

ПРИМЕНЕНИЕ РЕАМБЕРИНА В КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭНТЕРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РАСПРОСТРАНЕННОМ ГНОЙНОМ ПЕРИТОНИТЕ

В. А. Косинец¹

Одной из причин возникновения пареза кишечника при распространенном гнойном перитоните является нарушение структурной целостности и функциональной активности митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки, вследствие чего наблюдается резкое уменьшение синтеза АТФ, которое имеет прямую корреляционную связь с низкими показателями электрической активности отделов тонкой кишки. Установлено, что препарат реамберин, содержащий янтарную кислоту, способствует ликвидации дисфункции митохондрий энтероцитов и восстановлению двигательной активности тонкой кишки при распространенном гнойном перитоните.

Ключевые слова: распространенный гнойный перитонит, энтеральная недостаточность, янтарная кислота, функциональная активность, митохондрии, реамберин

ВВЕДЕНИЕ

Ведущую роль в развитии осложнений и неблагоприятных исходов при распространенном гнойном перитоните играет синдром энтеральной недостаточности, ключевым патогенетическим звеном которого является нарушение двигательной функции кишечника [2, 4, 10]. В основе стойкого пареза кишечника лежит патологический сдвиг метаболических реакций в условиях бактериальной интоксикации и гипоксии [2]. Глубокое нарушение метаболизма в миоцитах тонкой кишки характеризуется утратой способности воспринимать нервные импульсы. По мере нарастания дегенеративных изменений в стенке тонкого кишечника резко снижается образование АТФ и возрастает количество промежуточных токсических продуктов обмена. Активация фосфолипилиза и перекисного окисления липидов на фоне энергодифицита вызывают каскад патологических реакций, нарушение мембранной структуры и функциональной активности митохондрий, что, в конечном счете, приводит к необратимому повреждению клеток и развитию синдрома энтеральной недостаточности [2, 3, 11].

Целью настоящего исследования явилось изучение в эксперименте возможности восстановления двигательной функции тонкой кишки путем воздействия на биоэнергетические процессы с помощью препарата реамберин, содержащего янтарную кислоту — ключевой участник цикла трикарбоновых кислот. В условиях интоксикации и гипоксии окисление янтарной кислоты становится основным источником для синтеза

АТФ, что определило успешное применение препарата в качестве локального и системного метаболического и энергетического корректора при различных патологических состояниях [1, 6, 7, 9].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 57 кроликах-самцах породы шиншилла, весом 2,6 – 3 кг. Животные (57 кроликов) были разделены на следующие группы: интактные ($n = 7$); с распространенным гнойным перитонитом без хирургического лечения ($n = 9$); контрольная группа — хирургическое лечение перитонита без применения в послеоперационном периоде реамберина ($n = 22$); основная группа — хирургическое лечение перитонита с внутривенными инфузиями реамберина ($n = 19$).

Перитонит моделировали путем интраабдоминального введения аэробно-анаэробной взвеси *E.coli* (штамм 0111 К58 НИ С 130 – 53) и *B.fragilis* (штамм 323) из расчета 6 млрд. микробных тел на 1 кг массы кролика. Через 6 ч после введения микроорганизмов у всех животных развивались симптомы перитонита: вялость, заторможенность, отказ от пищи, учащенное дыхание, вздутие живота. В основной и контрольной группах с целью лечения перитонита и устранения энтеральной недостаточности выполняли лапаротомию, санацию брюшной полости, декомпрессию тонкой кишки. Животным основной группы в послеоперационном периоде (в течение 5 суток) ежедневно внутривенно капельно вводили реамберин из расчета 85,7 мг янтарной кислоты на 1 кг веса животного (у человека препарат применяется в такой же дозе), животным контрольной группы — физиологический раствор [9]. Животных с распространенным гнойным перитони-

¹ Центральная научно-исследовательская лаборатория (зав. — С. С. Осочук) Витебского государственного медицинского университета, Республика Беларусь, Витебск, 210602, пр-т Фрунзе, 27.

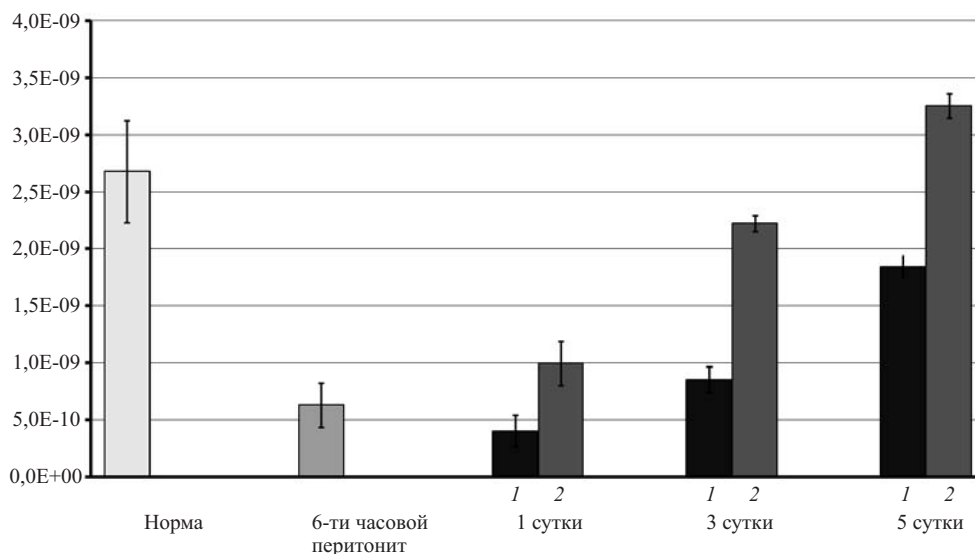


Рис. 1. Динамика концентрации АТФ в мышечной оболочке тонкой кишки при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

1 — контрольная группа, 2 — основная.

том выводили из эксперимента (летальная доза этиаминал-натрия) через 6 ч после заражения (9 животных), основной и контрольной групп — на 1-е, 3-и и 5-е сутки после операции (по 5 животных в исследуемые сроки).

Выделение митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки выполняли по разработанному нами методу, функциональную активность митохондрий измеряли полярографическим методом с помощью электрода Кларка [5]. Количество АТФ в мышечной оболочке тонкой кишки определяли способом биохимиллюминесценции. Динамику состояния двигательной функции тонкой кишки изучали с помощью периферической электроэнтерографии с последующим спектраль-

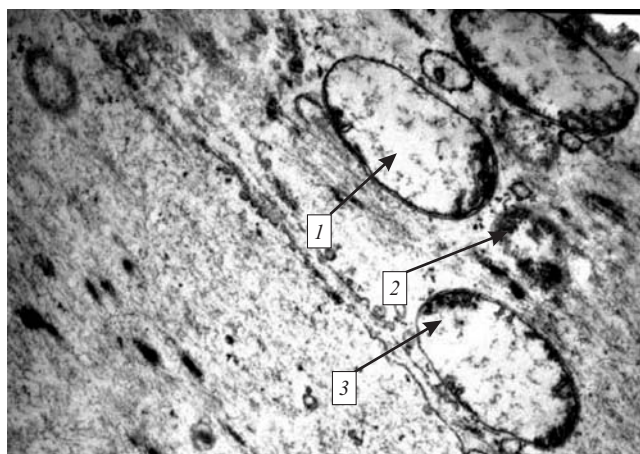


Рис. 2. Митохондрии миоцитов мышечной оболочки тонкой кишки, 1-е сутки послеоперационного периода, контрольная группа.

Контрастирование уранилацетатом и цитратом свинца; ув. $\times 19000$.
1 — гомогенизация матрикса; 2 — деструкция мембран; 3 — фрагментация крист.

ным анализом и компьютерной обработкой [8]. Структуру митохондрий исследовали путем электронной микроскопии.

Результаты статистически обрабатывали при помощи пакетов программ Statistica 6.0 и Excel с использованием t -критерия Стьюдента и корреляционного анализа (при $n = 5$, с надежностью 0,9 зависимость значима при $r > 0,687$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 6 ч после интраабдоминального введения животным полимикробной взвеси *E.coli* и *B.fragilis* возникали значительные нарушения процессов дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки. Статистически значимо ($p < 0,05$) были снижены все показатели функциональной активности митохондрий. Несмотря на санацию брюшной полости и декомпрессию тонкой кишки, через 24 ч после операции в контрольной группе животных, по сравнению с показателями при 6-часовом перитоните, снизились скорости окисления, коэффициенты дыхательного контроля и синтеза АТФ. На 3-и и 5-е сутки после операции в данной группе прослеживалась тенденция к восстановлению функциональной активности митохондрий. Однако и на 5-е сутки митохондрии мышечной оболочки тонкой кишки контрольной группы животных не достигли показателей дыхательной и фосфорилирующей способности митохондрий интактных животных.

В основной группе животных в послеоперационном периоде с первых суток отмечалась более интенсивная нормализация всех показателей функциональной активности митохондрий по сравнению с контрольной группой. На 5-е сутки значения функциональной ак-

тивности митохондрий основной группы животных превосходили аналогичные показатели здоровых животных.

Концентрация АТФ у животных с 6-часовым перитонитом была в 4,2 раза ниже показателя нормы и составила $6,37 \cdot 10^{-10} \pm 1,95 \cdot 10^{-10}$ моль/г ткани ($p < 0,0001$) (рис. 1).

На 1-е сутки после операции у животных контрольной группы отмечалось дальнейшее недостоверное ($p > 0,05$) снижение концентрации АТФ. Несмотря на последующую положительную динамику на 5-е сутки уровень АТФ у животных контрольной группы был на 35,68 % ($p = 0,018$) ниже показателя нормы. У животных основной группы на фоне применения реамберина во все сроки послеоперационного периода концентрация АТФ в мышечной оболочке тонкой кишки была достоверно выше, чем у животных контрольной группы, где препарат не применялся, составив на 5-е сутки после операции $3,25 \cdot 10^{-9} \pm 0,6 \cdot 10^{-10}$ моль/г ткани, что оказалось в 1,21 раза ($p = 0,022$) выше показателя нормы.

С помощью электронной микроскопии установлено, что через 6 ч после заражения митохондрии миоцитов мышечной оболочки тонкой кишки имели выраженные признаки набухания, просветленный гомогенный матрикс и фрагментацию крист по сравнению с нормой.

На 1-е сутки послеоперационного периода в контрольной группе отмечалось дальнейшее набухание органелл, которое сопровождалось деструкцией мембран, дезорганизацией крист (рис. 2).

В основной группе отмечалось лишь небольшое набухание и изменение формы митохондрий (рис. 3).

В основной группе на 3-и сутки структура митохондрий отличалась усилением рисунка крист внутренней мембраны и уплотнением матрикса, что свидетельствовало об увеличении их функциональной активности, в то время как значительная часть митохондрий контрольной группы оставалась с необратимыми структурными изменениями. На 5-е сутки структура митохондрий миоцитов мышечной оболочки тонкой кишки животных основной группы не отличалась от нормы, чего не наблюдалось у животных контрольной группы.

При 6-часовом перитоните были достоверно снижены показатели абсолютной электрической активности (Pi) и коэффициента ритмичности (Kritm) всех отделов тонкой кишки. Pi двенадцатиперстной, тощей и подвздошной кишок был ниже нормы в 1,9, 1,45 и 2,22 раза соответственно ($p < 0,0001$, $p = 0,022$, $p < 0,0001$). Kritm аналогичных отделов тонкой кишки уменьшился в 1,39, 1,24 и 1,43 раза соответственно ($p < 0,0001$, $p = 0,015$, $p < 0,0001$).

На 1-е сутки после операции у животных контрольной группы отмечалось дальнейшее достоверное снижение показателей электрической активности отделов тонкой кишки по сравнению с животными с 6-часо-

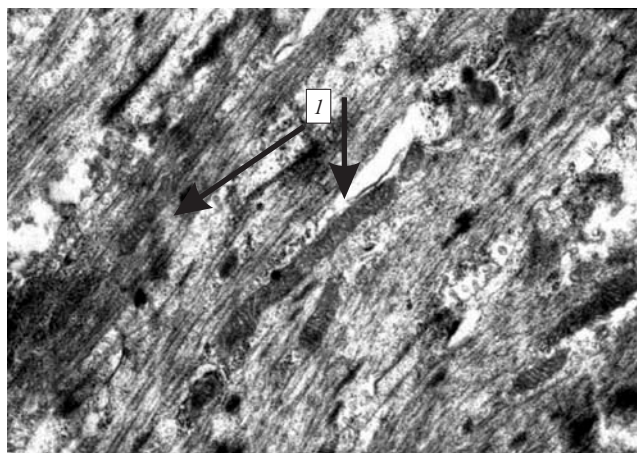


Рис. 3. Митохондрии миоцитов мышечной оболочки тонкой кишки, 1-е сутки послеоперационного периода, основная группа.

Контрастирование уранилацетатом и цитратом свинца; ув. $\times 14000$. 1 — деформация митохондрий.

вым перитонитом. На 3-и сутки послеоперационного периода в данной группе электрическая активность отделов тонкой кишки была значительно ниже показателей нормы. Pi двенадцатиперстной кишки был равен $0,31 \pm 0,09$ ($p = 0,0003$), тощей и подвздошной кишок — $0,91 \pm 0,37$ ($p = 0,012$) и $1,78 \pm 0,69$ ($p = 0,001$) соответственно. Kritm аналогичных отделов тонкой кишки составил $1,16 \pm 0,21$ ($p = 0,0006$), $2,31 \pm 0,51$ ($p = 0,029$) и $3,12 \pm 0,69$ ($p = 0,04$) соответственно.

На 5-е сутки послеоперационного периода в контрольной группе животных данные показатели не достигли нормы. Pi двенадцатиперстной кишки был равен $0,31 \pm 0,11$ ($p = 0,0006$), тощей и подвздошной кишок — $0,92 \pm 0,36$ ($p = 0,014$) и $1,77 \pm 0,32$ ($p = 0,0006$) соответственно. Kritm аналогичных отделов тонкой кишки составил $1,2 \pm 0,21$ ($p = 0,001$), $2,31 \pm 0,38$ ($p = 0,019$) и $3,09 \pm 0,28$ ($p = 0,0002$) соответственно.

В основной группе животных, получавших реамберин, в динамике послеоперационного периода с первых суток отмечалось достоверное интенсивное восстановление электрической активности всех отделов тонкой кишки, по сравнению с контрольной группой.

На 3-и сутки послеоперационного периода показатели электрической активности тонкой кишки основной группы животных не отличались от аналогичных показателей интактных животных. На 5-е сутки Pi двенадцатиперстной кишки был равен $0,8 \pm 0,2$, тощей и подвздошной кишок — $2 \pm 0,38$ и $5,39 \pm 1,28$ соответственно. Kritm аналогичных отделов тонкой кишки составил $1,89 \pm 0,18$; $3,37 \pm 0,43$ и $5,44 \pm 0,79$ соответственно. Данные электроэнтерографии коррелировали с количеством АТФ в мышечной оболочке тонкой кишки.

В контрольной группе на 1-е сутки погибло 4 животных, на 3-и сутки — 2, на 5-е сутки — 1, всего 7

животных. В основной группе на 1-е сутки погибло 3, на 3-и сутки 1 животное, всего 4 животных.

Одним из ключевых звеньев пареза кишечника и прогрессирования энтеральной недостаточности при распространенном гнойном перитоните является нарушение функциональной активности и снижение синтеза АТФ митохондриями мышечной оболочки тонкой кишки. Нарастание изменений через сутки после оперативного вмешательства указывает на то, что санации брюшной полости и декомпрессии тонкой кишки недостаточно для устранения энтеральной несостоятельности.

Проведенные исследования показали, что реамберин, содержащий янтарную кислоту, в эксперименте является эффективным средством устранения нарушения функциональной активности митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки при распространенном гнойном перитоните. Механизм действия препарата связан с поддержанием работы второго комплекса дыхательной цепи митохондрий. Применение реамберина оказывает положительное влияние на динамику восстановления функциональной активности и структуры митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки, способствует нормализации ее двигательной активности на 3-и сутки послеоперационного периода.

ВЫВОДЫ

1. Одним из ключевых звеньев пареза кишечника при распространенном гнойном перитоните является нарушение функциональной активности и снижение синтеза АТФ митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки.

2. Санация брюшной полости и декомпрессия тонкой кишки недостаточны для устранения развившейся энтеральной несостоятельности.

3. В условиях эксперимента реамберин положительно влияет на динамику восстановления функциональной активности и структуры митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки, способствуя нормализации ее двигательной активности.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Афанасьев, *Клиническая фармакология реамберина*, СПб (2005).
2. Ю. М. Гаин, С. И. Леонович, С. А. Алексеев, *Синдром энтеральной недостаточности при перитоните: теоретические и практические аспекты, диагностика и лечение*, Молодечно (2001).
3. Г. В. Илюкевич, И. И. Канус, Г. Я. Хулуп, *Вестн. интенсивной терапии*, № 3, 83 – 87 (2002).
4. А. Н. Косинец, Ю. В. Стручков, *Инфекция в хирургии: руководство*, Витебск (2004).
5. В. А. Косинец, *Вестн. Витебского государственного медицинского университета*, № 4, 31 – 38 (2007).
6. Е. И. Маевский, А. С. Розенфельд, М. Н. Кондрашова, *Коррекция метаболического ацидоза путем поддержания функций митохондрий*, Пуцшино (2001).
7. С. В. Оболенский, *Реамберин — новое средство для инфузионной терапии в практике медицины критических состояний: метод. реком.*, СПб., (2002).
8. В. А. Ступин, Г. О. Смирнова, М. В. Баглаенко и др., *Лечащий врач*, № 2, 60 – 62 (2005).
9. М. Г. Романцов, Т. В. Сологуб, А. Л. Коваленко, *Реамберин 1,5 % для инфузий — применение в клинической практике: руководство для врачей*, Минимакс, СПб. (2000).
10. В. В. Теплый, *Український медичний журнал*, № 5, 84 – 92 (2004).
11. D. Brealey, M. Brand, I. Hargreaves, et al., *Lancet*, **360**(9328), 219 – 223 (2002).
12. A. Boveris, S. Alvarez, and A. Navarro, *Free Radic. Biol. Med.*, **33**(9), 1186 – 1193 (2002).

Поступила 16.10.09

USING REAMBERIN FOR CORRECTING THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF ENTEROCYTES UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL WIDESPREAD PURULENT PERITONITIS

V. A. Kosinets

Central Research Laboratory, Vitebsk State Medical University, prosp. Frunze 27, Vitebsk, 210602, Belarus Republic

Violation of the structural integrity and functional activity of mitochondria in the muscular coat of small intestine is among the main factors responsible for enteroparesis under conditions of widespread purulent peritonitis. This morphofunctional disorder leads to a sharp decrease in ATP synthesis, which is directly related to a low electric activity of parts of the small intestine. The drug reamberin that contains succinic acid favors elimination of the dysfunction of enterocyte mitochondria and restoration of the intestinal motility under conditions of widespread purulent peritonitis.

Key words: Widespread purulent peritonitis, enteral insufficiency, functional activity, mitochondria, succinic acid, reamberin