

РОЛЬ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ И МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В ДИАГНОСТИКЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ И МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХЕ

Липницкий Е.М.¹, Бекбауов С.А.¹, Котовский А.Е.¹, Истратов В.Г.²

УДК: 616.36-008.6-008.9:543.544/.51

¹ Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова

² Институт Хирургии им. А.В. Вишневского г. Москва

Резюме

Изложены современные данные о причинах развития тяжелой интоксикации, полиорганной недостаточности и энцефалопатии при механической желтухе и метод их экспресс-диагностики, что особенно важно для правильного выбора методов лечения в плане подготовки к оперативному лечению и ведению послеоперационного периода.

Ключевые слова: механическая желтуха, печеночная недостаточность, хроматография, масс-спектрометрия, интоксикация.

THE ROLE OF GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY AND MASS SPECTROMETRY IN THE DIAGNOSIS OF METABOLIC DISORDERS IN LIVER DISEASE AND OBSTRUCTIVE JAUNDICE

Lipnitskiy E.M., Bekbauov S.A., Kotovskiy A.E., Istratov V.G.

The article presents current data on the causes of severe intoxication, multiorgan failure and encephalopathy with jaundice and a method of rapid diagnosis, which is especially important for the correct selection of treatment methods in preparation for surgical treatment and management of postoperative.

Keywords: obstructive jaundice, liver failure, chromatography, mass spectrometry, intoxication.

Хирургия печени в настоящее время сопряжена не только с разработкой и совершенствованием вопросов диагностики и оперативной техники, но и в значительной степени с необходимостью коррекции послеоперационных нарушений гомеостаза организма, возникающих на фоне осложнений раннего послеоперационного периода, наиболее грозным из которых является острая печеночная недостаточность. Лабораторная и клиническая диагностика этого осложнения в значительной степени носит косвенный характер и далека от совершенства.

Оценка степени эндогенной интоксикации, связанной с развитием метаболических нарушений, накоплением в организме как промежуточных, так и подлежащих выведению конечных продуктов является сложной задачей, которая не получила до настоящего времени адекватного решения.

Согласно работе Белокуровой Ю.Н. с соавт. [1] под эндогенной интоксикацией следует понимать отравление организма как конечными продуктами метаболизма вследствие задержки их выведения и накопления в организме выше физиологических норм, так и промежуточными в связи с нарушениями метаболических процессов. Условно также к эндоинтоксикации относят отравление микробными токсинами при развитии гнойно-резорбтивных процессов.

Для определения концентрации продуктов эндогенной интоксикации в биологических жидкостях используется метод газовой хроматографии и масс-спектрометрии (ГХМС). Основоположником данного метода является русский ученый – ботаник, приват-доцент Варшавского университета Михаил Семенович Цвет, который в 1903–1906 гг. создал жидкостную адсорбционную хроматографию.

Стремление расширить возможности хроматографического метода привело английских биохимиков Мартина и Синжа в 1941 г. к созданию распределительного варианта хроматографии, получившего название жидкость-жидкостной хроматографии [15].

Джеймсом и Мартином десять лет спустя, т.е. в 1951–1952 гг. была создана методика газовой хроматографии [13, 17, 20, 23]. Начиная с 1955 г. промышленность приступает к выпуску специальных приборов – газовых хроматографов, предназначенных для разделения сложных многокомпонентных смесей в газожидкостном и газоадсорбционном вариантах [6, 18, 28].

Любую разновидность хроматографии можно определить как физико-химический метод разделения веществ, основанный на распределении разделяемых компонентов между двумя несмешивающимися фазами, одна из которых является неподвижной, а другая – подвижной.

Неподвижная фаза – твердый адсорбент или суспензия адсорбента в жидкости или жидкость, наносимая на поверхность твердого носителя. Подвижная фаза (газ или жидкость) протекает или продувается вдоль слоя неподвижной фазы.

Термин газовая хроматография объединяет все методические варианты хроматографии, в которых подвижная фаза газообразна. К газожидкостной хроматографии относятся все методические варианты газовой хроматографии, в которой в качестве неподвижной фазы используется слой жидкости, нанесенный на поверхность твердого носителя.

Внедрение методов ГХМС в микробиологию началось с классических работ под руководством А.П. Колесова в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова.

Методы хроматографического анализа усиленно внедрялись и в хирургическую клинику. Это прежде всего касалось оценки анаэробной инфекции мягких тканей и анаэробной инфекции отдельных органов – абсцессов легких, печени, поджелудочной железы [20, 27]. С помощью методов хроматографического анализа были определены группы соединений, метаболически связанные с патологическими процессами в отдельных органах и тканях. Выявлены наиболее значимые патологические соединения – «токсические метаболиты» – группы фенолов, крезолов, кетонов, индолов и ароматических жирных кислот. Установлено, что спектр метаболитов в определенной мере зависит от источника интоксикации и характера инфекции, а их содержание в периферической крови коррелирует с тяжестью клинического течения заболевания [3].

В работе Кахарова М.А. впервые в клинической практике ГХМС применена для диагностики эхинококкоза печени. Автор изучал содержание эхинококковых кист и периферическую венозную кровь у 48 больных. Маркером эхинококкоза печени являлись соединения группы фарнезола. У этой группы больных изменялось также содержание фенилкарбоновых кислот, что расценивалось в качестве показателя нарушения метаболизма ткани печени.

В работе Гасанова М.М. [2] методами ГХМС изучались оксифенилкарбоновые кислоты (ОФК), как показатели гипоксии ткани. Их уровень коррелировал с показателями доплеровской флуометрии, оценивающей микроциркуляцию в тканях, что дало возможность считать уровень ОФК одним из критериев оценки гипоксии тканей.

В работе Истратова В.Г. и соавт. [4] произведена оценка степени тяжести интоксикации и органических поражений в раннем послеоперационном периоде у больных после панкреатодуоденальной резекции и гемигепатэктомии с помощью методов ГХМС.

Обнаружено наличие токсичных метаболитов, определяющих септико-аллергический компонент – фенилпропионовую и фенилуксусную кислоты и группу изомеров высших жирных кислот, а также повышенное содержание полиаминов, ароматических аминов и ароматических жирных кислот -продуктов нарушенного метаболизма в поджелудочной железе и печени.

Патогенез печеночной недостаточности в широком понимании чрезвычайно сложен. В то же время большинство исследователей считают, что одним из пусковых расстройств является резкие нарушения баланса биологически активных веществ, оказывающих влияние на состояние системного и печеночного кровообращения [9, 10]. Эти изменения касаются функционального состояния симпатно-адреналовой систем, активности серотонина и гистамина, каликреин-кининовой системы.

Выраженный прессорный эффект катехоламинов способствует ранней тканевой гипоксии и явится одной из причин тяжелых обменных расстройств, приводящих к развитию полиорганной недостаточности [5, 10].

Грубые нарушения в системе микроциркуляции усугубляют гипоксию ткани печени, её ацидоз [1, 14], приводят к патологическому изменению клеточного обмена и появлению продуктов извращенного метаболизма. Тканевая гипоксия резко меняет характер обменных процессов на субклеточном и макромолекулярном уровне, что проявляется расстройствами в деятельности ферментных систем [17].

Наиболее клинически значимым является развитие при печеночной недостаточности глубоких изменений в сфере аминокислотного обмена. Формирующейся аминокислотный дисбаланс характеризуется повышением процентного содержания глюконеогенетических (аланина, глицина, серина и цистина) и ароматических (тирозина, фенилаланина, триптофана) аминокислот. Содержание аминокислот с разветвленной сетью (валина, лейцина и изолейцина) оказывается на этом фоне относительно сниженным. В подобной ситуации усиливается токсическое действие ароматических аминокислот на центральную нервную систему. Более того, промежуточным продуктам патологического метаболизма ароматических аминокислот (фенилэтаноламину и октапану) отводится ведущая роль в генезе энцефалопатии печеночного генеза. А производные ароматических аминокислот, являясь «ложными нейромедиаторами» способны усугублять гемодинамические расстройства путем дилатации артериол [18].

В работе А.И. Хазанова [9] приводятся данные о том, что токсическое воздействие на головной мозг оказывает такие соединения, как фенолы, аминокислоты (особенно тирозин, метионин), жирные кислоты с короткой цепью, длинноцепочечные жирные кислоты и изомеры, ди- и полиамины, ароматические амины.

В основе печеночной недостаточности лежит потеря способности печени нейтрализовывать токсические вещества, поступающие из кишечника.

Основную токсическую роль отводят интоксикации аммиаком, накоплению в организме ложных нейротрансмиттеров, синергической интоксикации жирными кислотами с короткой цепью, ди- и полиаминами, ароматическими аминами.

Preston S.T. [16] методами газовой хроматографии обнаружил повышение свободных фенолов в крови больных циррозом печени. В 1980 г. Harborn J. установил [12], что эти вещества токсичны для головного мозга. А.И. Хазанов [9], подчеркивая значение повышения концентрации фенолов в развитии комы у больных циррозом печени, считал, что фенолы больше, чем аммиак коррелируют с глубиной портально-печеночной комы.

По данным Fischer C.P.[11], Zieve L. [18] у больных с печеночной комой методом газовой хроматографии постоянно обнаруживается повышение жирных кислот с короткой цепью в 2–8 раз по сравнению с нормой. Жирные кислоты с короткой цепью образуются в основном в кишечнике под влиянием бактериальной флоры это – масляная (бутановая) кислота C₄, валериановая

(пентоновая) C_5 , капроновая (гексановая) кислота C_6 , каприловая (октановая) кислота C_8 . Особенно токсичны для головного мозга, по-видимому, первые две кислоты. Установлено, что жирные кислоты с короткой цепью воздействуют на синапсы нервных клеток, замедляя проведение нервных импульсов.

Таким образом, печеночная недостаточность, в том числе при механической желтухе, при полиморфности клинической картины и сложности ранней диагностики, сопровождается образованием и накоплением в крови комплекса определенных токсических метаболитов. Выявление их на ранних стадиях с помощью метода ГХМС может расширить возможности ранней диагностики данного осложнения и принятия мер для своевременной его коррекции.

Литература

1. Белокурова Ю.Н., Рыбачков В.В., Баранов Г.А. и др. Эндогенные интоксикации при острых хирургических заболеваниях. Ярославль: 2000. — 237 с.
2. Гасанов М.М. Дифференциальная тактика хирургического лечения гнойно-некротических заболеваний стопы: Автореферат дисс. ... канд. мед. наук. — М., 2000. — 23 с.
3. Жуков А.О. Дифференциальная диагностика сепсиса в хирургической клинике: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. — М. — 1998. — 33 с.
4. Истратов В.Г. Диагностика анаэробной хирургической инфекции с помощью методов газовой хроматографии и масс-спектрометрии: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. — М. — 1991. — 37 с.
5. Истратов В.Г., Казеннов В.В., Шмычкова С.И., Зайцев С.В. Оценка степени интоксикации органов поражения в раннем послеоперационном периоде у больных после ПДР и гемипепатомии с помощью методов газовой хроматографии и масс-спектрометрии // Альманах анестезиологии и реаниматологии: материалы 3-ей сессии МНОАР. — 2002. — № 2. — С. 27.
6. Киселев А.В., Яшин Я.И. Газоадсорбционная хроматография. — М.: Наука, 1967. — 336 с.
7. Серажим О.А., Истратов В.Г. Газохроматографические и гистологические особенности течения раневого процесса при анаэробной клостридиальной инфекции мягких тканей. Актуальные вопросы общей хирургии: сборник научных трудов к 60-летию кафедры общей хирургии РГМУ, — М., 1998. — С. 68–73.
8. Столяров Б.В., Савиков И.М., Виттенберг А.М. Руководство к практическим занятиям по газовой хроматографии. — Л.: Изд. «Ленинградского Университета», 1973. — 284 с.
9. Хазанов А.И. Функциональная диагностика болезней печени. М.: 1988. — 302 с.
10. Мисаутова А.А., Никитина Н.В., Морозова Н.А. // Метод одновременного изучения микробной флоры на всем протяжении ЖКТ. // Материалы конференции «Психолого-деонтологические аспекты и новые направления в гастроэнтерологии. Поиски. Решения, Смоленск-Москва, 1991. — С. 97–98.
11. Наумова О.В., Белова Е.Е., Хабазова Т.И. // Микрофлора кишечника и желчи у больных с воспалительными заболеваниями гепато-билиарной системы. // Аутофлора человека в норме и патологии и ее коррекция: Респ. сб. научн. тр., Горький, 1988. — С. 36–41.
12. Подымова С.Д. // Болезни печени. Руководство для врачей. / Изд. третье, М., Медицина, 1998, 704 с.
13. Тамм А.О. // Какому методу диагностики дисбиоза кишечника отдать предпочтение. // Материалы конференции «Психолого-деонтологические аспекты и новые направления гастроэнтерологии. Поиски. Решения». М-С, 1991. — С. 109–110.
14. Тамм А.О., Вия М.П. // Хроматография в биологии и медицине. // Москва, 1983. — С. 139–140.
15. Цыркунов В.М., Жмакин А.И. Поздняк СБ. и др. // Дисбактериоз кишечника у больных циррозом печени. // Тез. Симп. «Новые направления в гепатологии».
16. Санкт-Петербург, 21–27 июня 1996. {62. Чопей И.В., Дубинин А.В., Цодилов Г.В. // Роль летучих жирных кислот в экологии толстой кишки. // Современные аспекты теоретической и прикладной гастроэнтерологии: экзо- и эндоэкология и ЖКТ. Ужгород, 1989. — С. 162–163.
17. Ходосевич Е.Г. // Коррекция изменений микрофлоры толстой кишки у боль-

- ных с хроническими заболеваниями печени. // Рос. Ж. гастро-энтерологии, гепатологии, колопроктологии. Т. VII. № 2, 1997. — С. 78–80.
18. Benedict C.R., Rose J.A. Arterial norepinephrine changes in patients with septic shock // Circ. Shock. — 1992 — Vol. 38. — P. 165–172.
 19. Fischer C.P., Bode B.P., et al. Hepatic uptake of glutamine and other aminoacid during infection and inflammation // Shock. — 1995. — Vol. 3. — P. 315–322.
 20. Harborn J.B. — In: Encyclopedia of Plant Physiology // Eds Bell E.A., Charewood B.V. Neu Series, Berlin, Springer. — 1980. — Vol. 8. — P. 329.
 21. James A.T., Martin A.J.P. Gas-liquid chromatography. Principles, Techniques and Application // Biochem J. — 1956. — Vol. 63. — P. 114.
 22. Kellum J.A., Bellomo R., Kramer D.J., Pinsky M.R. Hepatic anion flux during acute endotoxemia // J. Appl. Physiol. — 1995. — Vol. 78. — P. 2212–2217.
 23. Martin A.J.P., Syngel R.Z.M. Identification fatty acids by gas liquid chromatography // Biochem J. — 1941. — Vol. 35. — P. 13–58.
 24. Preston S.T. Guide to the Analysis of Phenols by Gas Chromatography. I.L. Evanston; Polysciense, 1966.
 25. Takala J., Ruokonen E. Oxygen transport in septic shock. Schweiz // Med. Wochenschr. — 1992. — Vol. 122. — P. 770–776.
 26. Zieve L., Shekleton M., Zuttogt C. et al. Ammonia, ornithine and mercaptan depress degeneration of normal rat liver after hepatectomy // J. Hepatology. — 1985. — Vol. 5. N 1. — P. 28–31.
 26. Bauer T.M., Schwacha H., Steinbrückner B., Brinkmann F.E. // Diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in patients with cirrhosis of the liver: poor performance of the glucose breath hydrogen test. // J. of Hepatology 33 (3), 2000, — P. 382–386.
 27. Cummings J.H. // SCFA production, absorption and metabolism. SCFA production. // Short Chain Fatty Acids. Congress Short Report Falk Symposium, corp. by Schepach W., Strasbourg, 1993, P. 6–7.
 28. Fukushima K., Shindo K., Yamazaki R. et al. // Jejunal bacterial flora and deconjugation of bile acids. // J. Germfree, Vol. 5, N 1.
 29. Hentges D.J. // Human intestinal microflora in health and disease. // New York: Academic Press, 1983.
 30. Kordecki H., Niedzielin K. // Does modification of bacterial microflora constitute the progress in the therapy of functional and inflammatory bowel diseases. // Abs. Word Congresses of Gastroenterology September 6–11, 1998, Vienna, Austria. Digestion 1998: 59(suppl. 3), — P. 144.
 31. Brieger L. // Ueber die flüchtigen Bestandtheile der menschlichen Excremente. // J. PracChem 1878, Vol. 17, — P. 124–38.

Контактная информация

Бекбауов С.А.
 Тел.: +7 (925) 059-19-95
 e-mail: SAKABE@mail.ru