© Сидорчук Р.І.

УДК 617.55:616.94:616.34-008.64:577

ЗМІНИ КИШКОВОЇ СТІНКИ ЗА УМОВ АБДОМІНАЛЬНОГО СЕПСИСУ: ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ОКРЕМИХ МЕТОДІВ ЛІКУВАННЯ

Р.І.Сидорчук

Кафедра загальної хірургії (зав. – проф. Ф.Г.Кулачек) Буковинської державної медичної академії

Абдомінальний сепсис (АС) є одним з важливих різновидів хірургічного сепсису. Медіатори запалення, гіперкатаболізм, порушення системного та вісцерального кровообігу сприяють порушенню практично всіх функцій органів травлення – бар'єрної, метаболічної, імунореактивної, ендокринної [1]. За таких умов кишкова недостатність виступає ключовим фактором у розвитку АС, оскільки наростаюча транслокація мікроорганізмів та їх токсинів підтримує загальну запальну реакцію, обтяжуючи порушення обміну речовин [2]. Важливі питання етіології, патогенезу та лікувальної тактики при цій патології вивчені недостатньо [3]. Перебіг запальних, дегенеративних процесів черевної порожнини характеризуються обов'язковою участю в зазначених процесах протеолітичних систем. Надмірна активація протеаз сприяє посиленню запалення і потребує застосування інгібіторів протеолітичних ферментів, особливо в першій фазі ранового процесу, коли значна запальна реакція зумовлена високою активністю протеїназ, що може мати додаткову пошкоджувальну дію на тканини і сприяти прогресуванню інфекційного процесу з розвитком хибного кола [4]. З цих позицій доцільно визначати вплив різних лікарських засобів на стан системи необмеженого протеолізу при АС. Це, зокрема, стосується й дослідження впливу сучасних методів лікування на порушення фібринолітичної та протеолітичної активності стінки товстої і тонкої кишки при АС, що, безумовно, є суттєвим у виборі методик оперативного втручання. Більшість з препаратів, що використовують при лікуванні АС, ще не мають відповідної оцінки фармакологічної активності.

Мета дослідження. Визначити ефективність окремих сучасних методів лікування АС за впливом на зміни системи протеолізу-фібринолізу стінки товстої і тонкої кишки.

Матеріал і методи. *Об'єктом дослідження були 65 дорослих щурів лінії Wistar, середньою масою 257,32±14,85 г (5 – контрольна група, по 20 – дослідні групи: А, В, С). АС моделювали за власною методикою [5]. У групі А проводили лікування надропарином (Фраксипарин-форте®, Sanofi-Synthelabo (0,001 мл) та контрикалом (500 МО). Тварини груп В та С отримували антибактеріальну терапію імепенем-циластатином (Тієнам®, MSD) по 0,01 г та ампіциліном (0,01 г) у комбінації з гентаміцином (по 0,05 мл) відповідно. Вибір препаратів для дослідження та їх дозування зумовлені поширеністю та ефективністю їх застосування при лікуванні АС [6-10]. Через 6, 24, 48 та 72 год експерименту проводили евтаназію з дотриманням вимог Ванкуверської конвенції та інструктивних положень, що діють в Україні, й забирали матеріал для дослідження.*

Стан фібринолітичної активності (ФА) визначали на основі реакції з азофібрином (БіоМарк, Львів). При цьому визначали сумарну (СФА), ферментативну (ФФА) та неферментативну фібринолітичну активність (НФА). Стан протеолітичної активності (ПА) щодо різних білкових фракцій [11] оцінювали за реакцією з азоальбуміном, азоказеїном та азоколом (БіоМарк, Україна). Фотографування проводили за допомогою цифрового мікроскопа Intel® Digitalux™ та програми Corel® Graphic Suite™ 11.0 при збільшенні х100. Отримані бази даних обробляли методом варіа-

ційної статистики за критерієм W.Gusset (Student) з використанням програмних пакетів Origin® 7.0 (Microcal Soft-ware™/Origin Labs®) та Excel® 2002 build 10.2701.2625 (Microsoft®).

Результати дослідження та їх обговорення. Одним з факторів патогенезу АС є зміни стінки кишечника [3]. Саме тому першим етапом дослідження стало вивчення патогістологічних змін у стінці кишки при АС. При гістологічному дослідженні тонкої кишки виявлено набряк слизової оболонки і підслизової основи завдяки вираженому повнокров'ю судин. В епітелії ворсинок щіточкова облямівка контурується нечітко. Трапляється велика кількість ворсинок зі зруйнованою верхівкою. Бокалоподібні клітини розширені, заповнені секретом. У просвіті кишки багато слизу і злущеного епітелію (рис. 1). У підслизовій основі спостерігається набряк, повнокров'я судин, тромбоз окремих вен і капілярів (рис. 2). Слизова оболонка тонкої кишки більшою мірою збережена, по всій товщі стінки кишки виявлено виражений набряк, лейкоцитарну інфільтрацію. М'язовий шар набряклий, його судини повнокровні. Сполучнотканинні волокна всіх шарів кишкової стінки набряклі. На серозній оболонці – нашарування фібрину, злущення мезотеліоцитів у вигляді вогнищевого ураження та масивна лейкоцитарна інфільтрація. Судини серозної оболонки повнокровні, венули розширені, капіляри й артеріоли звужені. В окремих судинах, переважно у венулах, визначаються явища стазу з утворенням агрегатів еритроцитів. Подібні зміни виявлені й у стінці товстої кишки (рис. 3) – реактивне запалення, лімфоїдно-гістіоцитарна інфільтрація, зерниста дистрофія, набряк слизового та підслизового шару, нечіткість їх контурів, повнокровні розширені судини, мікрофокальна деструкція, набряк усіх шарів стінки, порушення мікроциркуляції з розвитком стазу та тромбозу окремих судин. У просвіті кишки – ознаки порушення цілісності епітеліального покриву слизової оболонки.

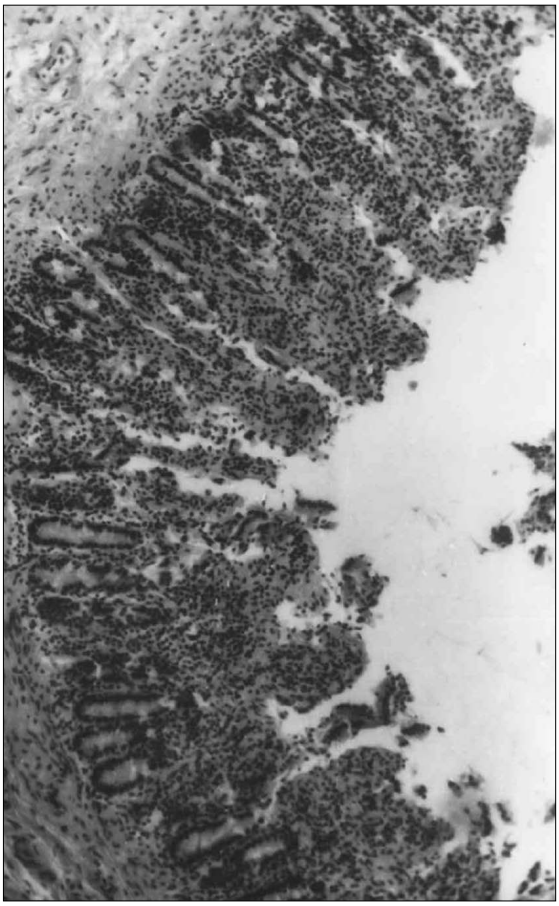

Рис. 1. Зруйнування верхівок, злущування епітелію ворсинок тонкої кишки. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х100.

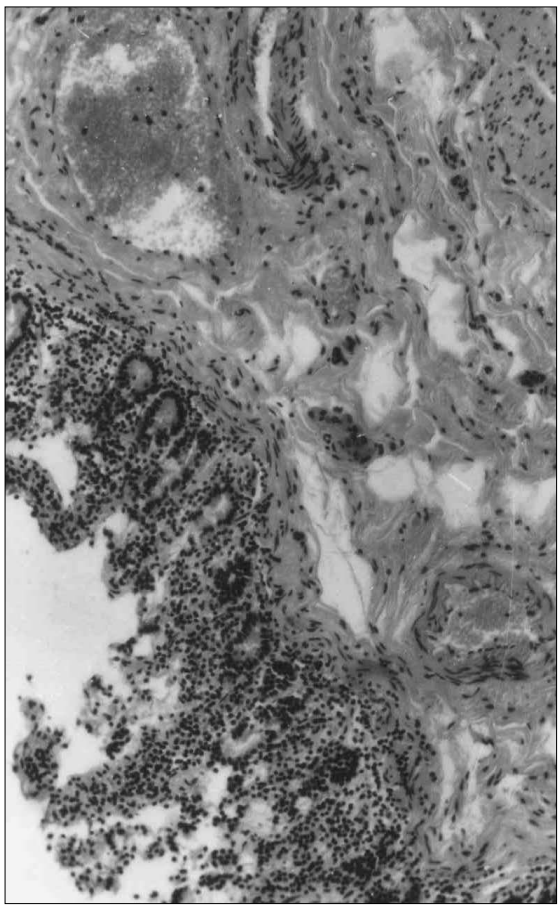

Рис. 2. Тромбоз судин у підслизовій основі тонкої кишки. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х100.

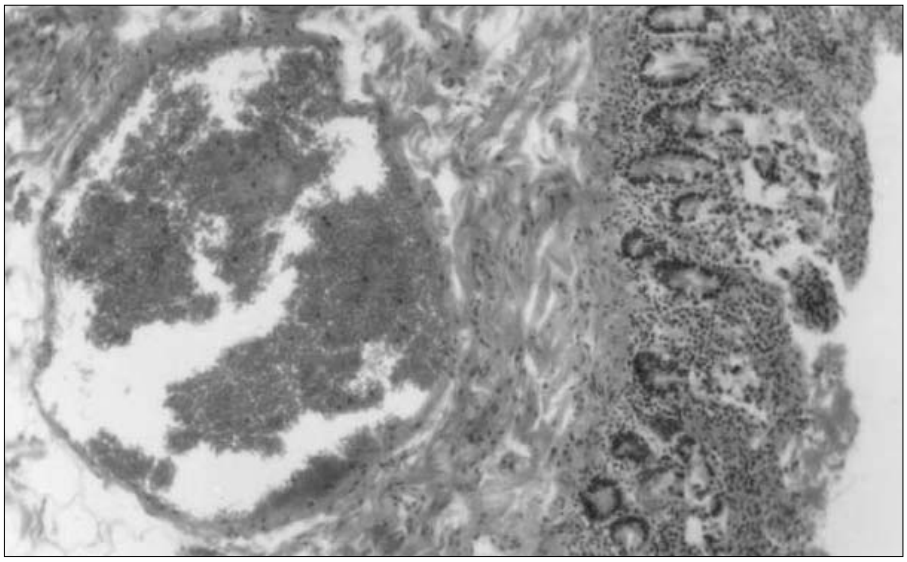

Рис. 3. Порушення цілісності епітелію слизової оболонки та тромбоз венул у підслизовій основі товстої кишки. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х100.

Таблиця 1

Показники протеолітичної активності стінки тонкої кишки щурів Wistar при абдомінальному сепсисі (n=47, M±m)

Параметр (E_{440}/мл/год)	Тривалість захворювання				
	Контроль	6 год	24 год	48 год	72 год
Протеоліз альбуміну (контроль)	28,87±1,53	49,63±2,52	44,16±0,89	70,14±2,45*	93,42±1,36*
Протеоліз колагену (контроль)	9,48±0,74	10,92±0,80	17,01±1,59*	30,18±1,68*	42,22±2,77*
Протеоліз казеїну (контроль)	38,02±1,32	47,09±0,73	76,23±3,72*	86,07±2,33*	68,83±2,61*
Протеоліз альбуміну (група А)	–	39,16±0,68	31,90±1,44	35,64±1,14	33,26±2,57
Протеоліз колагену (група А)	–	23,17±0,85	17,22±0,60	7,13±0,40	11,20±0,91
Протеоліз казеїну (група А)	–	41,50±1,20	38,23±1,17	33,81±2,47	45,85±1,81
Протеоліз альбуміну (група В)	–	47,75±0,85	31,08±2,60	29,76±1,40	27,92±1,30
Протеоліз колагену (група В)	–	10,97±0,50	10,16±0,26	8,39±0,30	9,06±0,65
Протеоліз казеїну (група В)	–	48,29±1,17	46,95±2,98	43,50±0,67	39,22±1,15
Протеоліз альбуміну (група С)	–	25,8±0,49	23,10±0,52	22,70±0,54	28,64±1,49
Протеоліз колагену (група С)	–	6,04±0,35	5,19±0,31	4,62±0,95	4,22±0,19
Протеоліз казеїну (група С)	–	27,76±0,67	27,38±0,69	25,68±1,44	36,78±1,38

Примітка: * – $p<0,05$ (до контролю).

Упродовж експерименту спостерігали суттєві відмінності рівнів протеолітичної деградації низькомолекулярних білків стінки тонкої кишки в усіх дослідних групах стосовно контролю (табл. 1). Найнижчі показники виявлені у групі С, що є дещо несподіваним, особливо з врахуванням результатів групи А, де лікування проводили специфічним блокатором протеаз. Протеолітична активність щодо колагену за реакцією з азоколом знижувалась вдвічі у групі С, де вона знову була найнижчою стосовно контролю. Лізис високомолекулярних білків був найбільш вираженим у контролі, а найнижчим у групі С. При дослідженні інтенсивності ензиматичного лізису білків у стінці товстої кишки спостерігали іншу динаміку змін (табл. 2). Протеоліз альбуміну був найвищим у контрольній групі та групі В, найнижчим – у групі С. Активність ензиматичного лізису колагену – основного структурного білка сполучної тканини – була найвищою у конт-

Таблиця 2

Динаміка протеолітичної активності стінки товстої кишки щурів Wistar при абдомінальному сепсисі (n=47, M±m)

Параметр (E_{440}/мл/год)	Тривалість захворювання				
	Контроль	6 год	24 год	48 год	72 год
Протеоліз альбуміну (контроль)	35,30±2,49	42,07±0,64	50,94±2,82*	71,74±2,06*	77,88±1,88*
Протеоліз колагену (контроль)	13,09±0,37	31,31±1,62	24,15±2,42*	32,63±2,57*	23,0±1,33*
Протеоліз казеїну (контроль)	37,33±1,02	63,75±1,42	74,61±2,78*	80,14±2,09*	81,61±2,66
Протеоліз альбуміну (група А)	–	34,90±1,60	35,41±0,91	35,64±1,14	40,02±1,12
Протеоліз колагену (група А)	–	5,76±0,58	16,84±0,66	7,13±0,40	14,80±0,43
Протеоліз казеїну (група А)	–	37,86±3,17	38,72±2,03	33,81±2,47	46,31±2,20
Протеоліз альбуміну (група В)	–	47,75±0,85	45,38±0,93	34,61±2,54	33,73±1,89
Протеоліз колагену (група В)	–	10,97±0,50	10,03±0,28	11,96±0,32	12,62±0,59
Протеоліз казеїну (група В)	–	48,29±1,17	43,07±1,79	35,93±1,32	35,96±2,11
Протеоліз альбуміну (група С)	–	25,40±0,88	23,44±0,99	24,39±1,15	35,33±1,76
Протеоліз колагену (група С)	–	11,04±0,83	8,16±0,69	5,22±0,18	4,25±0,21
Протеоліз казеїну (група С)	–	29,24±1,66	27,19±1,26	26,78±1,42	38,13±0,73

Примітка: * – $p<0,05$ (до контролю).

рольній групі, а найнижчою – у групах А і С. Інтенсивність ферментації казеїну була найвищою у контролі та групі В.

Відомо, що на всіх стадіях запалення в його патогенезі беруть участь лізосомальні, тканинні і бактеріальні ензими. Важлива роль у запальній реакції належить протеолітичній системі лейкоцитів. Накопичуючись у запальних ексудатах, поліморфноядерні лейкоцити відіграють першорядну роль у процесах фагоцитозу та в імунних реакціях. Разом з тим, вони можуть пошкоджувати тканини внаслідок надлишкового звільнення високоактивних протеїназ. Нейтрофільні гранулоцити містять дві групи протеїназ, високоактивних у кислому (катепсини) і нейтральному середовищах. Катепсини вивільняються з лізосом і діють на базальні мембрани судин. До нейтральних протеїназ відносять колагеназу, еластазу, плазмін та інші недостатньо вивчені протеїнази [4]. Особлива роль у судинних змінах при запаленні належить колагеназі, що розщеплює волокна колагену на окремі фрагменти. Встановлено, що колагенові фібрили резистентні до дії більшості протеїназ і чутливі до специфічного ферменту колагенази, який бере участь у деградації колагену при гострих і хронічних запаленнях, деяких дегенеративних процесах. Поряд із специфічною колагеназою гранулоцити містять неспецифічну протеїназну систему, що сприяє максимальному розщепленню фібрилів колагену. Порушення протеолізу та фібринолізу сприяє загоєнню з наступним перетворенням на рубцеву тканину, що призводить до утворення шварт та розвитку спайкового процесу [8].

Дослідженням динаміки фібринолітичної активності стінки тонкої кишки експериментальних щурів Wistar (табл. 3) встановлено, що СФА послідовно підвищується протягом усього періоду розвитку АС. Зміни ФФА та НФА плазми в цілому були адекватними відповідним змінам СФА. Найнижчі показники фібринолітичної активності спостерігали у групі А, а найвищі – у групі В.

У стінці товстої кишки спостерігали стабільну тенденцію до наростання фібринолітичної активності впродовж експерименту за всіма (СФА, НФА, ФФА) параметрами (табл. 4), причому зростання було менш вираженим, ніж у стінці тонкої кишки. Проте вірогідних змін між окремо взятими часовими проміжками у контрольній групі не встановлено. Найвищі показники фібринолітичної активності спостерігали у групі В, де, тим не менш, абсолютні цифрові значення були близькими до вихідних параметрів. Найнижчі значення фібринолітичної активності встановлені у групі А.

Таблиця 3

Показники фібринолітичної активності стінки тонкої кишки щурів Wistar при абдомінальному сепсисі (n=47, M±m)

Параметр (E_{440}/мл/год)	Тривалість захворювання				
	Контроль	6 год	24 год	48 год	72 год
Сумарна ФА (контроль)	31,28±0,78	46,62±2,32	61,86±2,55*	66,07±2,23*	73,69±1,84*
Неферментна ФА (контроль)	16,21±0,39	23,87±1,16	31,28±1,32*	33,51±1,08*	37,84±0,95*
Ферментна ФА (контроль)	15,07±0,39	22,75±1,17	30,58±1,24*	32,56±1,19*	35,85±0,90*
Сумарна ФА (група А)	–	24,48±2,19	24,83±1,98	12,02±0,77	38,79±0,73
Неферментна ФА (група А)	–	12,68±1,15	13,71±0,42	6,51±0,38	19,92±0,39
Ферментна ФА (група А)	–	11,80±1,06	11,12±1,71	5,51±0,39	18,87±0,34
Сумарна ФА (група В)	–	50,43±2,59	42,16±1,10	38,70±1,15	33,38±1,15
Неферментна ФА (група В)	–	25,90±1,33	21,65±0,53	20,12±0,60	17,25±0,57
Ферментна ФА (група В)	–	24,53±1,26	20,51±0,58	18,58±0,56	16,13±0,59
Сумарна ФА (група С)	–	27,21±0,59	23,81±0,58	23,60±0,29	24,38±0,36
Неферментна ФА (група С)	–	14,19±0,30	12,54±0,28	12,49±0,13	12,36±0,18
Ферментна ФА (група С)	–	13,02±0,30	11,28±0,31	11,12±0,23	12,02±0,29

Примітка: * – $p<0,05$ (до контролю).

Таблиця 4

Показники фібринолітичної активності стінки товстої кишки щурів Wistar при абдомінальному сепсисі (n=47, M±m)

Параметр (E_{440}/мл/год)	Тривалість захворювання				
	Контроль	6 год	24 год	48 год	72 год
Сумарна ФА (контроль)	38,16±0,41	52,80±0,71	53,91±3,69	57,03±1,48*	59,26±2,41
Неферментна ФА (контроль)	19,53±0,22	26,82±0,36	27,46±1,83	29,20±0,74	30,64±1,21
Ферментна ФА (контроль)	18,63±0,20	25,98±0,36	26,45±1,86	27,83±0,74	28,61±1,21
Сумарна ФА (група А)	–	33,98±2,65	20,01±0,4	12,02±0,77	41,89±0,81
Неферментна ФА (група А)	–	17,65±1,32	10,46±0,20	6,51±0,38	21,42±0,43
Ферментна ФА (група А)	–	16,33±1,33	9,56±0,21	5,51±0,39	20,47±0,39
Сумарна ФА (група В)	–	50,43±2,59	44,87±0,83	36,63±2,13	38,53±0,81
Неферментна ФА (група В)	–	25,90±1,33	23,06±0,40	18,90±1,06	19,80±0,42
Ферментна ФА (група В)	–	24,53±1,26	21,81±0,44	17,73±1,07	18,73±0,42
Сумарна ФА (група С)	–	31,38±1,60	27,16±1,0	22,85±0,80	23,75±0,75
Неферментна ФА (група С)	–	16,21±0,79	14,15±0,51	12,01±0,35	12,21±0,39
Ферментна ФА (група С)	–	15,17±0,81	13,01±0,49	10,83±0,46	11,54±0,39

Примітка: * – $p<0,05$ (до контролю).

Висновки. 1. Абдомінальний сепсис супроводжується суттєвими змінами протеолітичної та фібринолітичної активності стінки кишечнику, а також його гістологічної структури, що засвідчує роль вказаних порушень у формуванні кишкової недостатності та прогресуванні абдомінального сепсису. 2. Застосовані препарати володіють вірогідним корегувальним впливом на зміни протеолітичної та фібринолітичної активності кишкової стінки при абдомінальному сепсисі, однак найбільш виражений лікувальний ефект за впливом на протеолітичну та фібринолітичну активність притаманний комбінаціям – бета-лактамний антибіотик + аміноглікозид та фракціонований гепарин + блокатор протеаз.

Перспективи наукового пошуку. У подальшому програму дослідження доцільно доповнити вивченням впливу наведених лікувальних методик на зміни показників протеолізу та фібринолізу, а також патоморфології інших органів.

Література

1. Коровина Н.А., Чебуркин А.В., Заплатников А.Л. Современные дискуссионные вопросы сепсиса // Педиатрия. – 2003. – № 3. – С. 54-56. 2. Сидорчук Р.І. Абдомінальний сепсис: сучасний стан проблеми // Бук. мед. вісник. – 2002. – Т. 6, № 3. – С. 234-237. 3. Balk R.A. Severe sepsis and septic shock: definition, epidemiology and clinical manifestation // Crit. Care Clin. – 2000. – V. 2, № 2. – P. 1-8. 4. Веремеенко К.Н. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1993. – 277 с. 5. Дек. пат. № 39686 А Україна, МПК 7 А61В17/00. Спосіб моделювання перитоніту / Р.І.Сидорчук (Україна). – № 2000127365. Заявл. 21.12.2000. Опубл. 15.06.2001. – Бюл. № 5. 6. Гарау Х. Основы рационального выбора антимикробных препаратов при интраабдоминальных инфекциях // Клин. микробиол. и антимикроб. терапия. – 2003. – Т. 3, № 3. – С. 278-286. 7. Игонин А.А., Кукес В.Г. Принципы антибактериальной терапии сепсиса // Клин. медицина. – 2003. – № 6. – С. 61-65. 8. Хижняк А.А. Профилактика и лечение тромбоэмболических осложнений в хирургической практике // Клин. хирургия. – 2002. – № 7. – С. 43-46. 9. Fridkin S. Comparing antibiotic use and resistance data across hospitals // APUA Newsletter. – 2001. – V.19, № 4. – P. 1-3. 10. Maszuski J.E., Sawyer R.G., Nathens A.B. et al. The Surgical Infection Society guidelines on antimicrobial therapy for intraabdominal infections: evidence for the recommendations // Surg. infect. – 2002. – V. 3. – P. 175-233. 11. Магаляс В.М., Міхеєв А.О., Роговий Ю.Є. та ін. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень Центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії: Методичний посібник. – Чернівці: БДМА, 2001. – 42 с.

ЗМІНИ КИШКОВОЇ СТІНКИ ЗА УМОВ АБДОМІНАЛЬНОГО СЕПСИСУ: ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ОКРЕМИХ МЕТОДІВ ЛІКУВАННЯ

Р.І.Сидорчук

Резюме. Проведене комплексне дослідження змін гістологічної будови, динаміки показників протеолітичної та фібринолітичної активності стінки тонкої і товстої кишок в умовах застосування окремих методів медикаментозної терапії експериментального абдомінального сепсису. Застосовані препарати володіють вірогідним корегувальним впливом на зміни протеолітичної та фібринолітичної активності стінки кишечнику при абдомінальному сепсисі, однак найбільш виражений лікувальний ефект виявився у комбінаціях – бета-лактамний антибіотик + аміноглікозид та фракціонований гепарин + блокатор протеаз.

Ключові слова: абдомінальний сепсис, лікування, кишечник, фібриноліз, протеолітична активність.

CHANGES OF THE INTESTINAL WALL UNDER CONDITIONS OF ABDOMINAL SEPSIS: EVALUATION OF THE EFFICACY OF SEPARATE TREATMENT METHODS

R.I.Sydorchuk

Abstract. A complex dynamic investigation of changes of the histologic structure, the dynamics of the parameters of the proteolytic and fibrinolytic activity in the wall of the small and large intestine has been carried out under conditions of using individual methods of medicamental therapy of experimental abdominal sepsis. All the used remedies possess a considerable correcting effect on changes of the proteolytic and fibrinolytic activity of the intestinal wall in abdominal sepsis, however, the most marked therapeutic effect was found in combinations of beta-lactam antibiotic + aminoglycoside and fractional heparin + protease blocker.

Key words: abdominal sepsis, treatment, intestine, fibrinolysis, proteolytic activity.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла в редакцію 16.12.2003 р.