

ПАТОГЕНЕЗ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ГИПОТЕНЗИИ (экспериментальное исследование)

Т. П. Храмых, В. Т. Долгих

ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия

Pathogenesis of Intoxication in Hemorrhagic Hypotension (Experimental Study)

T. P. Khramykh, V. T. Dolgikh

Omsk State Medical Academy

Цель исследования. Выявить токсичность непарных органов брюшной полости и крови воротной вены, что позволит оценить реальный вклад каждого органа в развитии эндотоксинемии на фоне геморрагической гипотензии. **Материал и методы.** Эксперименты были выполнены на 50 белых беспородных крысах-самцах, у 40 животных моделировали геморрагическую гипотензию. Через 15, 30, 60 мин и 2 часа забирали печень, селезенку и кишечник, готовили из них гомогенаты, токсичность которых исследовали методом Н. И. Габриэлян и соавт. Содержание олигопептидов (ОП) определяли в плазме крови воротной вены по Лоури, а веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) — отдельно в плазме и эритроцитах по М. Я. Малаховой. Фагоцитарную активность лейкоцитов, соотношение про- и антиоксидантной систем исследовали в цельной крови и плазме методом хемилюминесценции. Достоверность различий средних величин определяли с использованием параметрического критерия Стьюдента и непараметрического критерия Уилкоксона. **Результаты.** Установлено, что максимум прироста ВНСММ наблюдался в гомогенатах кишечника, особенно толстого отдела. Однако в более поздние сроки выявлялось снижение содержания ВНСММ, что указывало на быструю адаптацию кишечника к гипоперфузии. Прогрессивный прирост ВНСММ и ОП в крови воротной вены обусловлен изменением проницаемости кишечной стенки и бактериальной транслокацией с последующим повреждением печени на фоне существенной активации прооксидантной системы и одновременного снижения антиоксидантной активности, а также фагоцитарной активности лейкоцитов. В селезенке и печени наблюдалась компенсаторная повышенная биотрансформация и выведение эндотоксинов из организма. В поздние сроки данные органы сами выполняют роль источника ВНСММ. При этом отсутствие прироста и дальнейшее уменьшение показателя фагоцитарной активности лейкоцитов свидетельствует об угнетающем действии на него токсинов в крови воротной вены. **Заключение.** Оценка динамики показателей интоксикации, интенсивности процессов свободнорадикального окисления, фагоцитарной активности лейкоцитов, а также взаимосвязь данных показателей имеет практическое значение для определения дальнейшего прогноза при геморрагической гипотензии. **Ключевые слова:** геморрагическая гипотензия, ВНСММ, олигопептиды, свободнорадикальное окисление, воротная вена.

Objective: to reveal the toxicity of unpaired abdominal organs and portal venous blood, which would appraise the actual contribution of each organ to the development of endotoxemia in the presence of hemorrhagic hypotension. **Materials and methods:** experiments were carried out on 50 outbred albino male rats and hemorrhagic hypotension was simulated in 40 animals. Following 15, 30, and 60 min and 2 hours, the liver, spleen, and intestine were taken and used to prepare homogenates whose toxicity was studied by the procedure developed by N. I. Gabrielyan et al. The levels of oligopeptides (OP) were measured in the portal venous blood by the Lowry method and those of low and median molecular-weight substances (LMMWS) were separately determined in the whole blood and plasma by chemiluminescence. The significance of mean value differences was determined using the paired Student test and the unpaired Wilcoxon test. **Results.** The maximum LMMWS increment was established to be in the homogenates of the bowel, its large portion in particular. However, a decrease in LMMWS levels was revealed in later periods, which was indicative of a rapid intestinal adaptation to hypoperfusion. The progressive rise in the portal venous blood concentrations of LMMWS and OP was caused by altered intestinal wall permeability and bacterial translocation, followed by hepatic damage with the substantial activation of the prooxidative system and with the concurrent decrease in the antioxidative activity, as well as in the phagocytic activity of leukocytes. The spleen and liver showed the increased compensatory biotransformation of endotoxins and their elimination from the body. In the late periods, these organs acted as a source of LMMWS. At the same time, no rise and a further reduction in leukocytic phagocytic activity suggest that the latter is inhibited by portal venous blood toxins. **Conclusion:** Evaluation of the time course of changes in the values of intoxication, the rate of free radical oxidation processes, the phagocytic activity of leukocytes, as well as the relationship of these parameters are of practical value for the determination of further prognosis in hemorrhagic hypotension. **Key words:** hemorrhagic hypotension, low and median molecular-weight substances, oligopeptides, free radical oxidation, portal vein.

Острая массивная кровопотеря остается важнейшей проблемой современной медицины [1] и неизбежно

сопровождает оперативные вмешательства, травму и ряд других состояний. Ключевым механизмом адапта-

Таблица 1

**Содержание ВНСММ в гомогенатах внутренних органов
в различные сроки геморрагической гипотензии ($M \pm m$)**

Сроки эксперимента	Значение показателя в гомогенатах внутренних органов							
	тонкая кишка		толстая кишка		селезенка		печень	
	усл. ед.	%	усл. ед.	%	усл. ед.	%	усл. ед.	%
Контроль	0,39±0,02	100	0,24±0,03	100	0,47±0,02	100	0,61±0,04	100
Сроки геморрагической гипотензии								
15 мин	0,50±0,02***	127	0,37±0,01***	157	0,41±0,04***	86	0,58±0,05*	96
30 мин	0,80±0,02***	203	0,61±0,01***	259	0,34±0,02***	71	0,54±0,04**	89
1 ч	0,49±0,04***	126	0,42±0,02***	176	0,50±0,06*	105	0,68±0,03***	112
2 ч	0,48±0,02***	124	0,35±0,02***	149	0,53±0,02**	113	0,72±0,02***	119

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: *, **, *** — достоверность различий по отношению к контролю ($p < 0,001$; $< 0,01$; $< 0,05$).

ции на ранних этапах артериальной гипотензии (снижение артериального давления до 40 мм рт. ст.) является поддержание перфузионного давления за счет увеличения общего периферического сосудистого сопротивления вследствие повышения тонуса емкостных сосудов, обеспечивающих дополнительный приток крови в сосудистое русло, и резистивных сосудов, вызывающих централизацию кровообращения за счет ограничения перфузии в ряде органов и тканей [1]. В период централизации кровообращения наблюдаются региональные нарушения кровотока в органах и тканях поддиафрагмального пространства [2]. При этом одним из основных механизмов ишемического повреждения органов многими авторами рассматривается неконтролируемая активация свободнорадикальных процессов, приводящая к повреждению практически всех систем жизнеобеспечения клеток и, в конечном итоге, к их гибели [2, 3]. Повреждение цитогематических барьеров внутренних органов брюшной полости в данном периоде инициирует соответствующие воспалительные реакции вследствие гиперпродукции цитокинов, высокотоксичных кислородных радикалов, продуктов циклического окисления арахидоновой кислоты, активации вторичных мессенджеров и ускоренной миграции лейкоцитов в клетки [1] и, как следствие, приводит к прорыву токсинов за пределы внутренних органов и переносу токсичных продуктов к «мишеням» через лимфу и кровь воротной вены с последующим депонированием, нейтрализацией и выделением токсинов [4, 5].

Цель работы — выявить токсичность непарных органов брюшной полости и крови воротной вены, что позволит оценить реальный вклад каждого органа в развитии интоксикации на фоне геморрагической гипотензии.

Материалы и методы

Эксперименты были выполнены на 50 белых беспородных крысах-самцах массой 280–300 г. У 40 экспериментальных животных моделировали геморрагическую гипотензию (Патент РФ на полезную модель № 49442 от 27 ноября 2005 г.) и в разные сроки (15 мин, 30 мин, 1 час и 2 часа) этого периода забирали внутренние органы: печень, селезенку, тонкий и толстый отделы кишечника и готовили из них гомогенаты. Ток-

сичность гомогенатов исследовали методом Н. И. Габриэлян и соавт. [6]. Для определения токсичности крови в эти же сроки забирали кровь из воротной вены. Концентрацию олигопептидов (ОП) определяли в плазме крови методом Лоури [7]. Содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) определяли отдельно в плазме и на эритроцитах по М. Я. Малаховой [8]. Фагоцитарную активность лейкоцитов и соотношение про- и антиоксидантов исследовали в цельной крови и плазме методом хемилюминесценции [9].

Достоверность различий средних величин определяли с использованием параметрического критерия Стьюдента (t -критерий) и непараметрического критерия Уилкоксона (u -критерий).

Результаты и обсуждение

Уже на 15-й мин геморрагической гипотензии выявлялось существенное увеличение содержания ВНСММ в гомогенатах тонкого и толстого отделов кишечника на 27 и 57%, соответственно, по сравнению с контрольными показателями. В этот же период регистрировалось уменьшение концентрации ВНСММ на 14% относительно контрольного уровня в гомогенате селезенки и значительный прирост содержания ВНСММ в плазме крови воротной вены — на 47% от контрольного уровня. Напротив, в эритроцитарной массе отмечалось понижение концентрации ВНСММ на 61% и увеличение содержания ОП на 28% относительно контрольных значений. В цельной крови отмечалось существенное повышение как спонтанной (в 6,6 раза), так и люминолзависимой хемилюминесценции (в 2,6 раза) по сравнению с контролем. Значения вспышки увеличились на 23%, а светосуммы, напротив, уменьшились на 37% относительно контрольных значений.

На 30-й мин геморрагической гипотензии наблюдался значительный прирост содержания ВНСММ в тканях тонкого и толстого отделов кишечника: в 2 и 2,5 раза по сравнению с контрольным уровнем. В ткани печени и селезенки отчетливо выявлялась тенденция к понижению содержания ВНСММ на 11 и 29%, соответственно. В эти же сроки прирост ВНСММ в плазме воротной вены составлял 39% и понижение концентрации данных веществ в эритроцитарной массе на 19% относительно контрольных показателей. В плазме концентрация ОП превышала контрольные значения на 39%.

Таблица 2

**Динамика ВНСММ и олигопептидов в крови воротной вены крыс
в различные сроки геморрагической гипотензии ($M \pm m$)**

Этап эксперимента	ВНСММ (усл. ед.)				Олигопептиды, мг/мл	
	плазма	%	эр. масса	%	плазма	%
Контроль	12,03±1,45	100	20,43±0,81	100	0,33±0,02	100
Сроки геморрагической гипотензии						
15 мин	17,64±0,11**	147	7,90±0,38***	39	0,42±0,03*	128
30 мин	16,72±0,73**	139	16,60±0,31**	81	0,46±0,03**	139
1 ч	38,68±0,04***	321	23,24±0,25	114	0,49±0,04**	151
2 ч	39,21±0,81***	326	24,31±1,09*	119	0,57±0,03***	170

Таблица 3

**Показатели хемилюминесценции (ХЛ) цельной крови и плазмы воротной вены крыс
в различные сроки геморрагической гипотензии ($M \pm m$)**

Этап эксперимента	ХЛ цельной крови, усл. ед. × мин			ХЛ плазмы	
	светосумма (до инкуб.)	светосумма (после инкуб.)	спонтанная светимость, усл. ед.	вспышка, усл. ед.	светосумма, усл. ед. × мин
Контроль	1,26±0,06	2,18±0,09	0,231±0,02	0,521±0,02	1,24±0,04
Сроки геморрагической гипотензии					
15 мин	8,42±1,26***	5,72±0,74***	0,17±0,02	0,64±0,01**	0,78±0,08***
30 мин	1,14±0,42	1,77±0,21*	0,38±0,03***	0,60±0,03*	0,80±0,16**
60 мин	2,92±0,18***	1,95±0,06*	0,20±0,02	0,43±0,04	0,95±0,03***
120 мин	0,75±0,14**	1,32±0,21***	0,19±0,06	0,29±0,06**	0,75±0,19*

На фоне выраженной интоксикации регистрировалось уменьшение люминолзависимой хемилюминесценции цельной крови на 19% на фоне значительного снижения спонтанной светимости до контрольного уровня. Показатели вспышки, по-прежнему, превышали контрольные значения на 16%, светосумма плазмы — сниженной на 36%. Примечательно, что в этот период регистрировалось увеличение спонтанной светимости плазмы на 64%.

60-минутная геморрагическая гипотензия обуславливала повышение содержания ВНСММ во всех исследуемых органах: в тонкой кишке — на 26%, в толстой кишке — на 76%, в печени — на 12% по отношению к контрольным значениям. В эти же сроки наблюдалось трехкратное увеличение содержания ВНСММ в плазме крови воротной вены, а на эритроцитах не отмечалось достоверного изменения концентрации ВНСММ. В плазме крови содержание ОП оставалось достаточно высоким относительно контрольного уровня и составляло 51%. Через час показатели спонтанной светимости цельной крови превышали контрольные значения на 130%, в то время как люминолзависимая хемилюминесценция заметно снизилась на 11%. В плазме светосумма оставалась на низком уровне и составляла 77% от контроля.

После 2-х часов геморрагической гипотензии отчетливо выявлялось повышение содержания ВНСММ во всех гомогенатах исследуемых органов: в тонкой кишке — на 24%, в толстой — на 49%, в селезенке — на 13%, в печени — на 19% по сравнению с контрольными данными. Характерно, что в этот же срок геморрагической гипотензии сохранялась тенденция к повышению содержания ВНСММ как в плазме, так и в эритроцитарной массе крови воротной вены: на 226 и на 19% по сравнению с контролем. В плазме крови значения ОП

прогрессивно нарастали и превышали контрольные показатели на 70%. Для данного периода было характерно уменьшение показателей как спонтанной, так и люминолзависимой хемилюминесценции — на 40 и 39%, соответственно. В плазме значения светосуммы и вспышки оставались на низком уровне и составляли 60 и 57% от контрольных показателей.

Заключение

В ходе формирования и последующего развития интоксикации нарастание продукции эндогенных токсичных субстанций приводит к быстрому накоплению последних в тканях. Этот процесс преобладает над биотрансформацией и выведением данных веществ, что усиливает продукцию эндогенных токсичных субстанций, и эндотоксинемия переходит в стадию аутоагрессии [10]. Максимум прироста ВНСММ при моделировании геморрагической гипотензии наблюдался, главным образом, в гомогенатах тонкого и толстого отделов кишечника (в большей степени последнего). На основании этого можно предположить, что кишечник принимает непосредственное участие в формировании и последующем развитии эндогенной интоксикации. Это обусловлено низкой устойчивостью стенки органа к гипоперфузии в период централизации кровообращения. С одной стороны, прогрессивный прирост ВНСММ и олигопептидов в крови воротной вены обусловлен изменением проницаемости кишечной стенки и бактериальной транслокацией с последующим повреждением печени и нарушением ее функций [11]; а с другой, существенной активацией прооксидантной системы, одновременным сниже-

нием антиоксидантной активности и способности лейкоцитов к активации и невозможности полноценно осуществлять фагоцитоз. При этом высокая концентрация ВНСММ и олигопептидов усиливает процессы свободнорадикального окисления, оказывает цитотоксическое действие и вызывает нарушения микроциркуляции, изменяя при этом проницаемость мембран [12]. В свою очередь, порталная эндотоксемия вносит свой вклад в дополнительное повреждение печени и накопление в ней ВНСММ. На ран-

них сроках геморрагической гипотензии в селезенке и печени наблюдалась компенсаторная повышенная биотрансформация и выведение эндотоксинов из организма [12]. Позднее данные органы сами начинали выполнять роль источника ВНСММ, постепенно накапливая их в тканях и в последующем выбрасывая из депо в кровь. При этом, отсутствие прироста и дальнейшее уменьшение показателя фагоцитарной активности лейкоцитов свидетельствует об угнетающем действии на него токсинов.

Литература

1. Кожура В. Л., Новодержкина И. С., Кирсанова А. К. Острая массивная кровопотеря: механизмы компенсации и повреждения. Анестезиология и реаниматология 2002; 6: 9–13.
2. Ештушенко А. Я., Яковлев А. И., Шалякин Л. А. Ранняя постреанимационная централизация кровообращения. Бюл. эксперим. биологии и медицины 1985; 3: 284–286.
3. Lankin V. Z. The enzymatic systems in the regulation of free radical lipid peroxidation. IOS Press, NATO Science Series 2003; 344: 8–23.
4. Беляков Н. А. Эндогенные интоксикации и лимфатическая система. Эфферентная тер. 1998; 4 (2): 11–16.
5. Fruchterman T. M., Spain D. A., Wilson M. A. et al. Selective microvascular endothelial cell dysfunction in the small intestine following resuscitation hemorrhagic shock. Shock 1998; 10 (6): 417–422.
6. Габриэлян Н. И., Дмитриев А. А., Кулаков Г. Н. Диагностическая ценность определения средних молекул в плазме крови при нефротических заболеваниях. Клинич. медицина 1981; 10: 38–42.
7. Lowry O. N., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin reagent. J. Biol. Chem. 1951; 193 (1): 265–275.
8. Малахова М. Я. Методы биохимической регистрации эндогенной интоксикации (сообщение первое). Эфферентная тер. 1995; 1 (1): 61–64.
9. Фархутдинов Р. Р. Хемилюминесцентные методы исследования свободнорадикального окисления в биологии и медицине. Уфа; 1998.
10. Костюченко А. Л., Гуревич К. Я., Беляков Н. А. Повышение активности защитных механизмов детоксикации при эндотоксикозе (сообщение первое). Эфферентная тер. 2002; 8 (3): 3–9.
11. Созинов А. С., Абдулхаков С. Р., Киясов А. П., Гумерова А. А. Альтерация печени при экспериментальном дисбиозе у крыс. Бюл. эксперим. биологии и медицины 2003; 136 (7): 23–26.
12. Малахова М. Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме. Эфферентная тер. 2000; 6 (4): 3–14.

Поступила 27.04.07

Диссертации на соискание ученой степени доктора наук, защищенные после 01 июля 2004 года без опубликования основных научных результатов в ведущих журналах и изданиях, перечень которых утвержден Высшей аттестационной комиссией, будут отклонены в связи с нарушением п. 11 Положения о порядке присуждения ученых степеней.

Перечень журналов ВАК, издаваемых в Российской Федерации по специальности 14.00.37 «Анестезиология и реаниматология», в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата медицинских наук:

- Анестезиология и реаниматология;
- Общая реаниматология.