

Митохондриальные нарушения в развитии спаечной болезни у детей

О.В. Саркисова, В.С. Сухоруков, В.И. Петлах, А.К. Коновалов, Г.В. Ставицкая, Е.С. Воздвиженская, Е.В. Тозлиян

Mitochondrial impairments in the development of peritoneal commissures in children

O.V. Sarkisova, V.S. Sukhorukov, V.I. Petlakh, A.K. Konovalov, G.V. Stavitskaya, E.S. Vozdvizhenskaya, E.V. Tozliyan

Московский НИИ педиатрии и детской хирургии; Детская городская клиническая больница № 9 им. Г.Н.Сперанского; Российский государственный медицинский университет, Москва

Проведено исследование активности митохондриальных ферментов и фенотипа ацетилирования у детей с рецидивирующим течением спаечной болезни. Показано, что возможной причиной рецидивирующего спайкообразования брюшной полости является полисистемная митохондриальная дисфункция, обнаруживаемая у большинства пациентов.

Ключевые слова: дети, спаечная болезнь, митохондриальная недостаточность, фенотип ацетилирования.

The activity of mitochondrial enzymes and the phenotype of acetylation were studied in children with recurrent peritoneal commissures. The possible cause of recurrent peritoneal commissures in the abdominal cavity was shown to be polysystemic mitochondrial dysfunction detectable in most patients.

Key words: children, peritoneal commissures, mitochondrial insufficiency, acetylation phenotype.

Проблема послеоперационных спаечных осложнений в хирургической практике остается актуальной, несмотря на большую научно-исследовательскую работу, проводимую учеными разных стран, по изучению патогенеза патологического спайкообразования и возможностей его предотвращения. Спаечная болезнь брюшины — наиболее частая причина хронического болевого синдрома, в том числе желудочно-кишечного дискомфорта, нарушения пассажа по кишечной трубке и бесплодия [1, 2]. По данным многочисленных исследований, спайкообразование

в брюшной полости выявляется после большинства хирургических манипуляций (до 98%), а спаечные осложнения развиваются примерно в 5–8% случаев [3, 4]. Необходимо отметить, что процент данных осложнений значительно снизился в последние годы, что связано с активным внедрением миниинвазивных хирургических технологий, изменением качества применяемых материалов и появлением медикаментозных средств, воздействующих на различные аспекты формирования интраперитонеальных сращений.

Отделение неотложной и гнойной хирургии Московского НИИ педиатрии и детской хирургии совместно с Детской городской клинической больницей № 9 Москвы более 15 лет занимается изучением вопросов профилактики, диагностики и лечения спаечной болезни у детей. Исследование активности макрофагальной реакции и фенотипа ацетилирования в раннем послеоперационном периоде у больных с острым аппендицитом показало, что дети с выраженным угнетением макрофагальной реакции и фенотипом быстрого ацетилирования составляют группу риска по развитию ранней спаечной кишечной непроходимости [5]. Это позволило разработать патогенетически обусловленную методику лечения и профилактики спаечных осложнений, которая успешно применяется в нашей повседневной практике [6].

Метод основан на применении препаратов, способствующих деструкции коллагена в спайках с их последующим лапароскопическим разделением

© Коллектив авторов, 2009

Ros Vestn Perinatol Pediat 2009; 6:88–91

Адрес для корреспонденции: Саркисова Оксана Владимировна — асп. отделения неотложной и гнойной хирургии МНИИ педиатрии и детской хирургии 125412 Москва, ул. Талдомская, д. 2

Сухоруков Владимир Сергеевич — д.м.н., проф., рук. научно-исследовательской лабораторией общей патологии МНИИ педиатрии и детской хирургии Петлах Владимир Ильич — д.м.н., рук. отделения неотложной и гнойной хирургии МНИИ педиатрии и детской хирургии

Коновалов Александр Карпович — д.м.н., зав. отделением неотложной и гнойной хирургии ДГКБ №9 им. Г.Н. Сперанского 123317 Москва, Шмитовский пр., 29

Ставицкая Галина Васильевна — к.б.н., доц. кафедры морфологии медико-биологического факультета РГМУ

117869 Москва, ул. Островитянова, д. 1

Воздвиженская Екатерина Сергеевна — к.б.н., ст.н.сотр. научно-исследовательской лаборатории общей патологии МНИИ педиатрии и детской хирургии

Тозлиян Елена Васильевна — к.м.н., вед.н.сотр. научно-исследовательской лаборатории общей патологии МНИИ педиатрии и детской хирургии

в плановом порядке. Внедрение данного метода профилактики и лечения патологического спайкообразования позволило снизить частоту послеоперационных спаечных осложнений с 4,12 до 1,96%, привело к уменьшению числа широких релапаротомий с 3,02 до 0,34%, сокращению сроков госпитализации на 5 койко-дней и отсутствию летальности при повторных оперативных вмешательствах. Сроки катамнеза составили от 3 до 10 лет, в большинстве случаев (около 90%) отмечено исчезновение клинических и ультразвуковых признаков заболевания.

Однако существует группа пациентов (9,04%), у которых проводимая терапия имеет малую клиническую эффективность. У этих детей, несмотря на регулярно проводимые курсы противоспаечной терапии, сохраняются клинические проявления спаечной болезни той или иной степени выраженности.

В последние годы ведутся активные научные исследования клеточного энергообмена при различных патологических состояниях. Обозначен широкий круг заболеваний, включающий те или иные нарушения клеточной энергетики как вторичные звенья патогенеза. Выявлено влияние митохондриальной недостаточности на характер послеожогового рубцевания, течение раннего послеоперационного периода у детей с аппендикулярным перитонитом, течение тонзиллитов, некоторых урологических заболеваний и др. [7, 8]. Значительная роль митохондриальных нарушений в патогенезе соединительнотканых заболеваний обосновывает актуальность исследования полисистемных митохондриальных функций у детей с повышенной склонностью к спайкообразованию [9]. В научной литературе отсутствуют сведения об исследованиях, посвященных изучению митохондриальной активности у больных с послеоперационными спаечными осложнениями.

Цель настоящего исследования — выявление признаков полисистемных митохондриальных нарушений как возможной причины рецидивирующего течения заболевания у детей со спаечной болезнью и зависимости митохондриальной активности от скорости ацетилирования. Методической основой работы послужило определение фенотипа ацетилирования, изучение активности митохондриальных дегидрогеназ и лактатдегидрогеназы лимфоцитов периферической крови, а также ультраструктуры митохондрий в клетках соединительной ткани брюшинных спаек.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На базе отделения неотложной и гнойной хирургии Детской городской клинической больницы № 9 им Г.Н. Сперанского обследованы 26 пациентов (10 девочек и 16 мальчиков) с рецидивирующим течением спаечной болезни. Всем детям до проведения

настоящего исследования назначалась противоспаечная терапия, включающая электрофорез коллагенина на переднюю брюшную стенку с одновременным пероральным приемом купренила в течение 10—14 дней. Во всех случаях была отмечена малая клиническая эффективность применяемой методики. Распределение детей по возрасту было следующим: от 3 до 7 лет — 7 детей, от 8 до 12 лет — 11, от 11 до 16 лет — 8. Спаечная болезнь развилась у 4 (15,4%¹) пациентов после однократного оперативного вмешательства, 12 (46,2%) детей перенесли 2 оперативных вмешательства и 10 (38,5%) больных имели в анамнезе 3 оперативных вмешательства и более. Длительность заболевания составила от 1 года до 12 лет. У 12 (46,2%) детей течение заболевания было средней степени тяжести, у 7 (26,9%) — легкой и у 7 (26,9%) — тяжелой.

Для оценки тяжести течения заболевания использовалась клиническая классификация А.Н. Демина (1988), согласно которой выделяются три формы течения спаечной болезни. Легкая форма характеризуется слабо или умеренно выраженным болевым синдромом, незначительными нарушениями со стороны желудочно-кишечного тракта, частота приступов — от 1 до 4 в год, их продолжительность — от 20 мин до 2 ч. Для течения заболевания средней степени тяжести характерны выраженный болевой синдром, частые короткие приступы продолжительностью 1—2 ч от 5 до 10 раз в год или редкие долгие приступы продолжительностью 2—6 ч 2—4 раза в год, выраженные нарушения со стороны желудочно-кишечного тракта. Тяжелая форма характеризуется частыми, более 6 раз в год и выраженными болевыми приступами с явлениями острой кишечной непроходимости.

Во всех случаях изучали ферментный статус лимфоцитов периферической крови и определяли фенотип ацетилирования. Фенотипирование по активности N-ацетилтрансферазы выполнялось по методу Пребстинга и Гаврилова в модификации Тимофеевой (метод с определением ацетилированного сульфадимезина в шестичасовой пробе крови или мочи после однократного назначения тест-дозы препарата) [10]. По результатам данного исследования все дети были разделены на две группы: группа «быстрых» ацетиляторов ($n=5$) со скоростью ацетилирования более 70% и группа «медленных» ацетиляторов ($n=21$) со скоростью ацетилирования соответственно менее 70%.

Цитохимическое выявление активности митохондриальных ферментов: сукцинатдегидрогеназы (СДГ), α -глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) лейкоцитов периферической крови проводилось методом Р.П. Нарциссова. В группу сравнения по ферментному статусу дегидрогеназ лимфоцитов вошли 28 здоровых детей в возраст

¹ Здесь и далее при указании относительного числа больных проценты даны условно.

те от 3 до 16 лет. В 6 случаях было проведено электронно-микроскопическое исследование клеточного состава брюшинных спаек для выявления структурных признаков митохондриальной недостаточности.

При обработке результатов исследования использовались следующие методы: описательная статистика, дисперсионный анализ, корреляционный анализ, критерий Пирсона для частотного анализа. За величину порогового уровня статистической значимости принималось значение 0,05. Обработка результатов исследования проводилась при помощи пакета статистических программ «SPSS 11.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении митохондриальной активности ферментов в группе больных со спаечной болезнью было выявлено достоверное ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой снижение активности СДГ, α -ГФДГ. При этом не установлено взаимосвязи активности митохондриальных ферментов и течения заболевания, распространенности спаечного процесса брюшной полости, фенотипа ацетилирования, что может быть объяснено высокой однородностью группы.

Ранее мы полагали, что послеоперационные спаечные осложнения — удел «быстрых» ацетилаторов. Однако исследование фенотипа ацетилирования у пациентов с рецидивирующим течением спаечной болезни показало, что только у 5 (19,2%) детей скорость ацетилирования составила более 70%, остальные пациенты являлись «медленными» ацетилаторами. Эти результаты согласуются с данными литературы. О.А. Комаров (2005) в своем исследовании провел идентификацию фенотипов «быстрых» и «медленных» ацетилаторов с учетом генотипических вариантов. При обследовании пациентов со спаечной болезнью им были выделены 3 группы в зависимости от скорости ацетилирования: в группу «быстрых» ацетилаторов (скорость ацетилирования $> 70\%$) вошли 54,1% обследованных, группу «медленных» (скорость ацетилирования 50—70%) составили 44,3%. Кроме того, автор выделил группу так называемых «очень медленных» ацетилаторов (скорость ацетилирования $< 50\%$), в которую вошел 1 пациент, что составило 1,6% обследованных [11].

В нашем исследовании анализ течения заболевания в группе «быстрых» ацетилаторов показал, что у всех 5 пациентов отмечалось легкое или среднетяжелое течение спаечной болезни, во всех случаях наблюдался положительный клинический эффект на фоне терапии в виде значительного уменьшения или исчезновения болевого синдрома, нормализации стула. Дети не нуждались в соблюдении строгой диеты, их социальная активность не была ограничена. Повторная госпитализация в 3 случаях была связана с развитием спаечной кишечной непроходимости

на фоне: выраженного спаечного процесса в области предыдущего оперативного вмешательства с деформацией кишечных петель у 2 пациентов и ущемлением кишечной петли единичными штрانгами у 1 больного. Необходимо отметить, что во всех случаях интраоперационно была выявлена трансформация спаек, которые были аваскуляризованы, имели студнеобразную консистенцию и легко разделялись без применения режущего инструментария. Это указывает на то, что проводимая ранее противоспаечная терапия, направленная на деструкцию коллагена в спайках, была эффективной. Двое пациентов были госпитализированы повторно в связи с жалобами на боли в животе, причиной которых явилось обострение хронической гастроуденальной патологии.

Исследование ферментного статуса лимфоцитов показало снижение активности СДГ, α -ГФДГ. Во всех случаях были выявлены умеренно выраженные изменения качественных параметров гранул — наличие единичных кластеров и мелких гранул, нарушение распределения гранул в некоторых клетках.

Анализ течения заболевания в группе «медленных» ацетилаторов ($n=21$) показал, что в 47,6% ($n=10$) случаев имело место среднетяжелое течение спаечной болезни, а в 33,3% ($n=7$) случаев — тяжелое. У этих детей отмечался незначительный кратковременный эффект от противоспаечной терапии. Больные вынуждены были постоянно соблюдать строгую диету, избегать физических нагрузок, их социальная активность была ограничена. В большинстве случаев дети перенесли 2—3 оперативных вмешательства и более. Шесть пациентов из этой группы были оперированы по экстренным показаниям в связи с развившейся картиной острой спаечной кишечной непроходимости. Интраоперационно визуализировались сращения разного качества — наряду с трансформированными выявлялись неизмененные, разной степени «зрелости» спайки, что тоже указывает на низкую эффективность проводимой ранее противоспаечной терапии у данной категории пациентов.

Исследование ферментного статуса также показало снижение активности СДГ, α -ГФДГ. При оценке качественных параметров гранул были выявлены более грубые изменения, чем у детей с фенотипом быстрого ацетилирования: в 52,4% случаев — умеренно выраженные изменения, в 42,3% случаев — выраженные изменения в виде значительного нарушения распределения гранул во всех клетках, большого количества мелких гранул, кластерообразования.

В обеих группах было проведено исследование ткани спаек с помощью электронно-трансмиссионной микроскопии. Основное внимание уделялось изучению фибробластов — основной клеточной формы соединительной ткани. Было выявлено, что в ткани спаек присутствуют все клеточные типы фибробластов: от малодифференцированных кле-

ток до зрелых и фиброцитов как конечной формы дифференцировки клеток фибробластического ряда. Необходимо отметить, что среди всех выявленных клеточных форм преобладали клетки с высокой синтетической активностью, при этом для всех клеток были характерны ультраструктурные изменения деструктивного свойства — расширение, дегрануляция, фрагментация зернистой эндоплазматической сети, редукция аппарата Гольджи, деформация контуров ядерной и цитоплазматической мембран. Микроскопическая организация всех структурно-функциональных типов при этом, вероятно, может отражать появление компенсаторной ответной реакции клеток на «экстремальные» условия существования при патологическом спайкообразовании брюшной полости, что выражается в гипертрофии митохондрий, гиперплазии зернистой эндоплазматической сети, появлении аутофагосом.

ВЫВОДЫ

1. Для больных со спаечной болезнью характерны признаки митохондриальных нарушений, выражающиеся в снижении цитохимических параметров активности митохондриальных ферментов и в наличии ультраструктурных изменений митохон-

дрий в соединительнотканых элементах спая.

2. Применяемый нами курс противоспаечной терапии наиболее эффективен у больных с фенотипом быстрого ацетилирования, так как механизм его действия направлен на нормализацию синтеза коллагена за счет снижения активности лизилоксидазы — одного из ключевых ферментов этапа полимеризации коллагеновых фибрилл.
3. Недостаточная эффективность применяемой методики у пациентов с фенотипом медленного ацетилирования может быть обусловлена другими, более значимыми у данной группы больных патогенетическими факторами, влияющими на процесс регенерации брюшины. Наши исследования показали, что одним из таких факторов является митохондриальная недостаточность, отмечаемая у большинства детей со спаечной болезнью.
4. Уровень митохондриальной активности у детей с рецидивирующим течением спаечной болезни не зависит от скорости ацетилирования.
5. Нарушения клеточного энергообмена у больных с патологическим спайкообразованием в брюшной полости диктуют необходимость решения вопроса о возможности включения в комплекс лечебных мероприятий препаратов энерготропного ряда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alpay Z., Saed G.M., Diamond M.P. Postoperative adhesions: from formation to prevention // *Semin. Reprod. Med.* 2008. Vol. 26. № 4. P. 313—321.
2. Wiseman D.M. Disorders of adhesions or adhesion-related disorder: monolithic entities or part of something bigger--CAPPS? // *Semin. Reprod. Med.* 2008. Vol. 26. № 4. P. 356—328.
3. Tingstedt B., Isaksson K., Andersson E. et al. Prevention of abdominal adhesion—present state and what's beyond the horizon? // *Eur. Surg. Res.* 2007. Vol. 39. № 5. P. 259—268.
4. Ступин В.А., Мударисов Р.Р., Михайлуков С.В. и др. Комплексный подход в лечении и профилактике спаечной болезни брюшной полости и её осложнений / Сб. тез. 11-го международного конгресса по эндоскопической хирургии. М., 2007. С. 386.
5. Коновалов А.К. Патогенетическое обоснование профилактики, ранней диагностики и щадящих методов хирургического лечения послеоперационных внутрибрюшных осложнений острого аппендицита у детей: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1996. 48 с.
6. Розинев В.М., Бурков И.В., Лекманов А.У. и др. Реабилитация детей младшего возраста с кишечными стомами / Пособие для врачей. М., 2004. 28 с.
7. Сухоруков В.С. Нарушение клеточного энергообмена у детей // *Рос. вестн. перинатол. и педиат.* 2002. № 5. С. 44—50.
8. Писарева И.В., Карасева О.В., Рошаль Л.М. и др. Цитохимическая оценка течения раннего послеоперационного периода при аппендикулярном перитоните у детей // *Вопр. совр. педиат.* 2007. № 3. С. 28—31.
9. Семякина А.Н., Николаева Е.А., Новиков П.В. и др. Нарушения процессов клеточной биоэнергетики у детей с моногенными заболеваниями соединительной ткани (синдромы Марфана и Элерса—Данлоса) и методы их терапевтической коррекции. *Мед. генетика.* 2002. № 4. С. 186—190.
10. Алексеева Н.В., Юрьева Э.А., Раба Г.П. и др. Современные способы оценки процессов пероксидации в организме при заболеваниях у детей / Пособие для врачей. М., 2000. 52 с.
11. Комаров О.А. Прогнозирование спаечной болезни брюшины у детей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Уфа, 2005. 22 с.

Поступила 22.09.09