии энтеральной недостаточности распространенного перитонита у детей. - Патент на изобретение: заявка №2006116447 (018773).
2. Исмагуллоев Н.Р. Диагностика и лечение послеоперационного перитонита. - Материалы научно-практической конференции ТИППМК.- Душанбе, 2002.- С. 119-179.
3. Миронов А. В. Синдром кишечной недостаточности при распространенном перитоните: диагностика и методы энтеральной коррекции. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. - М., 2011. - 150с.
4. Нечаев Э.А., Курыгин А.А., Ханевич М.Д. Дренирование тонкого кишечника при перитоните и кишечной непроходимости.- С-Петербург, 1993.- 288с.
5. Саидмуратов А.С. Энтеральная недостаточность и ее коррекция при перитоните. - Дисс. ...канд. мед. наук. - Душанбе, 2009. - 117с.

6. Штрапов А.А., Рухляда Н.В. Энтеральная дезинтоксикация у больных с перитонитом и острой кишечной непроходимостью // Вестник хирургии им. Грекова.- 1986. - Т. 136(5).- С. 32-35.
7. Rays N.T. Metabolic adaptation to energy production during trauma and sepsis // Surg. Clin. N. Am.- 1986.- №5.- P. 1073-1090.

Рецензенты:

Смолькина 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.