

В.А.КОСИНЕЦ

**ЭТИОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И РАЗВИТИЯ
РАСПРОСТРАНЕННОГО ГНОЙНОГО ПЕРИТОНИТА**

Витебский государственный медицинский университет, Беларусь

В эксперименте разработана модель распространенного гнойного перитонита путем создания синдрома энтеральной недостаточности. Выделены митохондрии из мышечной ткани тонкой кишки и сердца, и изучены биохимические процессы, протекающие в них. Разработан метод определения АТФазной активности микроорганизмов. Намечены пути восстановления биоэнергетической активности тонкой кишки при распространенном гнойном перитоните.

Несмотря на достижения современной медицины, лечение перитонита остается одной из наиболее сложных проблем хирургии. Основной причиной неблагоприятных исходов у больных с распространенным гнойным перитонитом является полиорганная недостаточность. Летальность при распространенном гнойном перитоните колеблется от 10 до 30%, а в случае развития полиорганной недостаточности она достигает 80-90% [1, 5].

В 100% случаев у больных с распространенным гнойным перитонитом развивается парез кишечника. Одной из главных причин развития синдрома кишечной недостаточности, по-видимому, являются патологические изменения биоэнергетических процессов в митохондриях клеток кишечника.

Более 90% кислорода, поступающего в организм человека, используется митохондриями для синтеза АТФ. При распространенном перитоните снижается использование кислорода в процессе сопряжения дыхания и окислительного фосфорилирования, что приводит к энергетическому "голоданию" органов. Однако механизм развития полидисфункции кишечника и, в частности, нарушение его двигательной функции остается по-прежнему недостаточно изученным [5].

В связи с этим весьма актуально дальнейшее изучение механизмов возникновения и развития синдрома кишечной недостаточности при распространенном гнойном перитоните, что в конечном итоге будет способствовать разработке целенаправленных этиопатогенетических методов лечения.

Цель исследования: определение путей оптимизации лечения синдрома энтеральной недостаточности при распространенном гнойном перитоните.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

У 10 здоровых людей и у 15 больных с распространенным гнойным перитонитом изучены количественный и качественный состав микроорганизмов в 1 мл содержимого тонкой кишки.

Экспериментальная модель синдрома энтеральной недостаточности была создана у кроликов-самцов породы шиншилла (масса 2500 ± 128 г): контрольная группа (5 кроликов), основная группа (5 кроликов).

Методы исследования:

- микробиологические - выделение и идентификация микроорганизмов, основных возбудителей распространенного гнойного перитонита, и определение их ферментов

агрессии (каталаза, ДНКаза, гепариназа, гиалуронидаза, бета-лактамаза, протеолитические ферменты) [4];

- гистологические - исследование тонкой кишки экспериментальных животных;
- биохимические - определение общих фосфолипидов, общих белков, индуцированного перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности в митохондриях мышечной ткани тонкой кишки и сердца экспериментальных животных [6];
- статистические - с применением пакета прикладных программ Statgraphics Plus 2.1 и MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известны различные способы моделирования гнойного перитонита, которые можно сгруппировать следующим образом:

- 1) введение в брюшную полость гнойной культуры бактерий (Т.Л. Комаровская и соавт., 1989) [3];
- 2) инфицирование брюшной полости каловой взвесью или кишечным содержимым (П.Н. Морозов, 1983) [7];
- 3) нарушение целостности желудочно-кишечного тракта оперативным путем (Г.Ш.Зубарев, 1974) [2];
- 4) введение в брюшную полость различных раздражающих веществ (скипидар, раствор Люголя) (И.А.Салихов и соавт., 1977) [8];
- 5) предварительное создание деструктивных процессов в желудочно-кишечном тракте (перевязка сосудов брыжейки) с дальнейшим исходом их в перитонит (В.Л.Белый, 1987) [1].

Недостатком всех предложенных методов является то, что при введении в брюшную полость микроорганизмов вначале развивается перитонит, а затем синдром энтеральной недостаточности (нарушение двигательной, эвакуаторной и всасывающей функций тонкой кишки). Причем, при таких способах моделирования перитонита никогда не учитывалась роль собственной микрофлоры желудочно-кишечного тракта экспериментального животного.

Нами разработана модель распространенного гнойного перитонита путем формирования изолированной петли тонкой кишки, удаления из нее аутофлоры и введения в просвет кишки заведомо известного микроорганизма *E. coli* (штамм 0111К58Н11С130-57).

У животных под внутривенным нембуталовым наркозом (30 мг/кг) выполняли лапаротомию. Отступив 1,5 м от желудка, выделяли петлю тонкой кишки длиной 50 см. Кишку с обеих сторон пересекали под зажимами. Конец приводящей кишки - концевая энтеростома, отводящий конец перевязывали наглухо. Изолированную петлю тонкой кишки многократно промывали физиологическим раствором и 0,02% раствором хлоргексидина биглюканата. Проведенные микробиологические исследования показали, что содержимое петли после промывания было стерильным.

В контрольной группе проксимальный и дистальный концы изолированной петли тонкой кишки после промывания перевязывали наглухо (рис. 1). В основной группе после промывания в просвет изолированной петли тонкой кишки вводили, микробную взвесь музейного штамма *E. coli* (20 млрд. микробных тел в 20 мл физиологического раствора), одного из основных возбудителей перитонита у человека (в среднем 10^9 микроорганизмов в 1 мл кишечного содержимого определялась данная концентрация при синдроме энтеральной недостаточности у человека), проксимальный и дистальный концы перевязывали наглухо. Через контрапертуру выводили приводящий отдел и формировали концевую энтеростому.

Рис. 1. Изолированная петля тонкой кишки (контрольная группа):

- 1 - конец приводящей кишки (в последующем концевая энтеростома);
- 2 - перевязанный наглухо отводящий конец тонкой кишки;
- 3 - изолированная петля тонкой кишки.

Через 24 часа животным основной и контрольной групп под внутривенным нембуталовым наркозом выполняли релапаратомию. В контрольной группе воспалительных изменений в брюшной полости не было. Изолированная петля тонкой кишки спавшаяся, обычного цвета.

В основной группе - гнойный выпот в брюшной полости. Изолированная петля тонкой кишки инфильтрирована, отёчна, на всём протяжении покрыта фибрином (рис. 2). При микробиологическом исследовании выпота из брюшной полости, а также крови, взятой из вены уха кролика, выделен штамм *E. coli* идентичный введенному в просвет кишки.



Рис. 2. Изолированная петля тонкой кишки (основная группа)

В основной и контрольной группах проведены гистологические исследования тонкой кишки. В контрольной группе изменений не установлено. Ворсинки тонкой кишки не изменены, мышечная ткань в норме (рис. 3).

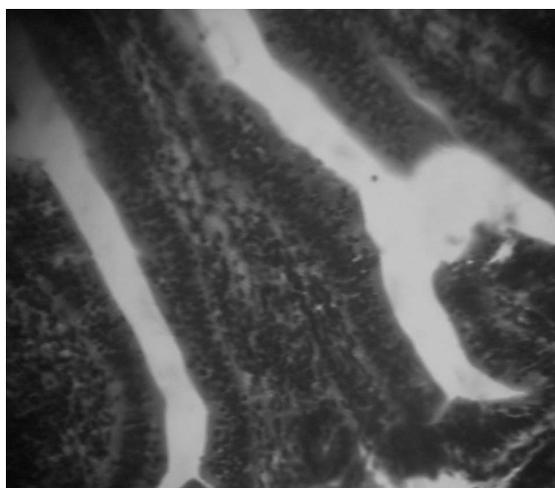


Рис. 3. Ворсинки тонкой кишки у животных контрольной

В основной группе отмечалось разрушение и отторжение ворсинок, выраженная лейкоцитарная инфильтрация мышечной ткани изолированной петли тонкой кишки, апоптоз, разволокнение и её некроз (рис. 4).

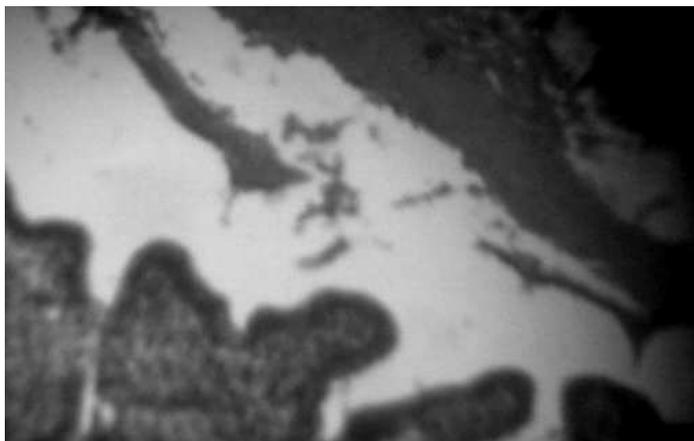


Рис. 4. Отторжение и некроз ворсинок тонкой кишки (основная группа)

Нами выделены митохондрии из мышечной ткани тонкой кишки и изучены биохимические процессы, протекающие в них и в митохондриях мышечной ткани сердца при распространенном гнойном перитоните.

При изучении общих фосфолипидов, выделенных из митохондрий мышечной ткани тонкой кишки у кроликов с распространенным гнойным перитонитом (основная группа), было установлено, что их содержание (измеряли оптическую плотность против контрольной пробы стандарта неорганического фосфата на спектрофотометре при 820 нм) статистически достоверно ($P < 0,05$) уменьшалось ($7,83 \pm 1,838$ мМоль/г белка), по сравнению с контрольной группой ($21,85 \pm 2,694$ мМоль/г белка). И, наоборот, в митохондриях сердечной мышцы - статистически достоверно ($P < 0,05$) увеличивалось (основная группа $-3,79 \pm 2,23$ мМоль/г белка; контрольная группа $-1,23 \pm 0,789$ мМоль/г белка).

При изучении содержания общих белков (измеряли на спектрофотометре СФ-46 по общепринятой методике) отмечалось достоверное их увеличение ($P < 0,05$) в митохондриях мышечной ткани тонкой кишки (основная группа $243,95 \pm 57,794$ мг/г ткани; контрольная группа $-72,99 \pm 9,312$ мг/г ткани) и недостоверное в мышечной ткани сердца (основная группа $-223,75 \pm 82,56$ мг/г ткани; контрольная группа $-175,78 \pm 33,67$ мг/г ткани).

В митохондриях мышечной ткани тонкой кишки (основная группа $12,22 \pm 2,641$ Ед; контрольная группа $-4,31 \pm 0,96$ Ед), по сравнению с мышечной тканью сердца (основная группа $4,61 \pm 0,951$ Ед; контрольная группа $-5,06 \pm 0,961$ Ед), имело место выраженная активация индуцированного перекисного окисления липидов. Аналогичная картина наблюдалась и при определении антиоксидантной активности: тонкая кишка (основная группа $0,522 \pm 0,136$ Ед; контрольная группа $0,151 \pm 0,025$ Ед), сердце (основная группа $-0,154 \pm 0,011$ Ед; контрольная группа $0,143 \pm 0,02$ Ед). Интенсивность процесса перекисного окисления липидов определялась по значению светосуммы хемилюминесценции за 40 секунд и I max. Антиоксидантный потенциал исследуемой пробы коррелирует с показателем $tg\ a$ [6].

Примененный в эксперименте штамм *E. coli* обладал (β -лактамазной, ДНКазной, гепариназной активностью, не продуцировал протеолитические ферменты и гиалуронидазу.

Известно, что каждый из выделенных ферментов обладает способностью воздействовать только на определенный субстрат: β -лактамаза — β -лактамное кольцо,

гиалуронидаза - мукополисахариды, каталаза - H_2O_2 ; гепариназа - гепарин [4]. Остается до конца неизученным механизм воздействия фермента АТФазы.

Нами разработан метод определения АТФазной активности микроорганизмов. Культуры микроорганизмов, выделенные из гнойного экссудата брюшной полости у 15 больных с распространенным гнойным перитонитом, однократно отмывали физиологическим раствором NaCl и приводили к оптической плотности 0,2 OD на 600 нм на спектрофотометре.

Микроорганизмы дезинтегрировали ультразвуком (аппарат Ultasonic Desintegrator type UD-20, режим IV) со временем обработки 30 секунд дважды. Центрифугировали, удаляя надосадок. Осадок ресуспензировали в 3 мл 0,05 М Трис-HCl pH 8,0, который содержал 25% сахарозы.

К 0,5 мл дезинтегрированных микробов добавляли 0,5 мл среды для инкубации с АТФ. Инкубировали 2-4 часа. Осаждали 1 мл 50% раствора трихлоруксусной кислоты и центрифугировали. К 1мл супернатанта добавляли 2 мл молибдата аммония и 1мл рабочего раствора эйконогена. Через 20 минут доводили общий объем до 5 мл дистиллированной водой и спектро-фотометрировали прибором СФ-8 при длине волны 600 нм.

2,19 г KH_2PO_4 растворяли в 500 мл воды. Такой раствор содержал 1 мг фосфора в 1мл. Для построения кривой к 0,5; 1; 2; 3; 4 и 5 мл стандартного раствора добавляли по 2 мл трихлоруксусной кислоты (ТХУ), 0,5 мл молибдата аммония и доливали до 10 мл водой. После 20-минутного стояния в темноте содержимое пробирок фотометрировали.

Расчет активности производили по калибровочной кривой и выражали количеством микрограммов отщепившегося неорганического фосфора в час на 1 мл культуры микроорганизмов.

Наибольшей АТФазной активностью *in vitro* среди изученных нами возбудителей обладал используемый в эксперименте штамм *E.coli* - 26,67 мкг неорганического фосфата в час / 1 мл культуры, наименьшей - *V.fragilis* - 8,75 (рис. 5).

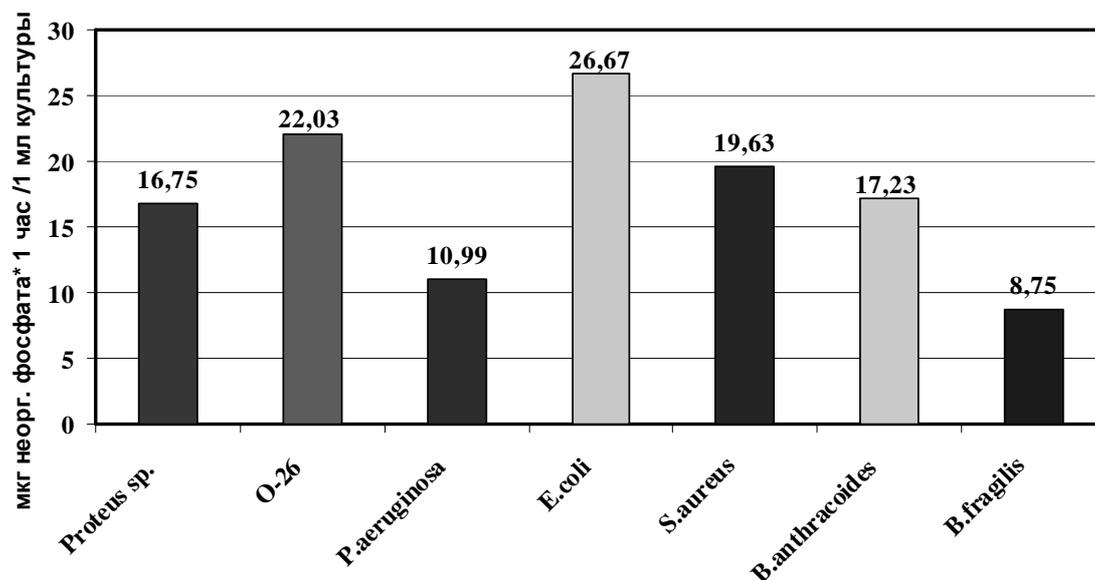


Рис.5. АТФазная активность микроорганизмов - основных возбудителей распространенного гнойного перитонита

Полученные результаты показали, что при экспериментальном распространенном гнойном перитоните нарушается структурно-функциональная организация митохондрий: резко снижается содержание общих фосфолипидов, увеличивается количество общих

белков, активируются процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантная активность, то есть снижается биоэнергетический потенциал мышечной ткани тонкой кишки и сердца. С нашей точки зрения, это является следствием не только местной воспалительной реакции, но и, возможно, воздействием на митохондрии фермента АТФазы, так как другие ферменты микроорганизмов подобным действием не обладают.

ВЫВОДЫ

1. Главным источником инфекции и эндогенной интоксикации при распространенном гнойном перитоните является желудочно-кишечный тракт (синдром энтеральной недостаточности).

2. Перитонит - абдоминальный сепсис.

3. В митохондриях мышечной ткани тонкой кишки при экспериментальном гнойном перитоните отмечается резкое снижение содержания общих фосфолипидов, увеличение общих белков, активация процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности.

4. Наибольшей АТФазной активностью обладают Грам(-) микроорганизмы *E.coli*, являющиеся одним из основных возбудителей гнойного перитонита.

5. Для восстановления биоэнергетической активности тонкой кишки при распространенном гнойном перитоните необходимы:

- интубация тонкой кишки и энтеросорбция, антимикробная терапия;
- ингибирование АТФазной активности микроорганизмов;
- парентеральное введение препаратов, повышающих энергетический потенциал тонкой кишки.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Белый В.Я. Патологические аспекты и пути патогенетической терапии острого разлитого перитонита: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - Л., 1987. - 32 с.
- 2.Зубарев П.Н. основные пути перитонеальной резорбции при раневом перитоните: Автореф. дис ... канд. мед. наук. - Л., 1974.-16 с.
- 3.Комаровская Т.П., Балтрашевич А.К., Куликова О.С. Изучение особенностей коли-бактериальной инфекции в эксперименте на мышах // Журн. микробиол. - 1989. -№2.-С.20-24.
- 4.Косинец А.Н., Окулич В.К., Булавкин В.П. Антибактериальная терапия в гнойной хирургии. - Витебск, 2002. - 600 с.
- 5.Косинец А.Н., Стручков Ю.В. Инфекция в хирургии (руководство) Витебск. - 2004. -500 с.
- 6.Кузьмина Е.Н., Нелюбин А.С., Щенникова М.К. Применение инфльтрованной хемилуминесценции для оценки свободно радикальных реакций в биологических субстратах // Межвузовский сборник «Биохимия и биофизика микроорганизмов». -Горький ,1983.-С. 179-183.
- 7.Морозов П.Н. Патологическая физиология экспериментально перитонита // Актуальные вопросы экспериментальных и клинических исследований. - М., 1983. - С. 67-69. 8.Салихов И.А., Уточкин В.М., Нигметзяков Р.Я. Внутрисосудистая агрегация эритроцитов при перитоните // Хирургия. -1977. С. 29-32.

Поступила 23.02.2005 г.