



В.В. Бойко, Ю.В. Иванова,
А.Н. Гамидов, С.А. Савви,
Е.В. Мушенко

ГУ «Институт общей
и неотложной хирургии
НАМНУ», г. Харьков

© Коллектив авторов

РОЛЬ НАРУШЕНИЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА, СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ПОЛ И АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ СПАЙКООБРАЗОВАНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ

Резюме. Проведенные экспериментальные исследования свидетельствуют, что на фоне перитонита наблюдается тесная взаимосвязь между нарушениями в системе свертывания крови с интенсивностью процессов ПОЛ и активностью фосфолипазы, что следует рассматривать как одно из патогенетических звеньев активности спайкообразования.

Ключевые слова: липидный обмен, перекисное окисление липидов, спаечный процесс, перитонит, эксперимент.

Введение

В современной абдоминальной хирургии вопросы развития послеоперационного спаечного процесса остаются достаточно актуальными. Образование соединительной ткани является наиболее частым осложнением хирургических операций на органах брюшной полости – она образуется более чем у 90 % пациентов после операций, выполняемых по поводу перитонита [1, 3, 6, 7].

Смертность пациентов со спаечной кишечной непроходимостью, сопровождающейся странгуляцией и некрозом кишки, колеблется от 6 до 8 % [2, 4, 5]. Несмотря на некоторый успех современных хирургических, фармакологических и физических методов профилактики развития и лечения спаечной болезни, ни один из предложенных методов нельзя признать успешным.

Целью настоящего исследования явилось изучение взаимосвязи изменений липидного обмена с активностью свободно-радикального перекисного окисления липидов с антиоксидантной защитой и оценить роль выявленных нарушений в патогенезе спайкообразования при экспериментальном перитоните.

Материалы и методы исследований

Эксперименты проведены на 20 крысах-самцах линии Вистар с исходной массой тела 180-200 г. Содержание и уход за животными соответствовали соблюдению Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных.

Модель острого перитонита создавали по способу А.П. Власова (1991) следующим образом. В брюшную полость вводили 20 % каловую смесь из расчета 0,5 мл/кг массы животного через прокол брюшной стенки. Через 20-24 часа брюшную полость санировали. В контрольные сроки (1, 3, 5 сутки) выполняли

релапаротомию, оценивали активность спайкообразования, осуществляли забор крови из нижней полой вены, микроскопию тонкой кишки и брюшины. Все вмешательства проводили под внутривенным тиопентал-натриевым наркозом (0,04 г/кг массы). В послеоперационном периоде всем выжившим животным проводили антибактериальную (внутримышечные инъекции 2 раза в сутки раствора гентамицина из расчета 0,8 мг/кг массы тела), инфузионную терапию (подкожные введения 5 % раствора глюкозы и 0,89 % раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного).

Все животные были разделены на две группы по 10 животных в каждой:

Группа 1 включала животных, которым выполнялись симулирующие операции – лапаротомия, релапаротомия в исследуемые сроки наблюдения;

Группу 2 составили крысы, которым моделировали перитонит с изучением выраженности спаечного процесса, метаболических расстройств, структурных изменений тканей, а также летальность в течение 24 часов.

Выраженность спаечного процесса в брюшной полости оценивали по морфологическому признаку, предложенному Р.А. Женчевскому (1989): 1. Отсутствие спаек. 2. Единичные спайки: локализуются в любой области брюшной полости. Спайки вызывают деформацию соответствующих органов, без или с небольшими сужениями их просвета. 3. Умеренно выраженные спайки: адгезиями как одиночными, так и множественными (в том числе и плоскостными) поражена преимущественно тонкая кишка, вызывая многочисленные деформации кишечной трубки, имеется нарушения футлярности органа, сужение просвета с расширением приводящей кишки. 4. Выраженные спайки: адгезиями полностью или частично пережат просвет тонкой кишки с

дилатацией приводящей кишки и нарушением венозного и/или артериального кровотока в брыжейке.

Для сравнительной оценки спаечного процесса в брюшной полости использовали балльную систему для подсчета индуцированных спаек, предложенную M.P. Diamond et al. (1997) (таб. 1).

Таблица 1

Шкала балльной системы для подсчета индуцированных спаек париетальной брюшины переднебоковой стенки живота по M.P. Diamond et al. (1997)

Характеристика послеоперационных спаек	Баллы
Распространенность %	
спайки отсутствуют	0
площадь спаек меньше 25	1
площадь спаек меньше 50	2
площадь спаек меньше 75	3
площадь спаек больше 75	4
Тип:	
спайки отсутствуют	0
тонкие, бессосудистые, прозрачные спайки	1
непрозрачные, бессосудистые, полупрозрачные спайки	2
непрозрачные, с множественными мелкими визуализируемыми сосудами спайки	3
непрозрачные, с множественными крупными (грубыми) с визуализируемыми сосудами спайки	4
Плотность	
спайки отсутствуют	0
спайки лизируются без напряжения	1
спайки лизируются под напряжением	2
лизис спаек производится путем рассечения	3

Продукты ПОЛ определяли спектрофотометрическим методом. Количество спонтанного и Pe^{2+} индуцированного малонового диальдегида (МДА) определяли в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Для оценки состояния гемостаза применялись следующие методики: время спонтанного свертывания крови по Lee R.J. и White P.D. (1913), время рекальцификации плазмы по Bergerhof и Roka (1954), протромбиновое время плазмы по Quick A.J. (1966), тромбиновое время по R.M. Biggs и R.G. Macfarlane (1962), концентрация фибриногена по Рутберг Р.А. (1961), продукты деградации фибриногена и фибрина (ПДФ) в плазме по Nanniga Guest. Определение концентрации триглицеридов проводили колориметрическим энзиматическим методом. Определение концентрации общего холестерина проводили колориметрическим энзиматическим методом. Определение концентрации липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) и липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) проводили прямым колориметрическим энзиматическим методом. С-реактивный белок (СРБ) в сыворотке крови определяли при помощи реакции преципитации в капилляре.

Весь полученный в результате проведенного морфологического исследования цифровой массив данных обрабатывался методами мате-

матической статистики с использованием вариационного анализа.

Результаты исследований и их обсуждение

Через 20-24 часа у крыс 2 группы после моделирования перитонита в брюшной полости наблюдался мутный с желтоватым оттенком выпот, содержащий хлопья фибрина. Петли тонкой кишки дилатированы и содержали жидкость и газ, сероза тусклая, отечна, инфильтрирована, а в ряде случаев истончена. Брыжейка кишки инфильтрирована, сосуды ее расширены, полнокровны. Париетальная брюшина утолщена, гиперемирована с мелко- и крупноточечными кровоизлияниями, с наложениями фибрина. При микроскопическом исследовании ткань ее была обильно пропитана лейкоцитарными скоплениями, кровеносные сосуды полнокровны с участками выраженного экссудативного васкулита. Выявлялись отчетливые сосудистые нарушения с признаками ДВС-синдрома, сладжа и стаза эритроцитов, внутрисосудистой агрегации фибрина с образованием тромбов и очаговых кровоизлияний. Большой сальник отечен с полнокровными сосудами.

При микроскопическом исследовании ткани кишки обнаружена картина флегмонозного воспаления, очаги некроза и изъязвления слизистой оболочки. Выявлялись дисциркуляторные явления в виде отека, венозного полнокровия, очаговых и диффузных кровоизлияний, инфильтрации полиморфно-ядерными лейкоцитами.

Через сутки после операции у крыс этой подгруппы общее количество выпота в брюшной полости увеличилось. Отмечался отек париетальной брюшины с мелкоточечными кровоизлияниями и с участками налета фибрина. Петли тонкой кишки в большинстве наблюдений были вздуты, сероза синюшно-бледная, сосуды расширены. В этот период наблюдения у всех животных в брюшной полости обнаруживался адгезивный процесс. Количество спаек оценивалось $4,56 \pm 0,63$ баллов. В 1 наблюдении спаечный процесс имел невыраженный характер, на серозной оболочке кишечника имелись тонкие фибриновые наложения, которые обуславливали непрочное слипание их между собой и париетальной брюшиной, и легко разрушались тупым путем (рис. 1).

В 3-х случаях спаечный процесс был средней выраженности: между петлями тонкой кишки и париетальной брюшиной имелись наложения фибрина, разделение рыхлых сращений было затруднено и сопровождалось капиллярным кровотечением. В одном случае были обнаружены массивные слипания петель тонкой кишки между собой и париетальной брюшиной.



Рис. 1. Макропрепарат тонкой кишки. 1-е сутки после операции. Спайки между петлями тонкой кишки

Через 3 суток после моделирования перитонита общее количество экссудата составляло $18,78 \pm 1,75$ мл. Уровень спаек достигал в среднем $6,78 \pm 0,76$ баллов. На этом этапе наблюдения единичные, свободно разделяемые спайки обнаружены в одном наблюдении. В эти сроки умерло одно животное. В 3 наблюдениях спайкообразование носило умеренный характер, но разделение спаянных между собой петель тонкой кишки или удаление с них фибринозных осуществлялось с техническими сложностями. В одном случае в брюшной полости определялся единый конгломерат, состоящий из спаянных между собой органов брюшной полости с множественными межпетельными абсцессами (у умершей крысы). У 1 животного выявлен выраженный спаечный процесс, затруднявший входение в брюшную полость из-за плотных сращений между срединной правой и внутренними органами (рис. 2).

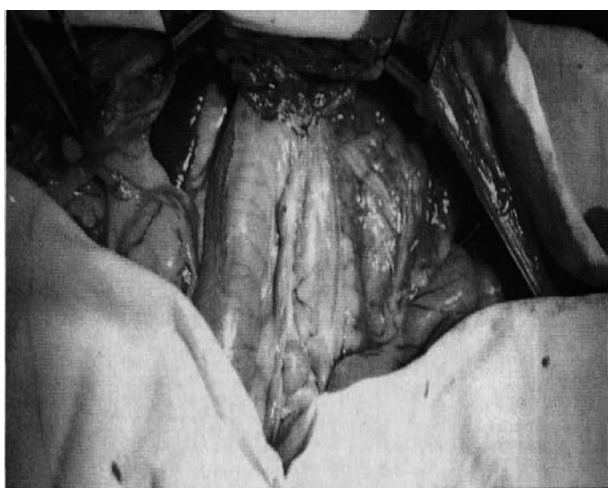


Рис.2. Макропрепарат тонкой кишки. 3-е сутки после операции. Петли тонкой кишки припаяны к послеоперационной ране.

На 5 сутки эксперимента у крыс этой подгруппы количество адгезий составляло в сред-

нем $7,22 \pm 0,78$ баллов. Общее количество экссудата в брюшной полости равнялось $8,56 \pm 1,02$ мл. В 2 случаях адгезивный процесс был средней выраженности, а в 2 - единичным, однако спайки представляли собой плотные сращениями, разделение которых вело к капиллярному кровотечению (рис. 3). В одном случае обнаружены два межпетельных абсцесса.



Рис. 3. Макропрепарат тонкой кишки. 5-е сутки после операции. Плотные сращения между петлями кишечника.

У крыс 2 группы содержание начальных продуктов ПОЛ в крови достоверно повышалось соответственно на 60 %, а ТБК-реагирующих продуктов – на 96,62 %. Активность фосфолипазы А2 увеличилась на 51,19 % ($p < 0,05$). Во все сроки наблюдения количество начальных и ТБК-реагирующих продуктов в сыворотке крови оставалось достоверно повышенным в 1,5-2,5 раза (таб. 2).

Таким образом, у крыс 2-й группы отмечена интенсификация процессов ПОЛ и повышение активности фосфолипазы А2. Традиционная терапия острого перитонита корригировала выявленные патологические процессы, однако ее воздействие проявлялось только на 5 сутки лечения.

Изучение показателей свертывающей системы крыс 2-й группы показало, что при перитоните время свертывания крови в общем кровотоке достоверно укорачивалось на 16,9 %, время рекальцификации плазмы – на 16,17 %, повышалась концентрация фибриногена на 19,88 % по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,001$), в первые сутки исследования этот показатель превышал контрольные значения на 23,44 % и сохранялся повышенным во все сроки исследования. Гематокрит при перитоните повышался на 18,37 % ($p < 0,05$), вязкость крови – на 58,2 % ($p < 0,05$). Первые трое суток после операции время свертывания крови уровне сохранялось достоверно укороченным, а к 5 суткам приближалось к контрольным значениям. Через сутки после санации брюшной полости время рекальцификации плазмы

Таблиця 2

Перекисное окисление липидов и активность фосфолипазы А2 в ткани кишки при перитоните (М±m)

Показатель	Контрольные значения (1 группа)	Модель перитонита (2 группа)	Сроки наблюдения		
			1 сутки	3 сутки	5 сутки
Диеновые конъюгаты (у.е./мг)	0,414±0,003	0,637±0,007*	0,698±0,005*	0,613±0,005*	0,553±0,009*
МДА (нмоль/г)	3,32±0,04	6,52±0,08*	8,22±0,07*	6,82±0,06*	5,00±0,04*
Ре-МДА (нмоль/г)	5,03±0,04	9,51±0,15*	11,52±0,12*	10,09±0,14*	7,00±0,08*
Фосфолипаза А2 (мкмоль/г)	1,31±0,02	1,98±0,03*	2,52±0,11*	2,11±0,09*	1,93±0,06*

Примечание: * – данные, изменение которых достоверно по отношению к контрольным значениям при p<005.

Таблиця 3

Показатели системы свертывания крови при перитоните (М± m)

Показатель	1 группа	2 группа	Сроки эксперимента		
			1 сутки	3 сутки	5 сутки
Время свертывания, с	301,11±4,22	250,22±7,14*	257,78 ±4,43*	260,44±4,49*	289,44±5,98
Время рекальцифика-	119,56±6,43	100,22±3,14*	95,78±2,70*	104,89±2,01*	111,33±3,40
Фибриноген, г/л	3,37±0,06	4,04±0,08*	4,16±0,12*	4,81±0,09*	3,93±0,19*
Фибриноген Б	++	++++	++++	+++	+++
Гематокрит (%)	42,33 ±1,13	50,11±1,02*	50,33±1,27*	48,44±0,92*	47,78±0,91*
Вязкость крови, у.е.	3,84±0,12	6,08±0,14*	6,36±0,19*	5,67±0,08*	4,83±0,09*

Примечание: * – данные, изменение которых достоверно по отношению к контрольным значениям при p<005.

Таблиця 4

Состав липидов в плазме крови при экспериментальном перитоните, (М± m)

Показатель	1 группа	2 группа	Этапы послеоперационного наблюдения		
			1 сутки	3 сутки	5 сутки
Общие липиды (г/л)	1,83±0,04	02,61±0,1	3,47±0,03*	2,93±0,08*	3,29±0,14*
Общий холестерин (моль/л)	1,12±0,11	1,75±0,11*	1,93±0,12*	2,01±0,08*	1,78±0,12*
Триглицериды (мкг/мл)	0,62±0,08	1,63±0,17*	1,71±0,06*	1,59±0,05*	1,72±0,07*
ЛПНП (мкг/мл)	0,12±0,02	0,39±0,04*	0,41±0,03*	0,42±0,05*	0,38±0,03*
ЛПВП (мкг/мл)	0,92±0,06	0,68±0,07*	0,54±0,05*	0,69±0,03*	0,78±0,06

Примечание: * – данные, изменение которых достоверно по отношению к контрольным значениям при p<005.

в общем кровотоке было достоверно укороченным на 19,89 %, а через 3 суток Ц на 12,27 % (таб. 3). Во все сроки эксперимента в плазме крови содержание продуктов паракоагуляции (фибриноген Б) было повышенным, некоторое снижение этого показателя отмечено к концу эксперимента. Также во все сроки исследования сохранялись повышенным гематокрит и вязкость крови, на фоне проводимого лечения снижение этих показателей было статистически недостоверным.

При моделированном перитоните в сыворотке крови крыс отмечено повышение уровней триглицеридов и ЛПНП, а также снижение концентрации ЛПВП (табл. 4).

При экспериментальном перитоните отмечалось повышение уровня общих липидов в плазме крови на 42,62 % (p<005), общего холестерина – на 56,25 %, триглицеридов – в 2,6 раз, ЛПНП – в 3,2 раза, а также отмечалось снижение уровня ЛПВП на 35,29 % (p<005). На фоне проводимого традиционного лечения у крыс 2-й группы достоверных изменений исследуемых показателей не выявлено.

Как видно из приведенных в таблице 4 данных, у крыс 2 группы на фоне традиционного лечения достоверных изменений показателей липидного профиля не происходило.

Как известно, основным биохимическим маркером, отражающим дисфункцию эндотелия, является СРБ.

В таблице 5 представлены данные о содержании СРБ в сыворотке крови крыс группы сравнения.

Таблиця 5

Содержание СРБ в сыворотке крови при экспериментальном перитоните

Показатель	1 группа	2 группа	Этапы послеоперационного наблюдения		
			1 сутки	3 сутки	5 сутки
СРБ	+1	+4	+4	+3	+2

Как свидетельствуют приведенные в таблице 5 данные, у крыс 2 группы на фоне проведения традиционного лечения происходит постепенное снижение исследуемого показателя, однако, к концу исследования сохраняется повышенное его содержание. Результаты проведенных экспериментальных исследований



показали, что на фоне традиционной терапии перитонита в брюшной полости отмечен активный адгезивный процесс, прогрессирующий по мере стихания воспаления брюшины. В целом формирование спаек определялось следующими составляющими (рис. 4).

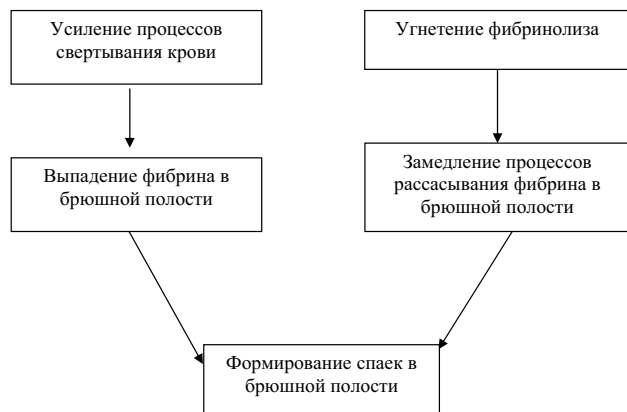


Рис. 4. Основные составляющие формирования спаек в брюшной полости при перитоните

Полученные данные позволяют говорить о следующих патогенетических аспектах процесса формирования спаек в брюшной полости при перитоните. При остром воспалении брю-

шины в свободной брюшной полости скапливается значительное количество выпота, богатого фибриногеном и содержащего факторы свертывания, что и обуславливает появление фибриновых наложений на брюшине. В первые трое суток эксперимента сохранялся активный процесс фибринообразования и начиналась организация фибриновых наложений. Это объясняется тем, что в раннем послеоперационном периоде сохраняются гиперкоагуляция и торможение фибринолитической активности, с сохранением высокой активности свободно-радикальных процессов ПОЛ и фосфолипазы А₂, снижением антиоксидантной защиты. Таким образом, проведенные экспериментальные исследования свидетельствуют, что при перитоните существует о тесной взаимосвязи между изменениями в системе свертывания крови, интенсивностью процессов ПОЛ и активностью фосфолипазы А, составом основных классов липидов. Именно взаимосвязанные между собой изменения в изученных компонентах гомеостаза, которые в большинстве нужно рассматривать как патологические, и определяют активность спайкообразования в брюшной полости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев Т.Н. Спаечная кишечная непроходимость и абдоминальная спаечная болезнь / Т.Н. Андреев // Российский научно-практический журнал «Скорая медицинская помощь». – 2004. – Т.5, № 3. – С. 66-67.
2. Видеолапароскопическое лечение ранней спаечной кишечной непроходимости. / П.И. Кошелев, А.А. Глухов, В.Н. Лейбельс и др. // Российский научно-практический журнал «Скорая медицинская помощь». – 2004. – Т.5, №3. – С. 93-94.
3. Курбанов К.М. Оптимизация ранней диагностики и хирургического лечения острой спаечной тонкокишечной непроходимости. / К.М. Курбанов, М.К. Гулов. // Российский научно-практический журнал «Скорая медицинская помощь». – 2004. – Т.5, № 3. – С.98-99.
4. Петров В.П. Кишечная непроходимость. / В.П. Петров, И.А. Ерюхин. – М.: Медицина, 1989. – 288 с.
5. Шальков Ю.Л. Дискуссионные аспекты спаечного синдрома / Ю.Л. Шальков // Вестник хирургии. – 1996. – №5. – С.99-103.
6. Clinical trial design for evaluation of treatments purported to prevent postsurgical adhesions / Pelvic surgery: adhesion formation and prevention / Eds: G.S. diZerega, A.H. DeCherney, R.C. Dunn et al. //Springer Verlag, New York Inc. 1997. – P. 117-125.
7. Heaton D. Low molecular weight versus unfractionated heparin. A clinical and economical appraisal. / D. Heaton, M. Pearce. // Pharmacoeconomics. – 1995. – Vol. 8, – P. 91-99.



РОЛЬ ПОРУШЕННЯ
ЛІПІДНОГО ОБМІНУ,
ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО
ПОЛ ТА АКТИВНОСТІ
АНТИОКСИДАНТНОГО
ЗАХИСТУ У ПАТОГЕНЕЗІ
СПАЙКОУТВОРЕННІ ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ
ПЕРИТОНІТІ

*В.В. Бойко, Ю.В. Іванова,
А.Н. Гамідов,
С.О. Савві, Є.В. Мушенко*

Резюме. Виконані експериментальні дослідження свідчать, що на фоні перитоніта спостерігається тісний взаємозв'язок між порушеннями в системі згортання крові з інтенсивністю процесів ПОЛ та активністю фосфоліпази, що слід розглядати як одну з патогенетичних ланок активності злукоутворення.

Ключові слова: *ліпідний обмін, перекисне окислення ліпідів, злуковий процес, перитоніт, експеримент.*

ROLE OF LIPID
METABOLISM DISRUPTION,
FREE RADICAL LIPIDS
PEROXIDATION AND
ANTIOXIDANT ACTIVITY
IN THE PATHOGENESIS OF
ADHESION FORMATION
IN EXPERIMENTAL
PERITONITIS

*V.V. Boyko, Yu.V. Ivanova,
A.N. Hamidov, S.A. Savvi,
E.V. Mushenko*

Summary. It was experimentally established close relationship between disruption of coagulation, intensity of lipid peroxidation and phospholipase activity due to experimental peritonitis. It should be considered as one of pathogenetic links of activity of adhesion process.

Keywords: *lipid metabolism, lipid peroxidation, adhesions, peritonitis, experiment.*