

СОСТОЯНИЕ ЛИПИДТРАНСПОРТНОЙ СИСТЕМЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ У КРОЛИКОВ

КОСИНЕЦ А.Н., ОСОЧУК С.С., КОНЕВАЛОВА Н.Ю.

*Республиканский научно-практический центр «Инфекция в хирургии»,
Витебский государственный медицинский университет, кафедра биохимии,
центральная научно-исследовательская лаборатория*

Резюме. В работе представлены сведения о динамике изменений показателей липидтранспортной системы кроликов в первые сутки экспериментального перитонита, вызванного введением E.Coli и B.Fragilis. Результаты исследований показали, что введение E.Coli вызывало активацию липолитического преобразования ЛПОНП в ЛПВП. Введение B.Fragilis не сопровождалось такими изменениями.

Ключевые слова: перитонит, липидный спектр.

Abstract. The information about lipid transport system data dynamics in rabbits with experimental peritonitis is presented. E.Coli or B.Fragilis were intraperitoneally injected. E.Coli activated the lipolytic transformation of the very low-density lipoproteins to the high-density lipoproteins. B.Fragilis did not cause such changes.

Одним из наиболее грозных осложнений в экстренной абдоминальной хирургии, чаще других ведущих к летальному исходу, является гнойный перитонит. Летальность от гнойного перитонита составляет 22,4 – 83,7% [1,2,7,12]. Гнойно-воспалительные осложнения ухудшают результаты оперативного лечения, удлиняют сроки пребывания больных в стационаре и увеличивают сроки временной нетрудоспособности [6,7]. В то же время, традиционные хирургические методы лечения не в состоянии полностью решить данную проблему. В литературе все больше внимания уделяется этиологии и патогенезу перитонита и комплексному подходу к его лечению, воздействию на различные патогенетические звенья процесса. Синтез глюкокортикоидов, продукция простаноидов (простагландинов, тромбоксанов и простациклинов) тесно связаны с воспалительным про-

цессом. Однако имеющиеся в литературе сведения о вовлечении липидного обмена в патогенез перитонита недостаточны.

В настоящей работе были изучены изменения липидтранспортной системы у кроликов при экспериментальном перитоните.

Методы

Эксперименты проводились на 25 кроликах породы шиншилла. Животные содержались в виварии в соответствии с «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических помещений (вивариев)», утвержденными МЗ СССР 06.07.73. и приказом МЗ СССР N 163 от 10.03.66. Для моделирования перитонита использовали микробную смесь, состоящую из равных количеств аэробов (E.Coli штамм 011 K58 НII С 130-153), и анаэробов (B.Fragilis штамм 373), полученных из института стандартизации медицинских биологических препаратов имени Л.А. Тарасевича.

Адрес для корреспонденции: 210023, г.Витебск, пр.Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, центральная научно-исследовательская лаборатория - Осочук С.С.

Микробную смесь вводили в брюшную полость животных (10 кроликов) стерильным шприцем с иглой диаметром 2,5мм, которая была затуплена, чтобы предупредить перфорацию полых органов. Шерсть в месте введения (средняя треть правой половины брюшной стенки) выбривали, кожу обрабатывали йодом, после чего вводили микробную смесь на физиологическом растворе из расчета 20 млрд. микробных тел на 1 кг массы кролика. Контролем служили 17 здоровых кроликов. Через 6 часов после введения микробной смеси у всех животных развивались симптомы перитонита: вялость, заторможенность, отказ от пищи, учащенное дыхание, вздутие живота. В крови определялся лейкоцитоз. Морфологическое исследование брюшины подтверждало наличие перитонита. Разработанная модель по клиническому течению приближалась к перитониту человека.

Через 3, 6 и 24 часа после введения мик-

робной смеси кровь забирали в пробирки и для образования сгустка выдерживали в холодильнике 10 минут при 4°C. Форменные элементы удаляли центрифугированием в течение 15 минут при 1500 оборотах. Полученную сыворотку хранили в холодильнике при -20°C. Содержание общего холестерина сыворотки, холестерина липопротеинов высокой плотности, триацилглицеридов определяли на фотометре Cormau (Польша) с использованием реактивов этой же фирмы. Для выделения ЛПВП применяли метод химической преципитации апо-В-содержащих липопротеинов под действием гепарина в присутствии ионов марганца [9]. Содержание белков в ЛПВП и апо-В-содержащих липопротеинах определяли спектрофотометрически. Индекс атерогенности рассчитывали по формуле, предложенной А.Н.Климовым [3].

Результаты обрабатывались статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Таблица 1

Изменения липидного спектра крови

	Общий холестерин, мМ/л	Холестерин липопротеинов высокой плотности, мМ/л	Холестерин липопротеинов очень низкой плотности, мМ/л	Холестерин липопротеинов низкой плотности, мМ/л	Триглицериды, г/л	Индекс атерогенности
Интактные	4,58±0,07 n=17	0,67±0,05 n=17	0,67±0,05 n=17	3,41±0,11 n=17	1,81±0,23 n=17	7,18±0,85 n=17
E.Coli 3 часа	3,83±0,14 n=5**	0,93±0,03 n=5**	0,38±0,06 n=5**	2,51±0,13 n=5**	0,84±0,13 n=5**	3,14±0,29 n=5**
E.Coli 6 часов	3,58±0,13 n=5**	0,93±0,05 n=5*	0,56±0,15 n=5	2,09±0,03 n=5** (**)	1,21±0,33 n=5	2,88±0,21 n=5**
E.Coli 24 часа	3,92±0,24 n=5**	0,47±0,07 n=5(**)	0,78±0,07 n=5	2,66±0,26 n=5**	1,7±0,8 n=5	7,89±1,09 n=5
B. Fragilis 3 часа	4,13±0,17 n=5**	0,83±0,13 n=5	0,63±0,07 n=5E**	2,65±0,13 n=5**	1,38±0,17 n=5E**	4,43±0,12 n=5
B. Fragilis 6 часов	3,2±0,31 n=5**(**)	0,64±0,033 n=5E**	0,46±0,1 n=5	2,09±0,39 n=5**	1,02±0,22 n=5	4,11±0,63 n=5*
B. Fragilis 24 часа	4,19±0,12 n=5**(**)	0,76±0,1 n=5E*	0,67±0,03 n=5(*)	2,74±0,19 n=5**	1,46±0,08 n=5(*)	4,95±0,9 n=5E*

Примечание: ** - достоверно в сравнении с интактными животными; E* - тенденция к достоверным изменениям в сравнении с *E.Coli*; E** - достоверно в сравнении с *E.Coli*; (**) - достоверно в сравнении с предыдущим сроком; * - тенденция к достоверным изменениям в сравнении с интактными животными; (*) - тенденция к достоверным изменениям в сравнении с предыдущим сроком.

Результаты и обсуждение

Наиболее выраженные изменения в липидном профиле наблюдались у животных, инфицированных *E. Coli*. Уровень общего холестерина крови достоверно снижался во все сроки исследования (табл. 1) ($p < 0,0001$; $p < 0,0001$; $p = 0,0016$ соответственно). Количество холестерина ЛПВП через 3 часа после инъекции *E. Coli* увеличивалось ($p = 0,034$), через 6 часов отмечалась лишь тенденция к увеличению ($p = 0,061$), а через 24 часа снижалась по отношению к предыдущему сроку исследования ($p = 0,002$), не отличаясь от интактных животных. Концентрации холестерина ЛПОНП и триацилглицеридов снижались через 3 часа после инъекции *E. Coli* ($p = 0,02$ и $0,04$ соответственно). Содержание холестерина ЛПНП снижалось во все сроки исследования ($p = 0,0009$; $< 0,0001$; $0,0096$ соответственно). Индекс атерогенности снижался через 3 и 6 часов после инициации перитонита ($p = 0,025$; $0,032$ соответственно). Описанная картина может быть обусловлена активацией липолитического преобразования ЛПОНП в ЛПВП₃. Исследование белково-липидного спектра ЛПНП подтверждает такую точку зрения тенденцией к снижению концентрации липидов (табл. 2) ($p = 0,09$). Уменьшение концентрации холестерина ЛПНП может быть обусловлено уменьшением активности эфиры холестерина переносящего белка (ЭХПБ), активность которого способ-

на снижаться под влиянием бактериальных липополисахаридов [10] или более интенсивным захватом ЛПНП.

Таким образом, через 3 часа после инъекции *E. Coli* усиливается липолитическое преобразование ЛПОНП в ЛПВП, способные связывать бактериальные липополисахариды [11], являющиеся одним из факторов, инициирующих воспалительный процесс, и уменьшать накопление первичных продуктов перекисного окисления липидов [4].

Изменения липидного профиля, происшедшие через 6 часов, вероятно, обусловлены снижением активности липолитического образования ЛПВП. Это обусловило тенденцию к снижению количества липидов в их составе (табл. 2) ($p = 0,064$) и достоверное увеличение количества липидов и снижение коэффициента белок/липиды в составе ЛПНП в сравнении с предыдущим сроком исследования ($p < 0,0001$; $0,001$ соответственно). Сохранившаяся тенденция к увеличению концентрации холестерина ЛПВП, вероятно, обусловлена более высокой активностью лецитинхолестеринацилтрансферазы (ЛХАТ) и сниженной активностью ЭХПБ.

Изменения, развившиеся через 24 часа после инициации экспериментального перитонита, вероятно, обусловлены еще большим снижением липолитической активности плазмы, приведшей к восстановлению белково-липидного

Таблица 2

Изменения белково-липидного состава липопротеинов

	Липопротеины высокой плотности			Липопротеины низкой плотности		
	Белки, г/л	Липиды, г/л	Белки/ липиды	Белки, г/л	Липиды, г/л	Белки/ липиды
Интактные	94,33±4,64 n=17	3,67±0,14 n=17	30,22±2,19 n=17	2,38±0,34 n=17	3,32±0,37 n=17	2,13±0,34 n=17
<i>E. Coli</i> 3 часа	90,77±3,6 n=5	3,44±0,16 n=5	26,38±0,45 n=5	2,26±0,5 n=5	2,06±0,07 n=5*	1,12±0,15 n=5
<i>E. Coli</i> 6 часов	84,65±3,75 n=5	3,06±0,13 n=5*	27,99±2,34 n=5	1,83±0,2 n=5	3,35±0,09 n=5(**)	0,54±0,04 n=5(**)(**)
<i>E. Coli</i> 24 часа	86,65±1,57 n=5	2,66±0,28 n=5**	30,08±1,78 n=5	2,8±0,74 n=5	4,08±0,33 n=5	1,88±0,19 n=5(**)
<i>B. Fragilis</i> 3 часа	81,5±13,65 n=5	3,73±0,08 n=5	24,5±1,61 n=5	2,61±0,65 n=5	2,43±0,86 n=5	1,93±0,66 n=5
<i>B. Fragilis</i> 6 часов	91,27±8,52 n=5	3,2±0,15 n=5(**)	24,32±5,0 n=5	1,89±0,47 n=5	1,99±0,55 n=5E*	1,69±0,23 n=5E**
<i>B. Fragilis</i> 24 часа	102,68±11,9 n=5	3,65±0,07 n=5E**(**)	29,83±2,41 n=5	2,38±0,35 n=5	2,54±0,36 n=5E**	1,74±0,21 n=5

отношения ЛПНП и, возможно, увеличением активности ЭХПБ, обусловившей достоверное, в сравнении с предыдущим сроком исследования, снижение количества холестерина ЛПВП ($p=0,0025$). Сниженная концентрация холестерина ЛПНП может быть обусловлена сохраняющейся высокой активностью рецепторного поглощения этого класса липопротеинов.

Введение *B. Fragilis* вызвало менее выраженные сдвиги в профиле липидтранспортной системы. Как и при введении *E.Coli*, отмечалось снижение количества общего холестерина во все сроки исследования ($p=0,01$; $<0,0001$ и $0,015$ через 3, 6 и 24 часа соответственно), которое было обусловлено синхронным снижением концентрации холестерина ЛПНП ($p=0,002$; $0,0005$; $0,01$ соответственно). Кроме того, снижение концентрации холестерина ЛПНП обусловило тенденцию к снижению индекса атерогенности через 6 часов в сравнении с интактными и животными и через 24 часа в сравнении и группой *E.Coli* ($p=0,08$ и $0,07$ соответственно). Концентрация холестерина ЛПВП не изменялась в сравнении с интактными животными, однако в сравнении с *E.Coli* была достоверно ниже через 6 часов ($p=0,002$) и имела тенденцию к увеличению через 24 часа ($p=0,052$) после инъекции возбудителя. Концентрации холестерина ЛПОНП и триацилглицеридов были выше в сравнении с группой, которой вводили *E.Coli* ($p=0,039$) через 3 часа после инициации воспалительного процесса (таблица 1). Полученная картина свидетельствует о менее выраженной активности липолитических преобразований липопротеинов в сравнении с группой, которой вводили *E.Coli*, что может быть связано со способностью *E.Coli* продуцировать липолитические ферменты, способствующие генерализации процесса [5].

Выводы

1. Изменения липидтранспортной системы в различные сроки после инициации перитонита внутрибрюшинным введением *E.Coli* носит волнообразный характер. В ранние сроки происходит активация липолитического образования ЛПВП, в поздние сроки липолитическая активность вероятно снижается.

2. При экспериментальном перитоните, вызванном введением *B.Fragilis*, изменения липидтранспортной системы менее выражены, чем при введении *E.Coli*, что, возможно, обусловлено способностью *E.Coli* продуцировать липолитические ферменты.

Литература

1. Гостищев В.К., Сажин В.П., Авдовенко А.Л. Перитонит – М.: Медицина, 1992. – 224с.
2. Григорьев Е.Г., Шумов А.В., Пак В.Е. и др. Программированные санации брюшной полости при послеоперационном распространенном гнойном перитоните // Хирургия. – 1991. - №5. –С.121–125.
3. Климов А.Н. //Превентивная кардиология /Под ред. Г.И.Косицкого. –М.:1977. – С.260–321.
4. Климов А.Н., Гуревич В.С., Никифорова А.А. Антиоксидантная активность липопротеинов высокой плотности in vivo. //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1992. - №7. - С. 40-42.
5. Колесов А.П., Столбовой А.В., Кочеровец В.И. Анаэробные инфекции в хирургии. Л.: Медицина, 1989. –160 с.
6. Луцевич Э.В., Горячкин А.А., Тугаринов А.И., Малюков А.Е. Неклостридиальная анаэробная инфекция и перитонит при острых заболеваниях органов брюшной полости // Профилактика и лечение гнойно-воспалительных осложнений в экстренной абдоминальной хирургии: Тез.докл.Пленума проблемной комиссии «Инфекция в хирургии» и республиканского семинара. –Витебск, 1992. – С.33-34.
7. Милонов О.Б.Тоскин К.Д. Жебровский В.С. Послеоперационные осложнения и опасности в абдоминальной хирургии. – М.: Медицина, 1990.
8. Петухов И.А. Послеоперационный перитонит. – Минск : Беларусь, 1980.
9. Современные методы исследования липопротеинов высокой плотности (методические рекомендации) /Под ред.Н.В.Перовой. –М.:–1983.– С.3-7, 21-23.
10. Hardardottir-I; Moser-AH; Fuller-J; et al. Endotoxin and cytokines decrease serum levels and extra hepatic protein and mRNA levels of cholesteryl ester transfer protein in syrian hamsters.// J-Clin-Invest. 1996 Jun 1; 97(11): 2585-92.
11. Vosbeck K., Tobias P., Mueller H.,et al. Priming of polymorphonuclear granulocytes by lipopolysaccharides and its complexes with lipopolysaccharide binding protein and high density lipoprotein. //J.Leukoc.Biol.1990 Feb., 47(2), P.97-104.
12. Wittman D.H. Intra-abdominal infections: pathophysiology and treatment. – New York, 1991. 11.

Поступила 15.01.2003 г.

Принята в печать 10.04.2003 г.