
КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

СОСТОЯНИЕ ПРИСТЕНОЧНОГО СЛИЗИСТОГО СЛОЯ ОСТАВШЕЙСЯ ЧАСТИ ЖЕЛУДКА И КОРРЕКЦИЯ ЕГО ИЗМЕНЕНИЙ ПОСЛЕ РАДИКАЛЬНЫХ ОПЕРАЦИЙ ПО ПОВОДУ РАКА

М.В. Вусик¹, Н.А. Кривова², В.А. Евтушенко¹, О.Б. Заева², А.Ю. Громова³

*НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН¹
НИИ биологии и биофизики Томского государственного университета²
Сибирский государственный медицинский университет³*

Целью исследования явилось изучение структурно-функционального состояния пристеночного слизистого слоя и полости секрета оставшейся части желудка у 64 больных после субтотальной дистальной резекции по поводу рака в раннем послеоперационном периоде и влияния эндоскопической лазеротерапии (44 пациента) и медикаментозного лечения (20 человек) на коррекцию выявленных нарушений.

Выявлено, что в ранние сроки после проведенного лечения произошло достоверное изменение состава как структурных, так и внеструктурных гликопротеинов, парциального состава отдельных моносахаров в обеих группах. Был сделан вывод о том, что лазерное лечение по сравнению с медикаментозной терапией оказывает более серьезное влияние на биосинтез полимеризованных гликопротеинов и приближает их состав к нормальным показателям.

THE STATE OF PARIETAL MUCOUS LAYER OF THE REMAINING PART OF THE STOMACH AND CORRECTION OF ITS CHANGES AFTER RADICAL OPERATIONS FOR GASTRIC CANCER

M.V. Vusik¹, N.A. Krivova², V.A. Evtushenko¹, O.B. Zayeva², A.Yu. Gromova³

*Cancer Research Institute, Tomsk Scientific Center of SB RAMS¹
Biology and Biophysic Research Institute, Tomsk State University²
Siberian State Medical University, Tomsk³*

The aim of investigation was to study structural functional state of parietal mucous layer and cavity secretion of the remaining part of the stomach in 64 patients after subtotal distal resection for cancer in early postoperative period and the effect of endoscopic laser therapy (44 patients) and local anti-inflammatory therapy (20 patients) on the correction of damages.

A significant change in composition of both structural and extra-structural glycoproteins and partial composition of separate monosacchares was found in both groups. It was concluded that laser therapy had greater effect on biosynthesis of polymerized glycoproteins as compared with drug therapy.

Рак желудка относится к числу наиболее распространенных онкологических заболеваний. При I–III стадии процесса радикальная операция является обязательным компонентом комбинированного лечения. В последние годы при хирургическом лечении рака желудка наряду с вопросами повышения радикальности оперативных вмешательств, снижения частоты летальности и послеоперационных осложнений все больше внимания

уделяется функциональным результатам операции [7, 8]. Поэтому разработка методов восстановительного лечения до настоящего времени остается актуальной [5, 7, 8].

Одной из причин возникновения функциональных нарушений у больных после радикальных резекций желудка является повреждающее действие рефлюкса желчи и содержимого верхних отделов тонкой кишки на слизистую обо-

лочку культи желудка вследствие устранения замыкательного механизма привратника [1, 2, 10, 15]. Воздействие указанных повреждающих факторов вызывает нарушение проницаемости слизистого защитного барьера слизистой оболочки желудка, что приводит к разрушению липидов клеточных мембран, усилению обратного тока водородных ионов в стенку желудка, в результате чего возрастает выработка и выделение гистамина. Как следствие возникает воспалительный процесс с явлениями отека, гиперемии, вплоть до развития эрозий слизистой оболочки культи желудка [3, 12].

Большинство исследователей уделяют внимание функционально-морфологическим изменениям в слизистой оболочке оставшейся части желудка, в то время как изменения структурно-функционального состояния надэпителиального слоя (НэСС) ими не оцениваются. Между тем нарушение функции защитного слизевого слоя имеет большое значение в патогенезе пострезекционных расстройств и адаптации организма к новым условиям функционирования в послеоперационном периоде [6, 11].

Целью нашего исследования явилось изучение структурно-функционального состояния пристеночного слизистого слоя и полостного секрета оставшейся части желудка у больных после радикальных операций по поводу рака в ранние послеоперационные сроки, а также разработка методов коррекции и оценка их эффективности.

Материалы и методы

Объектом исследования явились образцы пристеночной слизи из оставшейся части желудка у больных после субтотальной дистальной резекции по поводу рака. Данные образцы были получены методом аспирации при проведении гастроскопии в сроки от 2 до 3 нед после операции и через месяц после окончания восстановительного лечения. Гастроскопия проводилась по общепринятой методике аппаратами фирмы «Olympus».

В исследование были включены 64 пациента обоего пола, в возрасте от 45 до 65 лет. В первую группу больных были включены 44 пациента, которым в сроки от 2 до 3 нед после операции проводилась эндоскопическая лазеротерапия. Лазер-

ная терапия пострезекционных функциональных осложнений осуществлялась с помощью низкоинтенсивного излучения лазера на парах меди с длиной волны 510,6 и 578,2 нм через моноволоконный световод, проведенный в биопсийный канал гастроскопа. Вторую группу составили 20 пациентов, которым в те же сроки проводился курс традиционного медикаментозного лечения спазмолитиками, обволакивающими и анальгезирующими препаратами. Контрольную группу составили 15 относительно здоровых лиц обоего пола без клинических проявлений гастродуоденальной патологии.

В работе исследовались структурные гликопротеины (ГП), состоящие из белковой и углеводной части, в том числе концентрация каждого из моносахаров, составляющих олигосахаридные компоненты (N-ацетилнейраминовой (сиаловой) кислоты, галактозы, фукозы, гексозаминов), сумма всех моносахаров. Деградированные гликопротеины слизи, потерявшие свои гелеобразные свойства, определялись в желудочном соке и супернатанте по концентрации моносахаров, присутствующих в виде ди-, три- и тетрамеров. После этого рассчитывалась сумма всех полимеризованных, деградированных моносахаров и определялась та доля, которая относится к полимеризованным гликопротеинам, для оценки процентного содержания полимеризованных гликопротеинов в общем пуле гликопротеинов слизистого слоя.

Проба нативного пристеночного слизистого слоя (ПСС) подвергалась очистке и выделению структурных ГП, при этом внеструктурные компоненты переходили в раствор в нативном виде. Выделение структурных ГП проводилось по методу, предложенному Б.В. Питраном [9], основанному на том, что при кратковременной гомогенизации в избытке физиологического раствора или дистиллированной воды нековалентно связанные компоненты нативной слизи переходят в раствор, а структурные ГП, благодаря их полимерной природе, остаются в осадке.

Образцы нативной слизи подвергали гомогенизации в 5-кратном избытке физиологического раствора, затем центрифугированием отделяли от супернатанта, повторяя процедуру 5 раз. Супернатант после каждой гомогенизации собирали и хранили при $t 4^{\circ}\text{C}$. Затем проводили гомогенизацию образцов слизи в воде, при этом ГП слизи

увеличивались в объеме, и после центрифугирования выделялись 3 фазы: верхняя – водная, средняя – набухшие ГП слизи и нижняя – более плотные компоненты эпителиоцитов и химуса. Водное промывание повторяли 4 раза. В результате получали фракцию очищенных гликопротеинов слизи, сохранивших свои полимерные и гелеобразующие свойства.

Для определения концентрации моносахаров перед химическим анализом проводили ступенчатый кислотный гидролиз. Это давало возможность выделить моносахара из состава олигосахаридных цепочек. Основным критерием эффективности гидролиза был наибольший выход изучаемых моносахаров. Учитывая возможность расщепления освобожденных моносахаров кислотами, А. Нойбергер и Р.Д. Маршалл (1969) рекомендуют для каждого вида ГП подбирать свои оптимальные условия гидролиза [7].

Для определения N-ацетилнейраминовой кислоты проводили мягкий кислотный гидролиз в серной кислоте в течение 1 ч при 80 °С [3]. Для определения галактозы и фукозы гидролиз осуществляли в соляной кислоте в течение часа при 100 °С, концентрацию галактозы определяли по методу Д. Хендела и У. Киттлака [14], концентрацию фукозы – по методу Диппе-Шетла [13]. Концентрацию гексозаминов определяли колориметрическим методом Эльсона и Моргана.

Результаты и обсуждение

После курса реабилитационной терапии по разработанной нами методике с применением лазерного излучения было выявлено достоверное снижение содержания гексозаминов и увеличение сиаловой кислоты ($p < 0,05$), снижение галактозы и фукозы было недостоверно (табл. 1). Увеличение содержания сиаловой кислоты считается процессом, благоприятным для выполнения защитной функции пристеночного слизистого слоя, поскольку увеличивается уровень межмолекулярных взаимодействий и гель слизи становится более вязким. Следовательно, проведенный курс реабилитационной эндоскопической лазеротерапии, является благоприятным для процесса биосинтеза терминальных моносахаров полимеризованных гликопротеинов.

В группе больных, получивших медикаментозную терапию, через 1 мес после лечения характер изменения состава полимеризованных гликопротеинов показал, что достоверно ($p < 0,05$) увеличился парциальный состав корпусных моносахаров, в частности гексозаминов, и уменьшился парциальный состав терминальных моносахаров, в частности N-ацетилнейраминовой кислоты. Аналогичные данные были описаны Н.А. Кривовой [6] при изучении различных патологических состояний пищеварительного трак

Состав структурных ГП пристеночного слизистого слоя культи желудка в зависимости от вида реабилитационной терапии

Т а б л и ц а 1

Показатели, ммоль/л	Эндоскопическая лазеротерапия (n=44)		Медикаментозная терапия (n=20)		Контроль (n=15)	p (1-2)	p (1-3)	p (2-3)
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения				
Гексозамины	6,79 ± 1,47	3,03 ± 0,98	15,23 ± 4,68	22,42 ± 8,72	18,6 ± 2,8	0,0071*	0,0012*	0,043*
Галактоза	6,86 ± 1,47	8,46 ± 2,01	8,41 ± 3,36	9,88 ± 3,17	38,7 ± 5,1	0,435	0,0003*	0,0003*
Фукоза	1,76 ± 0,60	2,25 ± 0,53	11,39 ± 4,21	5,16 ± 2,78	10,7 ± 2,2	0,0571	0,039*	0,056
Сиаловая кислота	0,09 ± 0,01	0,12 ± 0,03	0,23 ± 0,08	0,10 ± 0,03	1,3 ± 0,4	0,378	0,0185*	0,022*
Сумма моносахаров	15,41 ± 2,23	13,72 ± 1,16	33,17 ± 5,47	37,38 ± 2,46	69,3 ± 4,5	0,0017*	0,0035*	0,01*

Примечание. p (1-2) – достоверность различий между больными первой и второй групп после лечения; p (1-3) – достоверность различий между больными первой группы после лечения и контролем (здоровые лица); p (2-3) – достоверность различий между больными второй группы и контролем; * – различия статистически достоверны ($p < 0,05$).

та, и полимеризованные гликопротеины с подобными изменениями состава были названы «незрелыми». Увеличение относительного содержания корпусных и снижение относительного содержания терминальных моносахаров означает, что процессы гликозилирования идут с большей скоростью и не до конца, мукоциты секретируют не полностью сформированные гликопротеины. Это может происходить при нарушении механизмов регуляции или при наличии агрессивной среды в полости желудка. При этом можно ожидать, что быстрое выделение не полностью сформированных гликопротеинов слизи отчасти компенсирует недостаточность защитной функции слизистого слоя. Однако в дальнейшем отрицательное воздействие агрессивных факторов усиливается, поскольку происходит изменение защитных свойств слизи – уменьшается содержание полимеризованных гликопротеинов в общем пуле гликопротеинов слизистого слоя, снижается его вязкость, и, следовательно, нарушаются свойства слизи защищать эпителиоциты от агрессивного воздействия полостного секрета. Данное состояние становится условием для дальнейшего развития патогенетических процессов, замыкая порочный круг.

Снижение содержания корпусных моносахаров полимеризованных гликопротеинов (галактозы и фукозы) после медикаментозного лечения свидетельствует о положительных изменениях в процессах гликозилирования при биосинтезе мо-

лекулы гликопротеина в результате реабилитационной терапии. Так, например, в терапии пострезекционных состояний значительное место занимает применение препаратов, которые изменяют условия функционирования клеточных рецепторов, – ганглиоблокаторов, холинолитиков и др. [5]. Поскольку изменяются условия функционирования рецепторов, то меняется регуляция процессов биосинтеза гликопротеинов после проведенного курса медикаментозной терапии.

Изменение содержания корпусных моносахаров структурных гликопротеинов после курса лазеротерапии связано с механизмом действия лазерного излучения. Воздействие лазерного излучения носит характер пускового или тормозного сигнала, способствующего оптимизации деятельности и обеспечению доминирующей в данный момент функциональной системы. То есть лазер выступает в роли триггерного регулятора клеточного метаболизма. Достоверное уменьшение суммы моносахаров ($15,41 \pm 2,23$ и $13,72 \pm 1,16$ ммоль/л, соответственно) свидетельствует о снижении процессов биосинтеза полимеризованных гликопротеинов, что говорит о нормализации защитной функции слизистого слоя.

Анализ состава внеструктурных компонентов ПСС желудка в желудочном соке в двух группах выявил, что после лечения произошло достоверное ($p < 0,05$) увеличение содержания гексозаминов и фукозы под влиянием лазерного излучения (табл. 2). Содержание сиаловой кислоты после

Т а б л и ц а 2

Состав внеструктурных ГП в желудочном соке пристеночного слизистого слоя культи желудка в зависимости от вида реабилитационной терапии

Показатели, ммоль/л	Эндоскопическая лазеротерапия (n=44)		Медикаментозная терапия (n=20)		Контроль (n=15)	p (1-2)	p (1-3)	p (2-3)
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения				
Гексозамины	$5,84 \pm 0,52$	$6,68 \pm 1,76$	$4,60 \pm 0,77$	$3,68 \pm 2,04$	$11,8 \pm 1,8$	0,048*	0,035*	0,008*
Галактоза	$4,07 \pm 0,47$	$2,69 \pm 0,37$	$6,64 \pm 3,55$	$4,00 \pm 0,25$	$7,1 \pm 1,7$	0,0054*	0,0012*	0,0168*
Фукоза	$4,32 \pm 0,74$	$3,16 \pm 0,60$	$3,00 \pm 0,73$	$2,46 \pm 0,67$	$11,4 \pm 2,7$	0,007*	0,0029*	0,0006*
Сиаловая кислота	$0,21 \pm 0,04$	$0,18 \pm 0,03$	$0,29 \pm 0,06$	$0,21 \pm 0,08$	$0,05 \pm 0,01$	0,465	0,765	0,02*
Сумма моносахаров	$12,84 \pm 1,11$	$11,99 \pm 1,99$	$14,47 \pm 1,30$	$10,35 \pm 1,61$	$30,3 \pm 4,5$	0,362	0,0045*	0,011*

Примечание. p (1-2) – достоверность различий между больными первой и второй групп после лечения; p (1-3) – достоверность различий между больными первой группы после лечения и контролем (здоровые лица); p (2-3) – достоверность различий между больными второй группы и контролем; * – различия статистически достоверны ($p < 0,05$).

эндоскопической лазеротерапии было достоверно снижено по сравнению с медикаментозным лечением: $0,18 \pm 0,03$ и $0,21 \pm 0,08$ ммоль/л, соответственно. При этом сумма моносахаров деградированных гликопротеинов достоверно увеличивалась. Это свидетельствует о том, что проведенная реабилитационная терапия оказывает нормализующее влияние на процессы деградации гликопротеинов. Необходимо учитывать, что все процессы биосинтеза секрета и деградации гликопротеинов слизистого слоя протекают одновременно и непрерывно, поэтому лазерная и медикаментозная терапии имеют разные точки приложения воздействия на эти процессы.

Сравнительный анализ состава внеструктурных компонентов ПСС желудка в супернатанте после восстановительного лечения в двух группах выявил достоверное увеличение содержания гексозаминов (табл. 3) и достоверное снижение галактозы, фукозы и сиаловой кислоты после эндоскопической лазеротерапии. Отмечается тенденция к увеличению суммы моносахаров деградированных гликопротеинов, причем степень деградации в супернатанте выше, чем в желудочном соке. Это связано с тем, что при выделении структурных ГП по методу Б.В. Питрана нековалентно связанные компоненты нативной слизи перешли в физиологический раствор.

Для оценки эффективности влияния разных способов реабилитации на биосинтез полимеризованных ГП оценивался парциальный состав от-

дельных моносахаров в молекуле полимеризованных ГП. Если после медикаментозной терапии соотношение гексозамины/галактоза/фукоза/ацетилнейраминная кислота составляло 59,31%/26,43%/14%/0,26%, то после лазеротерапии это соотношение изменилось и составило, соответственно, 22,13%/61%/16%/0,87% (норма: 27,2%/55,8%/15,1%/1,9%). Данные характеристики свидетельствуют об изменениях в процессах гликозилирования при биосинтезе молекулы гликопротеина. Нами отмечено увеличение содержания терминальных моносахаров (фукозы и ацетилнейраминной кислоты), что является хорошим прогностическим признаком. По-видимому, это объясняется следующим эффектом лазера: под его действием происходит блокировка «паразитарных» дыхательных цепей, при этом ускоряются процессы синтеза АТФ и синтеза клеточных белков, активируются процессы регенерации клетки, что в конечном итоге позволяет клетке восстанавливать свои функции [5]. Тем самым в клетках организма активизируются процессы биосинтеза, а в пристеночном слизистом слое желудка нормализуется процесс биосинтеза полимеризованных ГП.

Таким образом, сравнение парциального состава отдельных моносахаров в ПСС у больных при разных способах реабилитации с показателями у потенциально здоровых лиц позволяет сделать вывод о том, что лазерное лечение по сравнению с медикаментозной терапией оказыва

Т а б л и ц а 3

Состав внеструктурных ГП в супернатанте пристеночного слизистого слоя культи желудка в зависимости от вида реабилитационной терапии

Показатели, ммоль/л	Эндоскопическая лазеротерапия (n=44)		Медикаментозная терапия (n=20)		Контроль (n=15)	p (1-2)	p (1-3)	p (2-3)
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения				
Гексозамины	$23,97 \pm 3,93$	$28,89 \pm 7,06$	$38,90 \pm 18,19$	$17,41 \pm 2,04$	$17,8 \pm 1,4$	0,0318*	0,029*	0,1
Галактоза	$21,65 \pm 9,33$	$12,01 \pm 2,93$	$18,68 \pm 5,29$	$14,20 \pm 4,58$	$46,4 \pm 7,1$	0,071	0,0018*	0,0002*
Фукоза	$9,37 \pm 1,64$	$12,01 \pm 2,33$	$14,25 \pm 3,31$	$16,04 \pm 5,71$	$10,6 \pm 0,9$	0,0206*	0,0236*	0,019*
Сиаловая кислота	$0,46 \pm 0,07$	$0,26 \pm 0,10$	$0,65 \pm 0,25$	$0,43 \pm 0,19$	$0,56 \pm 0,09$	0,435	0,037*	0,737
Сумма моносахаров	$55,4 \pm 13,04$	$53,15 \pm 9,08$	$62,50 \pm 4,87$	$48,10 \pm 14,62$	$75,4 \pm 11,2$	0,047*	0,0004*	0,0001*

П р и м е ч а н и е. p (1-2) – достоверность различий между больными первой и второй групп после лечения; p (1-3) – достоверность различий между больными первой группы после лечения и контролем (здоровые лица); p (2-3) – достоверность различий между больными второй группы и контролем; * – различия статистически достоверны (p<0,05).

ет более серьезное влияние на биосинтез полимеризованных гликопротеинов и приближает его к нормальным показателям. Это повышает устойчивость слизистой оболочки желудка к агрессивным факторам, улучшает течение послеоперационного периода и сокращает сроки послеоперационной адаптации к новым условиям существования организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Витебский Я.Д., Бериашвили З.А. Диагностика и оперативное лечение рефлюкс-гастрита у больных хроническим калькулезным холециститом. Курган, 1982. С. 3–5.
2. Витебский Я.Д. Патогенез, профилактика и оперативное лечение постгастрорезекционных синдромов. Челябинск: Южно-Уральское книжное издательство, 1984. 152 с.
3. Жерлов Г.К., Зыков Д.В., Баранов А.И. Арелюксные анастомозы в хирургии рака желудка. Томск, 1996. 172 с.
4. Зыков Д.В. Возможности хирургического метода в улучшении результатов лечения рака желудка: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 1999. 41 с.
5. Зырянов Б.Н., Коломиец Л.А., Тузиков С.А. Рак желудка. Томск, 1998. 527 с.
6. Кривова Н.А. Механизмы образования и деградации надэпителиального слизистого слоя пищеварительного тракта: Дис. ... д-ра биол. наук. Томск, 1994, 257 с.
7. Нойберг А., Маршалл Р.Д. Методы количественного и качественного анализа углеводных компонентов // Гликопротеины / Под ред. А. Готтшалка. М.: Мир, 1969. Т. 1. С. 195–238.
8. Петров В.П., Лелиовский Ю.В., Рожков А.Г. Отдаленные результаты хирургического лечения рака желудка // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 1986. Т. 135, № 1. С. 71–79.
9. Питран Б.В., Бекер В.Ф., Морозов И.А. Ферменты заключительного и промежуточного гидролиза в слизистых наложениях надмембранного слоя тонкой кишки // Мембранное пищеварение и всасывание. Рига, 1986. С. 110–112.
10. Саенко В.Ф., Тутченко Н.И. Хирургическая тактика при щелочном послеоперационном рефлюкс-гастрите // Клиническая хирургия. 1981. № 2. С. 25–29.
11. Сальников А.В. Морфофункциональное состояние слизистой оболочки желудка и надэпителиального слизистого слоя при *Helicobacter pylori* инфекции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск, 1999. 20 с.
12. Уткин В.В., Рибениекс Р.Р. Диагностика и лечение пострезекционного рефлюкс-гастрита // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 1985. Т. 134, № 4. С. 37–40.
13. Dische Z., Shettles L.B. A specific color reaction of methylpentoses and a spectrophotometric micromethod for the determination // J. of Biol. Chemistry. 1948. Vol. 175, № 2. P. 595–603.
14. Handel D.U., Kittlak W. Vergleichende Untersuchung zur Methodik der Bestimmung des eiwei gedundenen zuckers // Z. Med. Labor. Techn. 1963. № 4. S. 163–169.
15. Ranaldi R., Santinelli A., Verdolini R. et al. Long-term follow-up in the early gastric cancer: evaluation of prognostic factors. // J. Pathol. 1995. № 4. P. 343–351.

Поступила 9.01.04