

О.С. БОГУШЕВИЧ ¹, Н.В. ЗАВАДА ¹, И.И. ПИКИРЕНЯ ²,
И.А. ШВЕД ¹, В.В. СЕДУН ¹

ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ЛИПИДОВ В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ГАСТРЭКТОМИЮ

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования» ¹,

Министерство здравоохранения Республики Беларусь ²,

Республика Беларусь

Цель. Изучить особенности липидного обмена и изменения во внутренних органах в послеоперационном периоде у экспериментальных животных, перенёсших гастрэктомию.

Материал и методы. Выполнен эксперимент на 150 белых крысах, перенёсших гастрэктомию. В послеоперационном периоде животные были разделены на 3 группы в зависимости от варианта питательной поддержки: 1 – питание проводилось препаратом «Энтерал»; 2 – питание проводилось только 0,9% раствором хлорида натрия; 3 – питание не проводилось вообще – контроль. Оценивали выживаемость, общее состояние, динамику массы тела, биохимические, гематологические показатели и морфологические изменения внутренних органов.

Результаты. На фоне изменений показателей липидного обмена выявлены гистологические изменения в печени оперированных животных, поскольку печень является основным органом метаболизма липидов (холестерина, фосфолипидов, триглицеридов и липопротеинов).

Заключение. Результаты эксперимента указывают на необходимость ранней коррекции скрыто протекающих дегенеративных изменений в ткани печени в послеоперационном периоде после операций на желудке и двенадцатиперстной кишке, развитие которых не имеет явных биохимических маркеров. Эти изменения в печени можно минимизировать введением в послеоперационном периоде препарата «Энтерал».

Ключевые слова: гастрэктомия, энтеральное зондовое питание, нарушение липидного обмена, морфологическая картина, жировая дистрофия печени

Objectives. To study the lipid exchange peculiarities and changes in all the internal organs in the postoperative period in experimental animals after gastrectomy.

Methods. The experiment was carried out on 150 white rats after gastrectomy. In the postoperative period all animals were divided into 3 groups according to the nutritional support option: 1 – feeding was provided by the preparation «Enteral»; 2 – feeding was limited to only 0,9% sodium chloride solution; 3 – no feeding at all was given – control. Survival rate, general condition, body mass dynamics, biochemical, hematologic parameters and morphological changes of the internal organs were evaluated.

Results. On the background of changes in the lipid exchange parameters, histological changes in the liver of the operated animals were revealed since the liver is the chief organ of lipid metabolism (cholesterol, phospholipids, triglycerides, lipoproteins).

Conclusions. The experiment results testify to the necessity of early correction of latent degenerative changes in the liver tissue in the postoperative period after the operations on the stomach and duodenum; these changes development hasn't clear biochemical markers. These changes in the liver can be minimized by introducing the preparation «Enteral» in the postoperative period.

Keywords: gastrectomy, enteral tube feeding, lipid exchange disturbance, morphological picture, liver fatty dystrophy

Введение

Лечение хирургических больных невозможно представить без применения лечебного питания в пред- и послеоперационном периодах. В настоящее время активно изучается проблема коррекции метаболических нарушений и выраженности синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) у больных, находящихся в критическом состоянии. Одним из методов коррекции метаболических нарушений является применение лечебного питания – фармаконутриентов, которые способны оказывать специфическое влияние на течение метаболических реакций, состояние иммунной системы, проницаемость кишечной стенки [1, 2]. В научных публикациях активно обсуждается возможность целенаправленного воздействия питательных субстратов на различные патологические состояния, включая комплекс метаболических реакций организма, развивающихся в критическом состоянии [2, 3, 4, 5, 6, 7]. Интерес к особенностям обмена липидов в послеоперационном периоде, и в частности, к жирным кислотам (ЖК), обусловлен тем, что именно они принимают активное участие в синтезе многочисленных гормонов и биологически активных веществ: простагландинов, тромбоксанов, простаглицлина, лейкотриена и других, уровни которых резко изменяются при ССВО.

Содержание жирных кислот в мембранах клеток влияет на активность мембранных ферментов и рецепторов, текучесть мембран, физические и пространственные взаимоотношения в мембранных структурах.

Кроме того, жирные кислоты могут влиять на белковый состав клеточной мембраны, так как ацилирование некоторых белков является необходимым компонентом её биосинтеза, что напрямую сказывается на стабильности последней [8, 9].

Цель исследования: изучить особенности липидного обмена и корреляцию показателей липидного обмена с изменениями во внутренних органах в послеоперационном периоде у экспериментальных животных, перенёсших гастрэктомию.

Материал и методы

Для реализации поставленной цели выполнен эксперимент на 150 белых крысах массой от 190 до 210 г.

Оперативное вмешательство выполнялось нами под общим обезболиванием путём внутримышечного введения фентанила 0,005% и дроперидола 0,25% в соотношении 2:1 в дозе 0,3 мл смеси на 100 г веса животного. Доступ – верхнесрединная лапаротомия. После мобилизации желудка выполнялась гастрэктомия, достигался гемостаз. Пищевод перевязывали капроновой лигатурой. В культю двенадцатиперстной кишки вводили зонд для энтерального питания диаметром 2 мм и фиксировали двумя лигатурами. Проксимальный конец зонда проводился через мягкие ткани передней брюшной стенки и тазовой области, а затем – под кожей хвоста и выводился наружу в 5–6 см от его кончика. С меньшей травмой для животного этот этап выполняли с помощью специального проводника. Рану брюшной стенки ушивали наглухо.

При проведении экспериментальных исследований руководствовались Инструкцией МЗ РБ 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ»; МУ «Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP)» (Руководящий нормативный документ РД-126-91. М., 1992); МР «Правила работы с использованием экспериментальных животных» (утв. 16.06.2004г.

ректором БелМАПО).

В послеоперационном периоде каждая крыса содержалась индивидуально в достаточно просторной и простой по конструкции клетке.

Все животные были разделены на 3 группы:

Группа 1. 50 животных. Энтеральное питание проводилось разработанным в Республике Беларусь препаратом «Энтерал».

Группа 2. 50 животных. Энтеральное питание проводилось только 0,9% раствором хлорида натрия.

Группа 3. 50 животных. Питание не проводилось вообще – контроль.

Питательная смесь вводилась в двенадцатиперстную кишку по установленному во время операции зонду с помощью инфузomата (насос шприцевой ДШ-08 «Висма Планар», Республика Беларусь) или перистальтического насоса (НК-02 «Висма Планар», Республика Беларусь). Для оценки изменений веса все экспериментальные животные взвешивались на электронных лабораторных весах АВ-5120 «Adventurer» сразу же после оперативного вмешательства и в последующем – ежедневно до выведения из опыта.

Оценивали выживаемость, общее состояние, динамику массы тела, биохимические и гематологические показатели.

Животные выводились из опыта на 1-е, 2-е, 3-и, 4-е и 5-е сутки после операции путём внутримышечной инъекции Sol. Thiopentali-natrii 10% с последующим забором биоматериала для гистологического исследования: печень, сердце, лёгкие, тонкая и толстая кишка, почки, поперечнополосатая мускулатура. Иссечённые участки внутренних органов экспериментальных животных (белых крыс) фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение 48 часов. Затем промывали в проточной воде в течение 24 часов, обезживали в

спиртах восходящей концентрации (70%, 80%, 96%, абсолютный спирт). Далее материал проводили через спирт-хлороформ, хлороформ, хлороформ-парафин и заливали в парафин. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 4–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Для определения гликогена сердце и печень животных фиксировали в реактиве Карнуа (70% спирт, ледяная уксусная кислота, хлороформ). Далее материал проводили так же через спирты и заливали в парафин по общепринятой методике (см. выше). Микропрепараты сердца и печени окрашивали в реактиве Шиффа (ШИК-реакция) [10, 11].

Изучение микропрепаратов и изготовление микрофотографий проводили с помощью микроскопа DMLS (увеличение в $\times 100$ или $\times 400$ раз) с программным обеспечением и компьютером IBM («Leica», Германия) совместно с сотрудниками патоморфологической группы ЦНИЛ БелМАПО.

При проведении биохимического анализа нами использованы методы количественного определения компонентов в сыворотке крови. Изучались общий белок и его фракции, мочевины, креатинин, билирубин, общие липиды, общий холестерин (ОХ), триглицериды (ТГ), фосфолипиды (ФЛ), липопротеиды высокой, низкой и очень низкой плотности (ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП), альфа-токоферол.

Анализ проводили на биохимическом анализаторе «ФП-900» (Финляндия) с использованием диагностического набора «Витал Диагностикс» (Российская Федерация).

Содержание общих липидов в сыворотке крови определяли по цветной реакции с сульфосфованилиновым реактивом. Для определения концентрации общего холестерина в сыворотке крови использовался энзиматический метод Триндера. Концен-

Таблица 1

Выживаемость экспериментальных животных после операции гастрэктомии

	Количество животных	Погибли					Выведены из опыта
		1 сутки	2 сутки	3 сутки	4 сутки	5 сутки	
Группа 1	50	0	0	0	0	0	50
Группа 2	50	0	0	0	15	20	15
Группа 3	50	0	15	20	15	0	0

трацию триглицеридов в сыворотке крови определяли энзиматическим колориметрическим методом. Уровень фосфолипидов в сыворотке крови определяли по содержанию в них липидного фосфора. Определение липопротеинового профиля в сыворотке крови проводилось на агарозном геле при pH 7,5 при помощи системы электрофореза, что позволило получить типовые фракции: альфа, бета и пре-бета. Разделенные липопротеины окрашиваются липид-специфическим красителем – суданом чёрным. Для оценки окрашенных фореграмм использовали метод количественного анализа. Количественную оценку содержания отдельных фракций проводили, применяя прямую денситометрию с помощью денситометра DM-2120 с программным обеспечением [12, 13, 14]. Для контроля качества использовалась контрольная сыворотка «HUMATROL N» (Германия).

Статистические данные рассчитывались параметрическими методами с использованием пакета программ Statistica 6.0 и Excel, с вычислением средней арифметической величины (M), средней ошибки средней арифметической (m). Учитывая, что нами производилась одновременно сравнение более, чем 2 групп, исполь-

зован тест Крускала-Уоллеса.

Статистическая достоверность различных выборочных совокупностей считалась достоверной при вероятности свыше 95% ($p < 0,05$) и высокодостоверной при вероятности свыше 99,9% ($p < 0,001$). При определении доверительных границ средних величин для малых выборок величины t проверялись по таблицам Стьюдента для малых выборок.

Результаты и обсуждение

При оценке выживаемости экспериментальных животных после операции гастрэктомии установлено, что в 1-й группе через 5 дней эксперимента выживаемость составила 100%. Во 2-й группе (в зонд вводился 0,9% раствор хлорида натрия) более 5 суток жили только 15 крыс, что составило 33,3% всех животных этой группы. В 3-й группе все животные погибли до 4-х суток, причём максимальное количество (35) – в первые трое суток эксперимента (таблица 1).

Потеря веса у экспериментальных животных (в процентном отношении от исходного веса) отмечена во всех 3 группах. Разница в потере веса между группами не

Таблица 2

Динамика потери веса у экспериментальных животных (по суткам)

	Потеря веса (в % от исходного)				
	1 сутки	2 сутки	3 сутки	4 сутки	5 сутки
Группа 1	-6,9%	-15,5%	-19,3%	-22,5	-25,5%
Группа 2	-7,8%	-14,1%	-17,6%	-21,5%	-28,5%
Группа 3	-9,4%	-16,7%	-22,9%	-25,6%	–

является показательной в течение первых 5 суток (таблица 2).

При изучении показателей липидного обмена в эксперименте после гастрэктомии получены следующие уровни в плазме крови общих липидов (ОЛ), общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), фосфолипидов (ФЛ), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), отражённые в таблицах 3 – 5.

При анализе полученных данных установлено, что во всех группах экспериментальных животных имеется тенденция к снижению общих липидов в сыворотке крови, причём это снижение менее выражено в группе 1 и более выражено в группе 3 на 4-е сутки ($p>0,05$).

Во всех группах животных отмечена тенденция к повышению общего холестерина и фосфолипидов, наиболее выраженная в группе 3 на 4-е сутки ($p>0,05$).

Уровень триглицеридов не имел чёткой

Таблица 3

Показатели липидного обмена у экспериментальных животных после гастрэктомии на 2-е сутки ($M\pm m$)

	Норма	Группа 1	Группа 2	Группа 3
ОЛ г/л	6,32±0,696	6,43±1,03	5,6±1,34	5,88±0,99
ОХ ммол/л	1,258±0,2416	2,21±1,13	1,95±0,60	2,71±0,66
ТГ ммол/л	0,56±0,024	0,34±0,16	0,54±0,12	0,46±0,46
ФЛ мкмол/л	0,886±0,0768	1,18±1,05	0,96±0,32	1,49±0,32
ЛПВП %	25,86±1,832	30,91±4,39	27±7,23	27,8±5,22
ЛПНП %	66,96±1,288	63,86±6,98	51,8±22,40	67,67±5,84
ЛПОНП %	7,16±1,568	6,0±5,36	21,17±17,06	4,5±1,05

Таблица 4

Показатели липидного обмена у экспериментальных животных после гастрэктомии на 3-е сутки ($M\pm m$)

	Норма	Группа 1	Группа 2	Группа 3
ОЛ г/л	6,32±0,696	7,1±0,44	5,6±1,34	6,8±0,46
ОХ ммол/л	1,258±0,2416	1,28±0,23	1,95±0,60	2,04±0,54
ТГ ммол/л	0,56±0,024	0,54±0,12	0,54±0,12	0,74±0,36
ФЛ мкмол/л	0,886±0,0768	0,77±0,29	0,96±0,32	0,86±0,08
ЛПВП %	25,86±1,832	30,13±4,93	27±7,23	27,9±2,26
ЛПНП %	66,96±1,288	61,87±6,91	51,8±22,40	60,40±4,07
ЛПОНП %	7,16±1,568	7,97±3,52	21,17±17,06	11,66±5,49

Таблица 5

Показатели липидного обмена у экспериментальных животных после гастрэктомии на 4-е сутки ($M\pm m$)

	Норма	Группа 1	Группа 2	Группа 3
ОЛ г/л	6,32±0,696	5,34±2,07	5,6±1,34	4,88±1,59
ОХ ммол/л	1,258±0,2416	2,0±0,35	1,95±0,60	2,80±0,97
ТГ ммол/л	0,56±0,024	0,63±0,34	0,54±0,12	0,77±0,32
ФЛ мкмол/л	0,886±0,0768	1,14±0,24	0,96±0,32	1,99±0,73
ЛПВП %	25,86±1,832	30,20±7,96	27±7,23	29,95±7,77
ЛПНП %	66,96±1,288	66,06±9,99	51,8±22,40	64,46±4,98
ЛПОНП %	7,16±1,568	3,74±2,05	21,17±17,06	5,64±4,40

тенденции к изменению, за исключением 3-й группы, у животных которой на 3-и и на 4-е сутки отмечено незначительное его повышение ($p > 0,05$).

У всех животных отмечено увеличение процента липопротеидов высокой плотности при снижении процента липопротеидов очень низкой плотности. Уровень липопротеидов низкой плотности колебался в незначительных пределах во всех группах животных ($p > 0,05$).

Статистически значимые изменения выявлены нами:

- в группе 2, в сравнении с группой 3, на 2-е сутки после операции по содержанию ФЛ ($p < 0,05$);
- в группе 1, в сравнении с группой 2, на 4-е сутки после операции по содержанию ЛПНП ($p < 0,05$);
- в группе 2, в сравнении с группой 3, на 4-е сутки после операции по содержанию ЛПНП, ФЛ, ОХ ($p < 0,05$).

На фоне изменений показателей липидного обмена сыворотки крови, нами выявлены гистологические изменения в печени экспериментальных животных, поскольку печень является основным органом метаболизма липидов (холестерина, фосфолипидов, триглицеридов и липопротеинов).

В группе 3 на 1-е сутки микроструктура печени крыс незначительно отличалась от таковой интактных животных: радиальное строение печёночных балок, гепатоциты обычных размеров, цитоплазма их гомотенная, ядра компактные, нерезко выраженное очаговое полнокровие центральных и междольковых вен и синусоидных капилляров (рис. 1, см. цв. вкладыш).

Прослеживалась умеренная дискомплексация печёночных балок центральных отделов долек, умеренное расширение и полнокровие междольковых капилляров, лёгкая зернистая дистрофия центрально расположенных гепатоцитов, эктазия и

полнокровие центральных, междольковых и поддольковых вен, изредка диапедезные кровоизлияния в междольковой соединительной ткани.

Совсем иная картина выявлена на 4-е сутки: наблюдалась выраженная жировая дистрофия печени (рис. 2, см. цв. вкладыш) с повышенным содержанием триглицеридов в печёночной ткани. Это характерно для повреждения ткани печени, при котором происходит нарушение синтеза апопротеинов с нарушением выведения ТГ с ЛПОНП и развитие, в последующем, жировой печени (более 5% массы печени составляет жир, преимущественно в виде триглицеридов). Жировая печень развивается при нарушении жирового обмена и обусловлена либо дефектом гепатоцитов, либо чрезмерным поступлением в них жиров, жирных кислот или углеводов, превышающим способность гепатоцитов к секретиции липидов [13].

По литературным данным выделяют, по крайней мере, 4 механизма накопления жира в печени [15].

1. Увеличение поступления жира или жирных кислот с пищей. Жир, поступивший с пищей, переносится с кровью, в основном, в виде хиломикронов (рис. 3). При липолизе в жировой ткани высвобождаются жирные кислоты. В адипоцитах они включаются в триглицериды, но некоторые жирные кислоты могут выделяться в кровоток и захватываться печенью. Остатки хиломикронов также попадают в печень.

2. Усиление синтеза или угнетение окисления жирных кислот в митохондриях. Оба эти процесса усиливают выработку триглицеридов.

3. Нарушение выведения триглицеридов из гепатоцитов. Выведение триглицеридов из гепатоцитов включает связывание с апопротеином, фосфолипидом и холестерином с образованием липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). Воз-

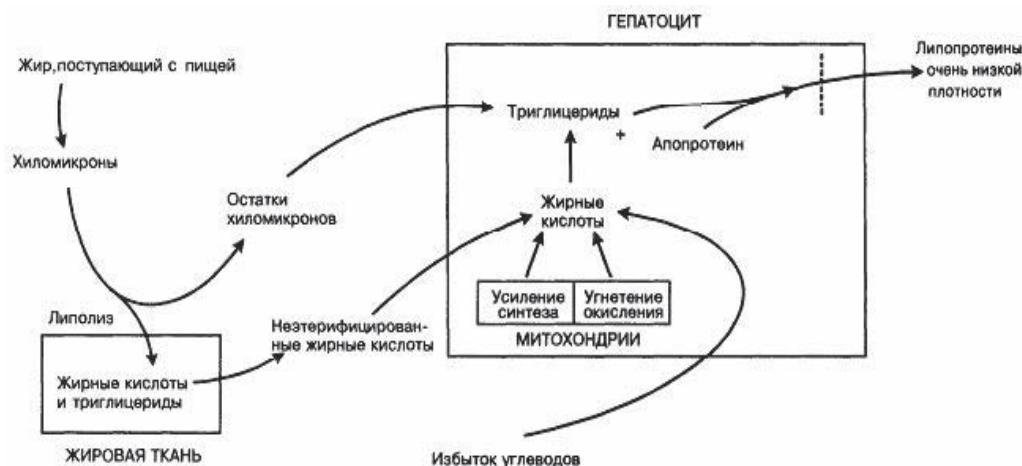


Рис. 3. Схема механизма развития жировой печени по Ш.Шерлоку, Дж.Дули, 1999 [15]

можно угнетение этих процессов.

4. Избыточное количество углеводов, поступающее в печень, может подвергаться преобразованию в жирные кислоты.

У животных в группе 2 выявлены изменения печени, аналогичные изменениям в печени животных группы 3, однако степень морфологических изменений выражена меньше, чем в группе 3.

У животных в группе 1, как на первые сутки после операции гастрэктомии, так и в последующем выявлены минимальные изменения в ткани печени, по сравнению с интактными животными (рис. 4, см. цв. вкладыш).

По нашему мнению, причина развития жировой дистрофии печени у животных 2 и 3 групп связана с угнетением окисления жирных кислот в митохондриях и нарушением выведения триглицеридов из гепатоцитов (механизмы 2 и 3).

Выявленные у экспериментальных животных изменения печени и показатели липидного обмена у оперированных животных указывают, что при отсутствии питания в раннем послеоперационном периоде после гастрэктомии печень, являясь метаболически активным органом, становится органом-мишенью, в котором происходят наиболее значительные изменения. Чёткого соответствия между биохимичес-

кими показателями и гистологическими изменениями в печени нами, как и другими исследователями, не получено [15].

Выводы

При отсутствии питания в раннем послеоперационном периоде после гастрэктомии в печени развивается жировая гепатоз в результате нарушения липидного обмена, что связано с ограничением поступления энтерально и парентерально питательных субстратов (сбалансированных по содержанию белков, жиров, углеводов). Результаты эксперимента указывают на необходимость ранней коррекции скрыто протекающих дегенеративных изменений в ткани печени в послеоперационном периоде после операций на желудке и двенадцатиперстной кишке, развитие которых не имеет явных биохимических маркеров. Эти изменения в печени можно минимизировать введением в послеоперационном периоде препарата «Энтерал».

ЛИТЕРАТУРА

1. Обухова, О. А. Омега-3 жирные кислоты: теоретические предпосылки и терапевтические возможности применения / О. А. Обухова // Вестн. интенс. терапии. – 2008. – № 2. – С. 53-56.
2. Цветков, Д. С. Омега-3 жирные кислоты. Новые

возможности коррекции метаболических нарушений / Д. С. Цветков // Вестн. интенсив. терапии. – 2008. – № 2. – С. 51-53.

3. The Clinical Guide to Oncology Nutrition / L. Elliot [et al.] // Randomized study of two different fat emulsions in total parenteral nutrition of malnourished surgical patients; effect of infectious morbidity and mortality / Ed. L. Elliot [et al.]. – 2nd ed. – 2003. – Vol. 18, N 3. – P. 159-166.

4. Kiyama, T. Trauma and wound healing: role of the route of nutrition support / T. Kiyama, D. T. Efron, U. Tantry // J. Surg. Invest. – 2001. – Vol. 2. – P. 483-489.

5. Дундаров, З. А. Основные проблемы проведения нутритивной поддержки у пациентов в критических состояниях / З. А. Дундаров, В. М. Майоров // Новости хирургии. – 2009. – Т. 17, № 2. – С. 119-129.

6. Почепень, О. Н. Алгоритм контроля гликемии и субстратной энергетической поддержки у больных в критическом состоянии при термической травме / О. Н. Почепень, Г. В. Илюкевич, А. П. Васильцева // Журн. интенсив. терапии. – 2007. – № 3. – С. 66-69.

7. Нутритивная недостаточность и методы её лечения у онкологических больных / А. В. Снеговой [и др.] // Практик. онкология. – 2009. – Т. 10, № 1 – С. 49-57.

8. Cai, C. Overexpression of caveolin-1 increases plasma membrane fluidity and reduces P-glycoprotein function in Hs578T/Dox / C. Cai, H. Zhu, J. Chen //

Biochem Biophys Res Commun. – 2004. – Vol. 320, N 3. – P. 868-874.

9. Гидранович, А. В. Липидный обмен и рак молочной железы Влияние витаминотерапии // Новости хирургии. – 2007. – Т. 15, № 1. – С. 93-102.

10. Пирс, Э. Гистохимия / Э. Пирс. – М.: Изд-во иностр. лит., 1962. – 962 с.

11. Меркулов, Г. А. Курс патогистологической техники / Г. А. Меркулов. – 5-е изд. – Л.: Медицина, 1969. – 424 с.

12. Камышников, В. С. Справочник по клинической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Т. 2. – Мн.: Беларусь, 2000. – 463 с.

13. Норберт, У. Т. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / У. Т. Норберт. – М., 1997. – С. 942.

14. Проблема нормы в токсикологии / И. М. Трахтенберг [и др.]. – Медицина, 1991. – 208 с.

15. Шерлок, Ш. Заболевания печени и жёлчных путей / Ш. Шерлок, Дж. Дули. – М.: ГЭОТАР, 1999. – 924 с.

Адрес для корреспонденции

220019, Республика Беларусь,
г. Минск, ул. Лобанка, д. 97, кв. 78,
тел. раб.: +375 29 340-49-44,
тел. моб.: +375 29 302-45-50,
e-mail: oleg-bogushevich@yandex.ru,
Богусhevич О.С.

Поступила 4.06.2010 г.