УДК 616-07+616.381-002+616.34-007.272

ДЕСТАБІЛІЗІЦІЯ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ЯК ФАКТОР РОЗВИТКУ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ У ХВОРИХ НА ГОСТРУ ТОНКОКИШКОВУ НЕПРОХІДНІСТЬ

В.Д. Скрипко

Івано-Франківський національний медичний університет

ДЕСТАБИЛИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У БОЛЬНЫХ ОСТРОЙ ТОНКОКИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТЬЮ

В.Д. Скрипко

Ивано-Франковский национальный медицинский университет

DESTABILIZATION OF THE CELL MEMBRANES AS A FACTOR OF ENDOGENOUS INTOXICATION DEVELOPMENT IN PATIENTS WITH ACUTE SMALL INTESTINAL OBSTRUCTION

V.D. Skrypko

Ivano-Frankivsk National Medical University

Резюме. Проведено комплексне хірургічне обстеження і лікування 202 пацієнтів, хворих на гостру тонкокишкову непрохідність (ГТКН). Було встановлено, що універсальним механізмом пошкодження клітинних мембран, викликаного активацією вільних радикалів при ГТКН, є процеси перекисного окислення ліпідів, які беруть участь у формуванні первинних і вторинних токсичних продуктів, які є одними з провідних факторів розвитку ендогенної інтоксикації. У фізіологічних умовах пошкоджуюча дія вільних радикалів і перекисних сполук на мембрани клітин контролюється багатокомпонентною системою, яка модифікує вільні радикали, гальмує процеси перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), запобігає утворенню пероксидів та попереджує деструкцію мембран, зберігаючи нормальну життєдіяльність клітин. Отримані результати свідчать про прогресивне наростання дестабілізації клітинних мембран за рахунок наростання продуктів ПОЛ- дієнових кон'югатів та малонового альдегіду з 4,98±0,26 до 7,78±0,40 при нормі 3,46±0,08 нмол/мл та 1,98±0,05 - 3,56±0,16 при нормі 1,42±0,04 ум.од. при одночасному виснаженні показників антиоксидантного захисту(АОЗ) : церулоплазміну з 23,4±1,05 до 16,40±0,70 при нормі 29,4±0,88 ум.од, активність каталази-10,14±0,55 до 7,08±0,27 при нормі 12,75±0,26 мг H2O2/мл та насиченість трансферину залізом з 0,17±0,03 до 0,13±0,004 при нормі 0,19±0,002 ум.од. залежно від часу розвитку ентерергії кишки при ГТКН на фоні наростання показників ендогенної інтоксикації.

Результати досліджень вказують на обґрунтоване застосування в комплексному хірургічному лікуванні антигіпоксантної, антиоксидантної, гепатопртекторної та інтестинальної терапії у хворих з ГТКН.

Ключові слова: гостра тонкокишкова непрохідність, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантна система, інтоксикація.

Резюме. Проведено комплексное хирургическое обследование и лечение 202 пациентов с острой тонкокишечной непроходимостью (ОТКН). Установлено, что универсальным механизмом повреждения клеточных мембран, вызванного активацией свободных радикалов при ОТКН, есть процессы перекисного окисления липидов, которые берут участие в формировании первичных и вторичных токсических продуктов, которые есть одним из патогенетических факторов развития эндогенной интоксикации. При физиологических условиях повреждающее действие свободных радикалов и пероксидных соединений на мембраны клеток контролируется многокомпонентной системой, которая модифицирует свободные радикалы, термозит процессы пероксидного окисления липидов (ПОЛ), предотвращает образование пероксидов и предупреждает деструкцію мембран клеток, сохраняя жизнеспособность клеток. Полученные результаты свидетельствуют о прогрессивном наростании дестабилизации клеточных мембран за сет наростання ПОЛ-диєновых коньюгатов та малонового альдегида с 4,98±0,26 до 7,78±0,40 при норме 3,46±0,08 нмол/мл и 1,98±0,05 - 3,56±0,16 при норме 1,42±0,04 ус.ед. при при одновременном истощении показателей в антиоксидантной защиты (АОЗ) : церулоплазмина с 23,4±1,05 до 16,40±0,70 при норме 29,4±0,88 ус.ед, активность каталазы-10,14±0,55 до 7,08±0,27 при норме 12,75±0,26 мг H2O2/мл, и насыщенность трансферина железом с 0,17±0,03 до 0,13±0,004 при норме 0,19±0,002 ус.ед. в зависимости от времени развития ентерергии кишки при ОТКН на фоне возростания показателей эндогенной интоксикации.

Результаты исследования показывают на обоснованное применение в комплексном хирургическом лечении антигиппоксантной, антиоксидантной, гепатопротекторной и интестинальной терапії у больных с ОТКН.

Ключевые слова: острая тонкокишечная непроходимость, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, интоксикация.

Abstract: The complex surgical examination and treatment of 202 patients with acute small intestinal obstruction (ASIO) was conducted. It was established, that the universal mechanism of cell membrane damage, caused by the activation of free radicals with ASIO, are the processes of peroxide oxidization of lipids which participate in forming the primary and secondary toxic products that are one of the leading factors of the endogenous intoxication development. Under physiological conditions damaging effect of free radicals and peroxides in the cell membrane is controlled by a multicomponent system which modifies free radicals, inhibits lipid peroxidation (LPO), and prevents the formation of peroxides and prevents degradation of the membranes, while maintaining the normal functioning of cells. These results suggest a progressive increase of cell membranes destabilization by lipid peroxidation products increase, LPO-diene conjugates and malonic aldehyde with 4.98±0.26 to 7.78±0.40 at a rate of 3.46±0.08 nmol/ml and 1.98±0.05 – 3.56±0.16 at a rate of 1.42±0.04 c.u., while thedepletion of antioxidant defense (AOD) parameters was: ceruloplasmin from 23.4±1.05 to 16.40±0.70 at a rate of 29.4±0.88 c.u., catalase activity 10.14±0.55 to 7.08±0.27 at a rate of 12.75±0.26 mg N2O2/ml and transferrin saturation with iron from 0.17±0.03 to 0.13±0.004 at a rate of 0.19±0.002 c.u. depending on the time of intestine enterergy in HTKN against the background growth of endogenous intoxication parameters.

The research results indicate the reasonable use of complex surgical treatment in antihypoxant, antioxidant, hepatoportektor and intestinal therapy for patients with acute small bowel obstruction.

Keywords: acute small bowel obstruction, lipid peroxidation, antioxidant system, intoxication.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень. У структурі хірургічної патології ГТКН відноситься до найбільш тяжких ускладнень серед захворювань органів черевної порожнини. Основною причиною критичного стану та високої летальності хворих відіграє наростання ЕІ, яка призводить до дисфункції життєво важливих органів та розвитку синдрому поліорганної недостатності [1,3].

Провідну роль у формуванні ендотоксикозу при ГТКН

відводиться ентерергії кишечника за рахунок неспроможності моторноевакуаторної, секреторної та всмоктувальної функції кишок [2]. Існує залежність між подовженістю непрохідності, глибиною патморфологічних змін, часом оперативного втручання та розрішенням захворювання. З віддаленням часу розвитку непрохідності в стінці привідного відділу тонкої кишки спостерігаються наростання патморфологічних змін, що проявляються значними крововиливами, затромбованими судинами та їх розривами, набряклістю всіх шарів стінки кишки, некротичними та некробіотичними процесами в слизовій оболонці та відшаруванням її. В привідній петлі, на перших етапах розвитку непрохідності, інтрамуральні рецептори нервових волокон знаходяться в стані гіпербаричного процесу, що клінічно проявляються у посиленій перистальтиці, розтягненням кишкової стінки, зумовленої скопиченням рідини і газів за рахунок активної бактеріальної флори та процесів бродіння до моменту паралічу. Останній супроводжувався значним розволкненням і розривом сполучнотканинних волокон у стінці кишки, які перетворювались у без'ядерні безформенні обривки. Випіт у черевну порожнину ставав різко геморагічним й інфікованим. Одночасно у відвідному відділі спостерігались явища дегенеративних процесів, що характеризувались послабленням перистальтики у дилятованих петлях.

З розвитком ураження дилятованого відділу стінки кишки і затримкою проходження вмісту виникає збільшення кількості та характеру мікрофлори, що інтенсивно розмножується і активно функціонує [4].

Ендотоксини, які виділяють мікроорганізми, здатні утворювати і виділяти медіатори гострого запалення, такі як гістамін, серотонін, простогландини, активувати продукти вільнорадикального окислення, які ушкоджують ендотелій судин, сприяючи розвитку системної коагулопатії з утворенням внутрішньо-судинних мікротромбів, руйнують лізосомальні та клітинні мембрани з наростанням проміжних та кінцевих продуктів вільно- радикального окислення малонового альдегіду та дієнових кон'югатів, які є важливими факторами у формуванні ендогенної інтоксикації. Гниття, що виникає у дилятованому відділі тонкої кишки, призводить до надлишкового утворення високотоксичних речовин: індолу, скатолу, фенолу, путрисцину кадаверину [3]. Розлади метаболічного гомеостазу зумовлюють утворення і поступлення в кров значної кількості неідентифікованих токсичних речовин з середньо-молекулярною масою, молекул середньої маси (МСМ), які проявляють нейротоксичну дію, викликають стан вторинної імунодепресії, пригнічують фагоцитарну функцію лейкоцитів та еритопоезу [5]. В міру розвитку ГТКН впродовж короткого часу наростає вміст високо- активних токсичних речовин декількох видів: мікробіотоксини, продукти гниття та деструкції тканини кишки, кишкові яди. З проривом бар'єрної функції кишки значно наростає поступлення токсинів як у лімфатичну систему, так і безпосередньо в кров [6].

Універсальним механізмом в інтенсифікації ендотоксикозу є розвиток оксидантного стресу, що супроводжується ушкодженням клітинних мембран за рахунок активації вільнорадикальних процесів, на основі перекисного окислення структурних ліпідів мембран (ПОЛ). Накопичення проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ, малонового альдегіду (МА) та дієнових кон'югатів призводить до руйнування клітинних мембран, незворотної інактивації ферментів та посиленню внутрішньоклітинного згортання крові [7].

Пошкоджуюча дія ПОЛ на мембрани клітин контролюється багатокомпонентною антиоксидантною системою захисту, яка модифікує вільні радикали, гальмує процеси ПОЛ, запобігає утворенню пероксидів, та попереджуючи деструкцію мембран, зберігає нормальну життєдіяльність клітин [7]. Важливу роль у функціонуванні антиоксидантного захисту (АОЗ) відіграють ферменти церулоплазмін, каталаза, металоротеїн трансферин.

Метою дослідження було дослідити патогенетичну значимість дестабілізації клітинних мембран на основі порушення процесів ПОЛ, наростанні ендотоксикозу за рівнем лейкоцитарного індексу інтоксикації (ЛІІ), індексу інтоксикації (ІІ), молекул середньої маси (МСМ) та АОЗ в різні терміни розвитку у хворих ГТКН.

Матеріали і методи

Проаналізовано результати дослідження у 202 хворих з ГТКН віком від 30 до 80 років залежно від часу виникнення патології, та 30-ти фізично здорових осіб

Визначено клініко-біохімічні показники в операційному періоді залежно від часу поступлення на стаціонарне лікування. Оцінку рівня ендогенної інтоксикації проводили за визначенням вмісту ЛІІ, ІІ, МСМ та показників ПОЛ- МА і ДК та АОЗ –активність церулоплазміну (ЦП), каталази (КАТ), насиченості залізом трансферину.

Вміст МСМ у плазмі крові визначали за методикою Габрієлян Г.І., малонового альдегіду (МА) за тестом тіобарбітуровою кислотою, дієнових кон'югатів (ДК) за УФ – поглинанням гептанових та ізопропанольних екстрактів.

Визначення активності церулоплазміну та насиченості трансферину залізом проводили за методом Бабенко Г.О. Активність каталази –за методом Баха А. і Зубкової С.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням програмно –математичного комплексу для ЕОМ і ВМ PC Exel-7,0 на базі Microsoft Windows 1985-2005, а також програми для статистичної обробки Analys+Soft, 2007. Перевірку закону розподілу вибірок на нормальність проводили за допомогою критерію Шапіро-Вілкі. Для перевірки гіпотези про рівність середніх величин використовували критерії Стьюдента-Фішера для нормально розподілених вибірок і критерії Вілкоксона-Манна-Вітні для вибірок, розподіл яких відрізняється від нормального.

Хворі були розподілені на клінічні групи відповідно до часу поступлення на стаціонарне лікування через 12, 24, 36, 48 і 72 години. Окрему групу досліджень проведено у 30-ти практично здорових людей віком від 18 до 26 років.

Результати та їх обговорення

Біологічні мембрани є основними структурними та функціональними компонентами живих клітин і найпершими змінами формування ентерергії кишечника у хворих з ГТКН є порушення їх структури і функції. В патогенезі клінічного перебігу ГТКН основна роль належить розвитку оксидантного стресу, який розвивається в результаті дисбалансу між оксидантною та антиоксидантною системами за рахунок активації вільних радикалів, що супроводжуються наростанням високих концентрацій кінцевих продуктів ПОЛ, дієнових коньюгатів та малонового альдегіду, які дестабілізують клітинні мембрани, особливо тонкої кишки, являючись ранніми передвісниками формування ендогенної інтоксикації (ЕІ).

Продукти ПОЛ змінюють процеси поділу і росту клітин, викликають набухання і розпад мітохондрій, інактивують ферменти тканинного дихання.

Посилюючи розпад білків, вони сприяють вивільненню тканинних токсинів біологічно активних амінів гістаміну, серотоніну, МСМ, що формують загальний статус ЕІ. Ушкоджуюча дія вільних радикалів та перекисних сполук контролюється антиоксидантною системою.

Встановлено, що інтенсивне наростання ПОЛ-малонового альдегіду та дієнових кон'югатів на фоні порушення кишкового пасажу в організмі залежно від часу розвитку ГТКН. Результати дослідження представлені в таблиці №1.

Так рівень МА та ДК у сироватці крові становили відповідно після 12, 24,36, 48 та 72 годин розвитку патології 4,98±0,26 нмол/мл, 5,12±0,10 нмол/мл, 6,62±0,09 нмол/мл,

Таблиця 1. Динаміка показників ПОЛ та АОЗ як факторів дестабілізації клітинних мембран залежно від часу розвитку непрохідності кишки у хворих ГТКН

Години та к-сть хворих	ПОЛ		АОЗ			ЛІІ ум.од.	ІІ ум.од.	МСМ ум.од
	МА нмоль/л	ДК ум.од	ЦП ум.од	НТЗ ум.од	КАТ мгH_2O_2/мл			
12год, n=12	4,98±0,26*	4,98±0,05*	23,4±1,05*	0,17±0.03*	10,14±0,55*	2.78±0.033*	6.15±0.12*	0.36±0.01*
24 год, n=25	5,12± 0,10*	2,02 ±0,047	21,2± 0,33*	0,16± 0,005	9,36± 0,26*	3.26±0.08*	7.66±0.15*	0.48±0.02*
36 год, n=35	5,34± 0,13*	2,64± 0,07	19,5± 0,41*	0,14± 0,002*	8,85± 0,12*	4.18±0.12*	9.30±0.17*	0.54±0.913*
48 год, n=22	6,62± 0,09*	3,02± 0,08*	17,5± 0,33*	0,13± 0,004*	8,12± 0,22*	5.54±0.08*	11.66±0.22*	0.62±0.01*
72 год, n=7	7,78± 0,40*	3,56± 0,16*	16,40± 0,70*	0,13± 0,004*	7,08± 0,27*	6.10±0.38	13.80±0.68	0.74±0.03*
Норма	3,46± 0,08	1,42± 0,04	29,4 0,88	0,19± 0,002	12,75± 0,26*	0.70±0.007	0.95±0.016	0.27±0.01

Примітка: *p<0,05- вірогідність показників до норми

7,78±0,40 нмол/мл при нормі 3,46±0,08 нмол/мл та 1,98±0,05 ум.од., 2,02±0,047 ум.од., 2,64±0,07 ум.од., 3,02±0,08 ум.од., 3,56±0,16 ум.од. при нормі 1,42±0,04 ум.од.

Одночасно, як було встановлено нами раніше, аналогічна направленість спостерігалась серед інших показників ендотоксикозу, зокрема ЛІІ, ІІ та МСМ.

Під час аналізу показників антиоксидантного захисту в організмі хворих активність ЦП, КАТ та насиченості трансферину залізом (НТЗ) у сироватці крові до лікування вказувало на достовірне прогресивне зниження залежно від часу розвитку ГТКН, порівняно з їх станом у здорових людей.

Так, відповідно до розвитку ГТКН, через 12, 24, 36, 48 та 72 години активність ЦП становило- 23,4±1,05 ум.од., 21,2 ±0,33 ум.од., 19,5±0,41 ум.од., 17,54±0,33 ум.од., 16,40±0,70 ум.од. при нормі 29,4±0,88 ум.од., активність каталази-10,14±0,55 мгH_2O_2/мл, 9,36±0,26 мгH_2O_2/мл, 8,85±0,12 мгH_2O_2/мл, 8,12±0,22 мгH_2O_2/мл та 7,08±0,27 мгH_2O_2/мл при нормі 12,75±0,26 мгH_2O_2/мл, насиченість трансферину залізом-0,17±0,03 ум.од., 0,16±0,005 ум.од., 0,14±0,02 ум.од., 0,13±0,004 ум.од., 0,13±0,004 ум.од. при нормі 0,19±0,002 ум.од.

Аналіз загального співвідношення церулоплазмін-трансфери, де церулоплазмін відіграє роль основного антиоксиданта в сироватці крові, а трансферин виконує проксидантну функцію, дає найбільш повне уявлення про стан антиоксидантної системи. Цей показник у хворих з ГТКН до лікування у загальному був значно нижчий, порівняно з нормою (p<0,01).

Отримані результати аналізів засвідчують, що у хворих на ГТКН залежно від часу поступлення на стаціонарне лікування спостерігається тканинна інтенсифікація дестабілізації клітинних мембран за рахунок процесів перекисного окислення ліпідів, одночасно з виснаженням резерву антиоксидантної системи захисту, показники якої змінювались в протилежному напрямку. Зростання вмісту малонового альдегіду і дієнових кон'югатів у сироватці крові, що мають мембранотоксичні властивості, викликає дестабілізацію та руйнування клітинних мембран, погіршення забезпечення киснем тканин і органів, з розвитком енерогодефіциту що зумовлює інтенсифікацію ендотоксикозу, який є основним фактором у формуванні поліорганної недостатності у хворих на ГТКН.

Висновки

1.У патогенезі гострої тонкокишкової непрохідності у хворих за рахунок розвитку оксидантного стресу, на фоні гіпоксії, в результаті дисбалансу між оксидантною та антиоксидантною системами, накопичується значна кількість продуктів ПОЛ малонового альдегіду та дієнових кон'югатів, які дестабілізують та руйнують клітинні мембрани, зумовлюючи зміну активності ферментів тканинного дихання, та формування енергодефіциту посилюють розпад білків, сприяючи утворенню біологічно активних амінів гістаміну, серотоніну, путрісцину, низькомолекулярних пептидів, молекул середньої маси, що формують загальний статус ЕІ, викликаючи порушення функції паренхіматозних органів. Поряд з цим спостерігається зниження активності церулоплазміну, каталази та насиченості трансферину залізом, що свідчить про виснаження антиоксидантної системи з пригніченям механізмів ауторегуляції гомеостазу.

2. Встановлено чіткий взаємозв'язок між часом наростання ентерергії кишки у хворих на ГТКН та вираженістю порушення дестабілізації клітинних мембран на фоні інтенсифікації ендотоксикозу.

3. Отримані результати свідчать про необхідність у комплексному хірургічному лікуванні додаткового застосування антигіпоксантної та антиоксидантної інтенсивної терапії у хворих на ГТКН.

Перспективи подальших досліджень

На підставі отриманих результатів дослідження будуть сформовані прогностичні критерії щодо значення дестабілізації клітинних мембран у розвитку ендогенної інтоксикації та розроблені протоколи надання невідкладної комплексної хірургічної допомоги з урахуванням перебігу ГТКН у хворих.

Літервтура

1.Рамн В.И. Лечение тяжелых послеоперационных гнойно-воспалительных и септических осложнений с использованием антиоксидантных препаратов/ Рамн В.И., Чиссов О.А., Якубовская Р.И. Хирургия. – 2008. - №11. – С. 14 – 15.

2.Косинець В.А. Синдром энтеральной недостаточности: патогенез и современные принципы диагностики и лечения/ Косинец В.А. – Новости хирургии. – Витебск. – 2008. – Т.16. - №2. – С. 130 – 138.

3.Дзюбановський І.Я. Динаміка активності антиоксидантної системи у хворих на гострий поширений перитоніт/ Дзюбановський І.Я., Мігенько Б.О. – Клінічна та експериментальна патологія. – 2007. – Т. 6. - №3. – С. 38 – 40.

4.Савицкая К.И. Современные представления о роли и составе кишечной микрофлоры у здоровых и взрослых людей/ Савицкая К.И., Воробев А.А., Швецева Е.Ф. – Вестник РАМН. – 2002. - №2. – С. 50 – 52.

5.Криворучко И.А. Роль кишечника в патогенезе синдрома полиорганной дисфункции при распространенном перитоните/ Криворучко И.А., Бойко В.В., Иванова Ю.В. – Клінічна хірургія. – 2000. - №6. – С. 45 – 47.

6.Гусак И.В. Профилактика и лечение печеночной недостаточности у больных с абдоминальным сепсисом/ Гусак И.В., Иванова Ю.Р. – Труды крымского госуниверситета. – 2007. – Т.143. – Ч.5. – С. 89 – 92.

7.Клименко Ю. А. Патогенетична значення порушення функції метал-металобілкових систем в розвитку ендогенної інтоксикації в хворих при перитоніті / Ю. А. Клименко // Шпитальна хірургія. – 2007. – № 3. – С. 30–33.

Одержано 24.03.2014 року.