

На правах рукописи

Рябиков Дмитрий Викторович

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ
МАЛАТСОДЕРЖАЩЕГО РАСТВОРА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ
ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата

медицинских наук

Москва – 2017

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Заслуженный врач РФ,
доктор медицинских наук,
профессор

Бояринов Геннадий Андреевич

Официальные оппоненты:

Беляев Александр Назарович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии им. Н. И. Атясова ФГБОУ ВО "Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва"

Перетягин Сергей Петрович – доктор медицинских наук, профессор, президент Ассоциации российских озонотерапевтов.

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «_____» _____ 2017 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 212.203.06 при Российском университете дружбы народов (117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая 8).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (адрес: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6; сайт: <http://dissovet.rudn.ru>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 212.203.06
доктор биологических наук, доцент

М.М. Азова

Актуальность исследования

Проблема повреждений внутренних органов при острой кровопотере остается актуальной в связи с ростом опасности травматизма, повреждений сосудов при заболеваниях и оперативных вмешательствах (Мороз В.В., 2011, Котельников. Г.П., Миронов С.П. 2008., Thom O. et al., 2010). Особенную важность приобретает проблема предупреждения полиорганной недостаточности по истечении «золотого часа» с момента кровопотери. В этот период за счет централизации кровообращения в ишемизированных тканях прогрессируют нарушения микроциркуляции и реологии крови, гипоксическое повреждение клеток, которые усугубляются в процессе реперфузии с момента восстановления кровотока за счет коррекции гиповолемии инфузионными растворами (Мороз В.В., 2001, 2015, Dutton R.P., 2007). Несмотря на современные достижения в области изучения патофизиологических аспектов развития органных повреждений после острой кровопотери, предупреждение острой печеночной и почечной недостаточности в раннем постгеморрагическом периоде остается одной из нерешенных задач медицины критических состояний. Реперфузионные повреждения клеток печени и почек приводят к необходимости в последующем протезирования функций этих жизненно важных органов, что связано с высоким риском летальных исходов. Поэтому особый акцент в интенсивной профилактике реперфузионных повреждений печени и почек направлен на коррекцию метаболических процессов, в том числе и с помощью антигипоксантов. Эффективность применения малатсодержащих растворов для коррекции гиповолемии, детоксикации и профилактики морфологических повреждений печени и почек при острой кровопотере не исследовалась. Поэтому представляет интерес изучить динамику показателей, характеризующих печеночно-почечную недостаточность в раннем постгеморрагическом периоде и морфологических изменений в печени и почках, и на основании анализа полученных результатов разработать способ их предупреждения с помощью инфузионных малатсодержащих растворов.

Цель работы: Изучить влияние малатсодержащего раствора стерофундина изотонического на метаболические показатели крови и

морфологические изменения в печени и почках при экспериментальной острой кровопотере.

Задачи исследования:

1. Оценить роль инфекционного эндотоксикоза в формировании повреждений печени и почек при экспериментальной острой кровопотере.
2. Изучить динамику метаболических показателей крови, характеризующих гепато- и нефропротективные эффекты малатсодержащего раствора стерофундина изотонического, в раннем постгеморрагическом периоде.
3. Исследовать влияние стерофундина изотонического на морфологические изменения печени и почек после острой кровопотери.

Научная новизна. Впервые определена роль липополисахарида грамотрицательных бактерий и пресепсина в развитии эндотоксикоза и формировании острой печеночной недостаточности в постгеморрагическом периоде.

Впервые выявлено корректирующее влияние малатсодержащего раствора стерофундина изотонического на компенсацию метаболических нарушений в постгеморрагическом периоде за счет снижения повышенного содержания глюкозы, лактата и увеличения уровня пирувата в крови.

Впервые проведено исследование влияния малатсодержащего раствора стерофундина изотонического на эндотоксикоз, ферментемию и гипоксические повреждения печени и почек при экспериментальной острой кровопотере.

Установлена ведущая роль цитолиза гепатоцитов в формировании печеночной недостаточности у животных, перенесших острую кровопотерю.

Определено сдерживающее влияние малатсодержащего раствора стерофундина изотонического на нарушения микроциркуляции и гипоксические структурные повреждения в печени и почках в постгеморрагическом периоде.

Практическая значимость. Установлено значение малатсодержащего раствора стерофундина изотонического в профилактике острой печеночной и почечной недостаточности при острой кровопотере.

Показана важная роль в формировании печеночной недостаточности микробного компонента эндотоксикоза и цитолитических процессов.

Разработан способ прогнозирования острой печеночной недостаточности на основе исследования липополисахаридемии в раннем постгеморрагическом периоде. Для оценки вклада микробного компонента в формирование эндотоксикоза при острой кровопотере целесообразно контролировать уровень пресепсина в крови.

Теоретические положения, которые раскрыты в ходе исследования, используются при преподавании курса «анестезиологии-реаниматологии» студентам и курсантам Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «НижГМА» Минздрава России).

Методология и методы диссертационного исследования

Особенности повреждения печени и почек изучались на модели фиксированной острой кровопотери. Механизмы реализации повреждающего действия ишемии и реперфузии при острой кровопотере определялись с помощью лабораторных методов регистрации метаболических нарушений, эндотоксикоза, маркеров повреждений печени и почек, а также морфологических методов в раннем постгеморрагическом периоде.

Автор диссертационного исследования выражает благодарность профессору И.В. Мухиной, заведующей Центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России за помощь в организации проведения эксперимента.

Внедрение в практику. Результаты диссертационной работы внедрены в практику отделений травматологии и ортопедии, хирургии, реанимации и интенсивной терапии ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко», ГБУЗ НО «Городская клиническая больница №13», образовательный процесс ФГБОУ ВО «НижГМА» Минздрава России.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Увеличение содержания липополисахарида грамотрицательных бактерий и пресепсина в крови свидетельствует о важной роли микробного эндотоксикоза в

формировании повреждений печени и почек при экспериментальной острой кровопотере.

2. Использование малатсодержащего раствора стерофундина изотонического для купирования гиповолемии способствует компенсации нарушений углеводного метаболизма в раннем постгеморрагическом периоде за счет снижения повышенного содержания глюкозы, лактата и увеличения уровня пирувата в крови.

3. Применение стерофундина изотонического для коррекции гиповолемии у животных при острой кровопотере способствует предупреждению цитолиза гепатоцитов, гиперферментемии, эндотоксикоза катаболического и микробного происхождения, нарушений в системе микроциркуляции и структуры печени и почек.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на XII съезде федерации анестезиологов и реаниматологов России (Москва, 2010); VI Международной Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2011); Всероссийской конференции с международным участием «Экологическая физиология и медицина: наука, образование, здоровье населения» (Ульяновск, 2012); XV конгрессе «Парентеральное и энтеральное питание» (Москва, 2012); заседании Нижегородского общества анестезиологов-реаниматологов (2015); межрегиональной научно-практической конференции «Оказание медицинской помощи при сочетанной травме в результате дорожно-транспортных происшествий» (Нижний Новгород, 2016).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 работ, в том числе 3 – статьи в журналах, рекомендованных ВАК, получен 1 патент на изобретение.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 5 глав (обзора литературы и описания собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 235 источников (из них 129 отечественных и 106 зарубежных). Работа изложена на 141 странице компьютерного текста, содержит 10 таблиц и 30 рисунков.

Общая характеристика материалов и методов исследования

Исследование имело проспективный рандомизированный характер и выполнялось на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «НижГМА» Минздрава РФ. Выбор препарата для коррекции гиповолемии осуществлялся методом «конвертов».

Эксперименты проводились на 120 половозрелых крысах самцах линии Wistar, массой 220-250 г. Содержание животных, оперативные вмешательства и вывод из эксперимента осуществляли в соответствии с нормативами, данным в руководстве *Guide for care and use of laboratory animals. ILAR publication, 1996, National Academy Press.* и с требованиями Приказа Минздрава России № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации». Животные содержались в виварии при свободном доступе к пище, воде, естественной смене дня и ночи. Эксперименты проводились в условиях спонтанного дыхания и температуры окружающей среды 24-25⁰С. Наркоз осуществлялся внутрибрюшинным введением нембутала в дозе 45 мг/кг. С целью инвазивного контроля гемодинамики, забора и реинфузии крови, введения исследуемых инфузионных растворов катетеризировались хвостовая артерия и вена. После рассечения стенки сосуда с помощью сосудистых ножниц в вену и артерию вводились катетеры 30 G, которые ежечасно промывали с помощью 0,1 мл раствора нефракционированного гепарина (50 ЕД/мл). Подключался монитор для инвазивного измерения артериального давления, датчик давления фирмы «Моторола» MPX 5050DP и устройство аналогово-цифрового преобразователя L-card 14-440 (Россия). Полученные данные регистрировались с помощью программного комплекса «PowerGraf» V3.3.

Эксперимент проводился в несколько этапов:

1. Оценка исходного состояния, наркотизация животного, катетеризация хвостовой артерии и вены.
2. Кровопотеря из хвостовой артерии в объеме 30% ОЦК со скоростью 2 мл/мин. Использовалась модель острой фиксированной по объему кровопотери, позволяющей оценить динамику постгеморрагических повреждений внутренних органов и влияние на них исследуемых препаратов. Данная модель, по мнению

многих авторов, отражает эффективность применяемых компонентов лечения острой кровопотери (Рыжков И.А., 2015; Fulop A., 2013; Lomas-Niera J.L., 2005). ОЦК крысы рассчитывался как 70 мл/кг массы тела. Кровь забирали в шприц содержащий 0,5 мл раствора гепарина (50 ЕД/мл).

3. Гиповолемию в течение 1 часа после кровопотери.

4. Коррекция гиповолемии внутривенным введением растворов. В контрольной серии экспериментов (60 животных) через 1 час после кровопотери коррекция гиповолемии проводилась с помощью раствора Рингера в объеме 200% от объема кровопотери следующим образом: $\frac{1}{2}$ расчетной дозы раствора Рингера вводилась болюсно в течение 5 минут, затем в течение 55 минут с помощью инфузомата вводилась $\frac{1}{2}$ от расчетной дозы препарата. В опытной серии (60 животных) коррекция гиповолемии проводилась с помощью раствора стерофундин изотонический (B/Braun, Германия) по такой же схеме, как и у животных контрольной серии. Затем в обеих сериях с помощью инфузомата в течение 1 часа осуществляли реинфузию 70% крови, забранной на 2-м этапе эксперимента.

5. Выведение животных из эксперимента осуществляли после внутривенного введения нембутала (150 мг/кг) через 24 и 72 часа после кровопотери с последующим изъятием внутренних органов для морфологических исследований.

Забор крови на анализ проводили из хвостовой вены перед началом эксперимента, через 1 час после окончания реинфузии крови (через 4 часа после кровопотери), через 1 сутки и 3 суток после кровопотери.

Исследовали следующие параметры:

1. Клинико-биохимические показатели крови (гемоглобин, гематокрит, концентрация глюкозы, лактата, пирувата, билирубина, мочевины, креатинина, активность АсАТ, АлАТ, ЩФ, ГГТП) на биохимическом анализаторе «Konelab 60i» (Финляндия) с помощью наборов реактивов «Thermo scientific» (Финляндия).

2. Уровень веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ) в плазме и эритроцитах определяли по методике С.В. Оболенского и соавт.

(1992), основанной на определении спектра поглощения безбелкового супернанта крови в ультрафиолетовой области (238-302 нм). Измерение проводили на спектрофотометре СФ-46 (ЛОМО, Россия).

Катаболический пул ВНиСММ плазмы и эритроцитов, рассчитывался по формуле А.И. Карпищенко (2002): $(E_{238} + E_{242} + \dots + E_{258}) \times 4$.

3. Определение уровня ЛПС в венозной крови проводилось с помощью диагностического набора МАЧ-endotox.spp.теста (ГОУ «НЦССХ им.А.Н. Бакулева РАМН, ООО НПФ «РОХАТ», Россия), **пресепсина** – набором реактивов «PATHFAST Presepsin» (Mitsubishi Medience Corporation, Япония).

4. Светооптическая микроскопия. Препараты приготавливали после 24-72 ч фиксации в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживания в спиртах восходящей концентрации и заливки в парафин. Срезы толщиной в 7 мкм изготавливали на микротоме Leica SM 2000R (Германия) и окрашивали гематоксилин-эозином.

Просмотр гистологических препаратов, регистрация изображений и подсчет морфометрических показателей проводился на микровизоре μ Vizo-103 (ЛОМО, Россия). Поля зрения на срезе выбирались по методу случайных чисел (Автандилов Г.Г., 1984). Исследовали следующие показатели в препаратах печени: диаметр синусоидов, диаметр артерии и площадь ее сечения в триаде, диаметр вены и площадь ее сечения в триаде, диаметр и площадь сечения центральной вены. В препаратах почек животных контрольной и опытной серий сравнивали площадь капиллярных петель в клубочке и ширину свободного пространства в капсуле Шумлянско-Боумана.

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2007 и StatSoft Statistica 6.0. В работе приведены средние значения и их стандартные отклонения. Также в статистическом анализе использовались непараметрические методы сравнения Манна-Уитни и Уилкоксона. Значения считали достоверными при заданном критерии вероятности $p \leq 0,05$.

Результаты собственных исследований.

В исходном состоянии значения показателей, отражающих направленность метаболических процессов, не отличались у животных основной и контрольных серий.

Через 1 час после реинфузии крови в контрольной серии отмечены достоверные изменения исследуемых показателей относительно исходного состояния: значения глюкозы крови выросли на 121,4%, лактата – на 251,1%, индекса лактат/пируват – на 238,3% (рис. 1). Индекс глюкоза/лактат снизился на 37,5%. Уровень пирувата остался неизменным.

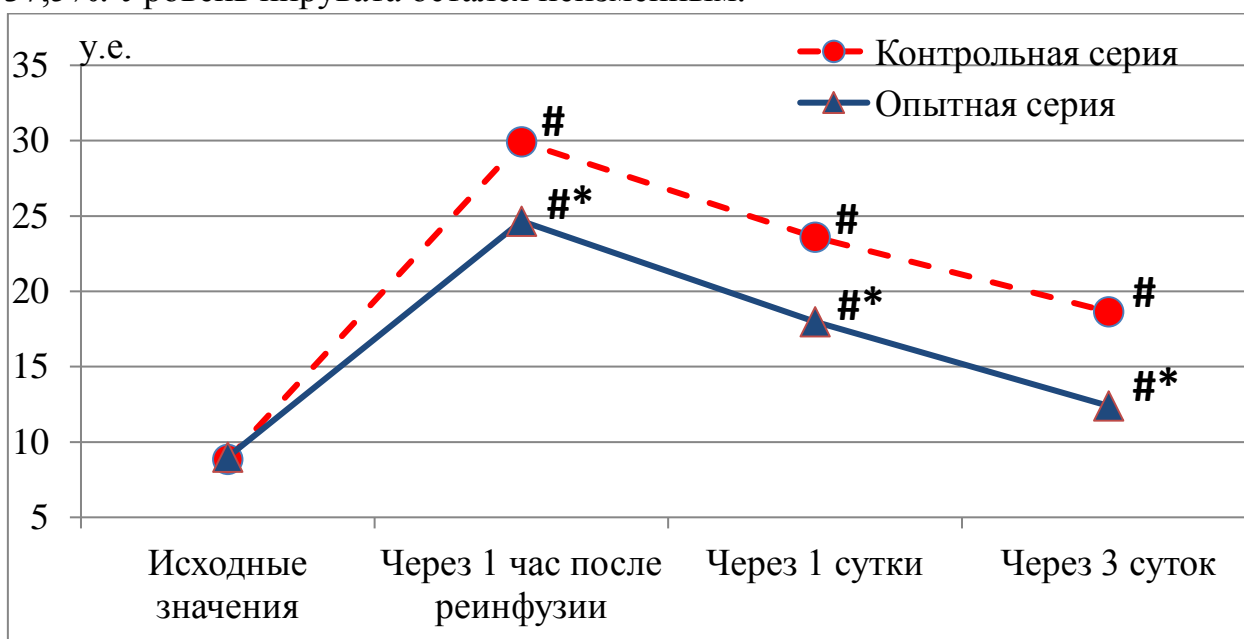


Рис. 1. Динамика индекса лактат/пируват у исследуемых животных.

Примечание: # – статистическая значимость различий относительно исходных значений; * – статистическая значимость различий относительно значений в контрольной серии на одинаковых этапах исследования.

Уже в раннем постгеморрагическом периоде выявлены положительные эффекты малатсодержащего раствора стерофундин изотонический. В опытной серии глюкоза выросла на 117,2%, лактат – на 226,1%, индекс глюкоза/лактат снизился на 33,2%. Но вследствие роста пирувата относительно исходных значений на 19,5% индекс лактат/пируват увеличился в меньшей степени по сравнению с животными контрольной серии – на 174%,

За счет более высоких темпов регресса метаболических нарушений у животных опытной серии, по сравнению с контрольной, через 1 сутки выявлена

статистическая значимость различий по глюкозе – на 13,1%, лактату – на 14,6%, пирувату – на 12,3%, индексу лактат/пируват – на 23,7%.

Через 3-е суток после кровопотери положительные эффекты от применения стерофундина изотонического для коррекции гиповолемии привели к увеличению статистически значимой разницы значений изучаемых показателей в контрольной и опытной сериях: по глюкозе – 16,1%, лактату – 26,8%, пирувату – 11,4%, индексу глюкоза/лактат – 15,4%, индексу лактат/пируват – 33,5%. Но, несмотря на положительную динамику восстановления баланса анаэробного и аэробного метаболизма при использовании малатсодержащего раствора, на третьи сутки сохранялись повышенные значения лактата в венозной крови.

Свидетельством цитолиза печеночных клеток в постгеморрагическом периоде явилась высокая активность ферментов в сыворотке крови (рис. 2). Через 1 час после реинфузии крови преобладали цитолитические процессы повреждения печеночных клеток. В контрольной и опытной сериях относительно исходных значений зарегистрирован рост средних значений АсАТ на 116,6% и 57,7%, АлАТ – на 85,7% и на 56,9%, ГГТП – на 19,3% и 15,5% соответственно.

Через сутки после кровопотери цитолитический синдром печеночной недостаточности у животных контрольной серии нарастал в большей степени, чем холестатические повреждения. У животных опытной серии АсАТ и АлАТ оставались на уровне значений предыдущего этапа исследования. Статистически значимые межсерийные различия средних значений АсАТ достигли 42,8%, АлАТ – 47%.

Через 3-е суток после кровопотери у животных контрольной серии отмечено значительное нарастание выраженности цитолитического и в меньшей мере холестатического синдромов острой печеночной недостаточности. Выраженность статистически значимых отличий средних значений относительно исходного уровня достигла по АсАТ – 378,8%, АлАТ – 206,3%, ГГТП – 36,2%, ЩФ – 143%. При этом у 5 крыс из 30 контрольной серии, выведенных из эксперимента на этом этапе, значения АсАТ превышали 200 ЕД, а АлАТ – 150

ЕД, а при морфологических исследованиях печени у этих животных обнаружены участки некроза гепатоцитов.

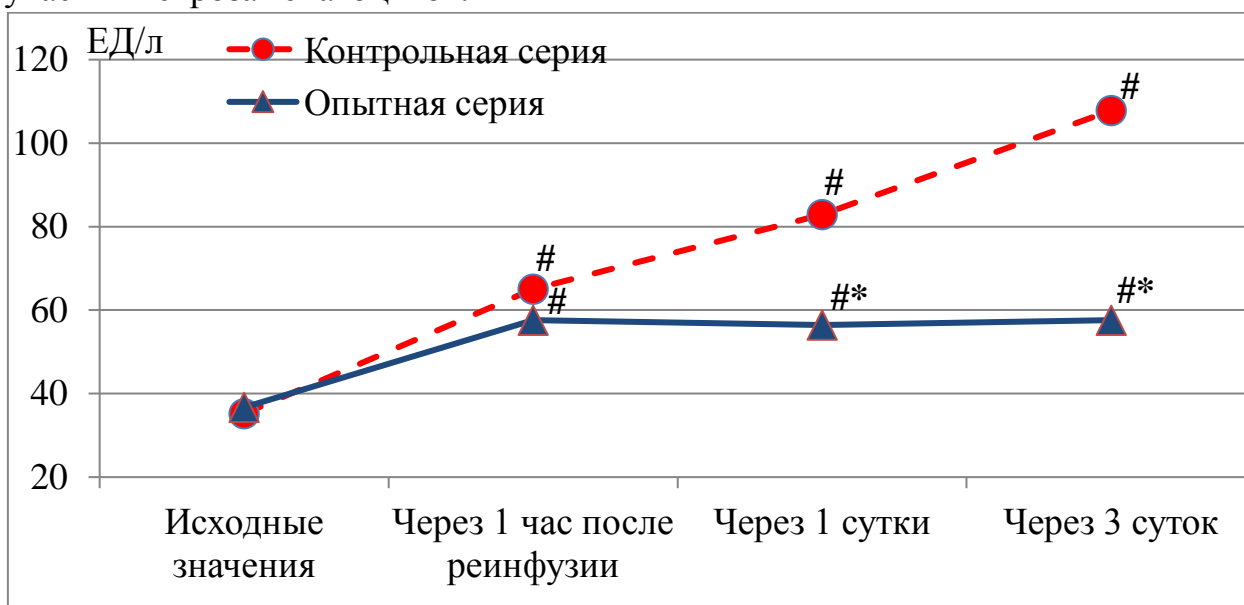


Рис. 2. Динамика АлАТ у исследуемых животных.

Примечание: # – статистическая значимость различий относительно исходных значений; * – статистическая значимость различий относительно значений в контрольной серии на одинаковых этапах исследования.

У всех животных опытной серии значения АсАТ и АлАТ были ниже 100 ЕД. Нарастание относительно средних значений 1-х суток отмечено только по АсАТ. Средние значения активности АсАТ была ниже на 108,1%, АлАТ – на 46,6%, ГГТП – на 13,6%, ЩФ – на 42%, чем у животных контрольной серии.

Отсутствие динамики АлАТ, ГГТП и ЩФ на этапе первых и третьих суток после острой кровопотери у животных, получавших стерофундин изотонический, свидетельствовало о стабилизации процессов цитолитического и холестатического повреждения гепатоцитов.

Увеличение содержания билирубина отмечалось, начиная с 1-х суток после кровопотери. У животных опытной серии общий и конъюгированный билирубин были статистически значимо ниже соответственно на 15,6% и 23,8% относительно контрольной серии. Через 3 суток у животных опытной серии общий билирубин был ниже на 23%, конъюгированный билирубин – на 29,8%, неконъюгированный билирубин – на 21,4%. Следовательно, использование стерофундина изотонического для коррекции гиповолемии при острой

кровопотере положительно отразилось на профилактике нарушений пигментного обмена в печени.

Почки являются одним из самых уязвимых органов при ишемии-реперфузии, возникающей при острой кровопотере, что является следствием высокого уровня кровоснабжения и кислородного обмена.

Исследования азотемии показали ее статистически значимое нарастание относительно исходных значений, начиная с 1-х суток постгеморрагического периода: в контрольной серии мочевины и креатинина выросли на 112,8% и 32,3%, в опытной – на 51,2% и 26,1% соответственно (рис. 3).

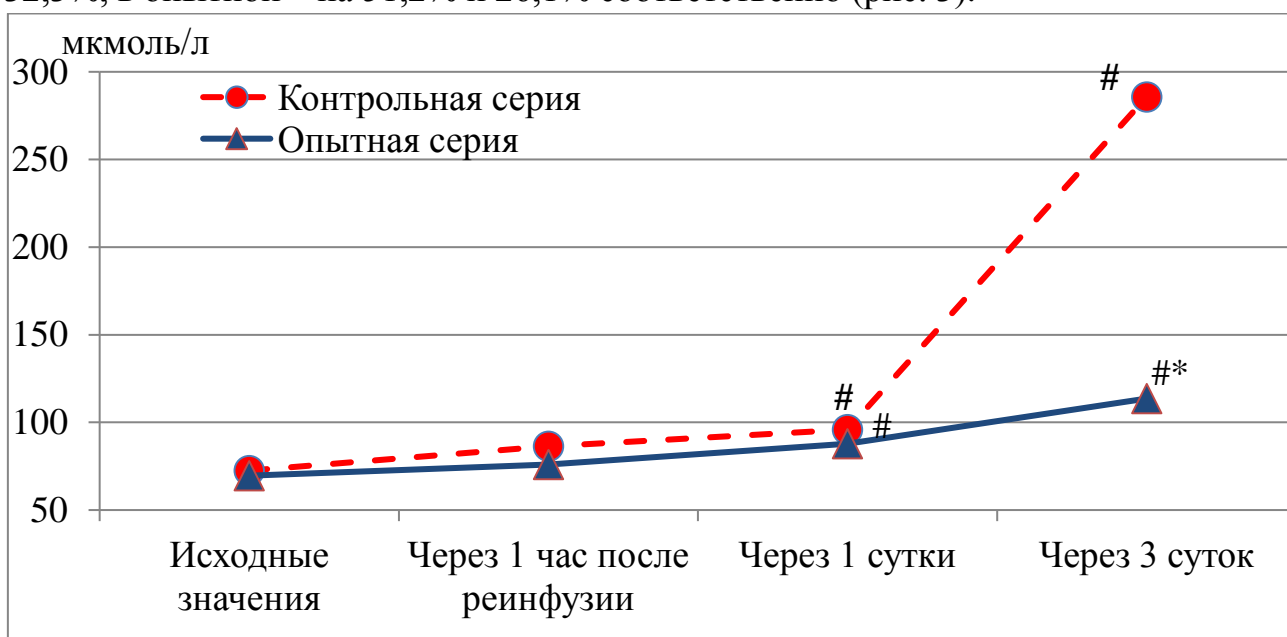


Рис. 3. Динамика креатинина плазмы у исследуемых животных.

Примечание: # – статистическая значимость различий относительно исходных значений; * – статистическая значимость различий относительно значений в контрольной серии на одинаковых этапах исследования.

Через 3-е суток после кровопотери отмечено нарастание азотемии, особенно в контрольной серии животных. На этом этапе значения мочевины и креатинина у животных опытной серии были достоверно ниже таковых в контрольной серии соответственно на 30,4% и 60,2%, что подтверждает нефропротективный эффект использования малатсодержащего раствора стерофундин изотонический для коррекции гиповолемии при острой кровопотере.

Меньшая выраженность азотемии, цитолитического и холестатического синдромов печеночной недостаточности у животных опытной серии оказало сдерживающее влияние на развитие эндотоксикоза в постгеморрагическом периоде.

Исследования ВНиСММ плазмы и эритроцитов показали отсутствие в исходном состоянии достоверных отличий между контрольной и опытной сериями животных (рис. 4). Плазма является основным коллектором ВНиСММ крови, так как способность эритроцитов переносить «средние молекулы» от мест их образования в организме к органам, ответственным за их биотрансформацию и выделение, ограничена сорбционной способностью гликокаликса эритроцитов. Поэтому основное накопление ВНиСММ происходило в плазме крови животных, перенесших кровопотерю.

Через 1 час после реинфузии крови регистрировалось достоверное увеличение уровня ВНиСММ плазмы относительно исходных значений в первую очередь за счет веществ с высокой молекулярной массой, отражающих не только метаболические нарушения, но повреждения клеток организма. На этом этапе исследования отсутствовала статистическая значимость различий между контрольной и основной сериями исследования.

На этом этапе исследования ВНиСММ нарастали за счет веществ, относящихся к катаболическому пулу и требующих в дальнейшем биотрансформации в печени до веществ с меньшей молекулярной массой и гидрофильной структурой. Гидрофильные вещества в свою очередь способны фильтроваться с водой в органах выделения, в основном в почках.

Через сутки после перенесенной кровопотери эндотоксикоз у исследуемых животных продолжал нарастать в основном за счет катаболического пула ВНиСММ.

Темпы нарастания эндотоксикоза в опытной группе были ниже, что обеспечило статистическую значимость отличий между средними значениями ВНиСММ в опытной и контрольной сериях. У животных, получавших стерофундин изотонический, ВНиСММ_{238-306нм} плазмы были достоверно ниже на 15,6%, ВНиСММ_{238-258нм} – на 23,7%.

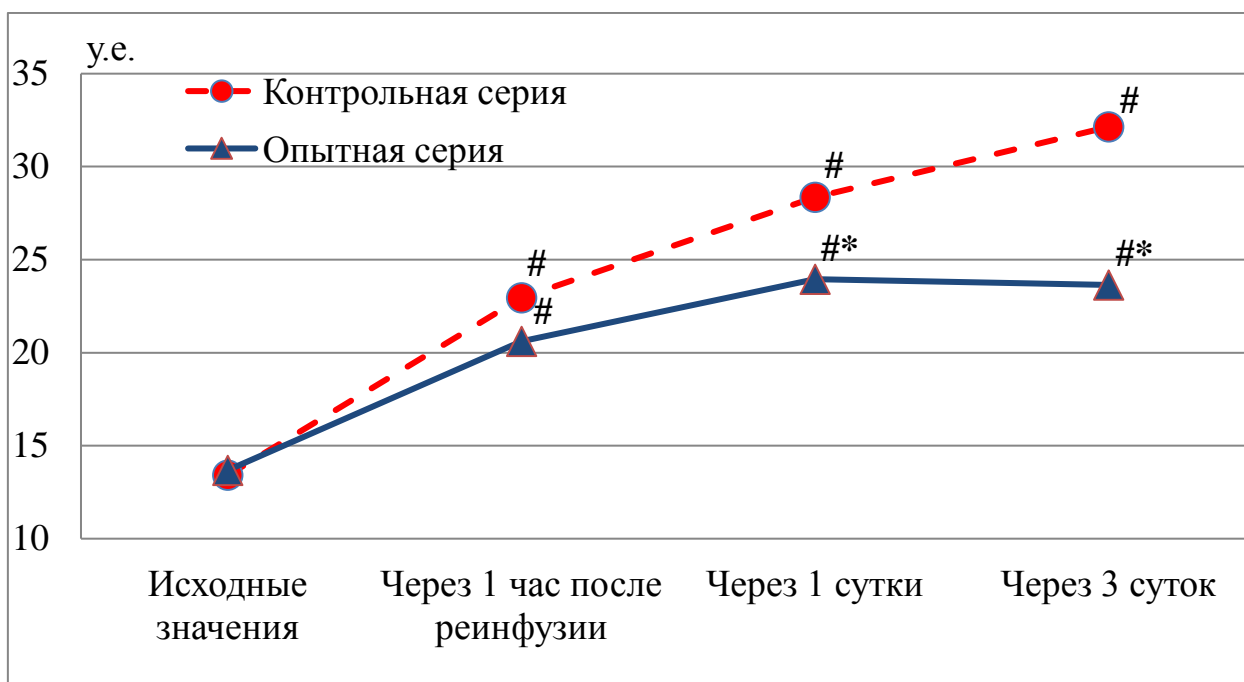


Рис. 4. Динамика ВНиСММ плазмы 238-306 нм у исследуемых животных.

Примечание: # – статистическая значимость различий относительно исходных значений; * – статистическая значимость различий относительно значений в контрольной серии на одинаковых этапах исследования.

Через 3-е суток после острой кровопотери в контрольной серии животных продолжалось нарастание эндотоксикоза. У животных опытной серии величины исследуемых показателей эндотоксикоза, в том числе и относящихся к катаболическому пулу ВНиСММ, регистрировались на уровне 1-х постгеморрагических суток. Межгрупповые отличия по значениям ВНиСММ_{238-306нм} составили 26,4%, ВНиСММ_{238-258нм} – на 34,4%, ВНиСММ_{262-282нм} – на 25%.

Включение стерофундина изотонического в инфузионную программу коррекции гиповолемии при острой кровопотере оказывало сдерживающее влияние на нарастание эндотоксикоза, начиная с 1 суток постгеморрагического периода. Основным механизмом сдерживания накопления ВНиСММ в плазме, на наш взгляд, является поддержание биотрансформации «средних молекул» в вещества с меньшей молекулярной массой, которые не накапливаются в крови, а, по-видимому, эффективно элиминируются из организма органами выделения. За счет этого механизма катаболический пул у животных, получавших

малатсодержащий инфузионный препарат, не нарастал, начиная с 1 суток после кровопотери.

Изучение ВНиСММ эритроцитов выявило аналогичную динамику с ВНиСММ плазмы в постгеморрагическом периоде.

Исследования ЛПС и пресепсина в исходном состоянии определили фоновые значения этих показателей (табл. 1). Однако уже после реинфузии крови значения этих показателей многократно возрастали. В контрольной серии средние значения ЛПС и пресепсина выросли относительно исходных значений в 20,6 раза и на 135%, а в опытной серии – в 16,7 раза и на 117% соответственно. Отрицательная динамика показателей микробной составляющей эндотоксикоэза отражает резко возросшую нагрузку на детоксицирующую функцию печени.

Таблица 1

Динамика ЛПС и пресепсина на этапах исследования

Показатель	Период наблюдения					
	Исходные значения в крови из хвостовой вены	Через 1 час после реинфузии крови	Через 1 сутки кровь из хвостовой вены	Через 1 сутки кровь из портальной вены	Через 3 суток кровь из хвостовой вены	Через 3 суток кровь из портальной вены
Контрольная серия						
ЛПС, пг/мл	6,8±1,8	140,0±44,7 [#]	72,3±24,0 [#]	206,4±23,1 ^{&}	94,1±29,7 [#]	254,3±31,0 ^{#&}
Пресепсин, пг/мл	342,1±31,2	804,4±74,3 [#]	483,6±59,5 [#]	651,4±66,2 ^{&}	579,2±50,6 [#]	697,6±63,2 ^{#&}
Опытная серия						
ЛПС, пг/мл	6,7±1,5	112,1±33,0 [#]	38,0±12,1 ^{#*}	124,2±21,5 ^{*&}	41,6±10,3 ^{#*}	128,0±24,5 ^{*&}
Пресепсин, пг/мл	355,8±25,4	771,6±80,5 [#]	415,3±53,5	467,4±60,8 ^{*&}	431,8±45,6 [*]	502,3±52,1 ^{*&}

Примечание: [#] – статистическая значимость различий относительно исходных значений; ^{*} – статистическая значимость различий относительно значений в контрольной серии на одинаковых этапах исследования; [&] – статистическая значимость различий относительно значений венозной крови из хвостовой вены на одинаковых этапах исследования.

Через 1 сутки отмечено снижение ЛПС, статистически значимо в большей степени у животных, получавших для восполнения гиповолемии стерофундин изотонический. Пресепсин у всех животных опытной серии снизился ниже 500 пг/л. При сравнении значений ЛПС и пресепсина в крови воротной и хвостовой

вены определились преимущества применения стерофундина изотонического при острой кровопотере. Свидетельством снижения активности транслокационных процессов были достоверно более низкие значения в крови из портальной вены ЛПС и пресепсина в опытной серии: на 39,8 и 33,3% соответственно.

Через 3-е суток у животных контрольной серии эндотоксинемия выросла на 30% относительно предыдущего этапа исследования, а средние значения пресепсина превысили 500 пг/мл. В то же время у животных опытной серии липополисахариемия и пресепсинемия оставались на уровне 1 суток после перенесенной экспериментальной острой кровопотери. Достоверная разница между средними значениями ЛПС и пресепсина в контрольной и опытной сериях достигла 55,8% и 25,6% соответственно. В портальной крови на этом этапе исследования у животных контрольной и опытной серий содержание ЛПС и пресепсина оставалось на уровне предыдущего этапа исследования. Поэтому, вероятно, причиной нарастания системной эндотоксемии явилось повреждение детоксицирующей функции печени, в частности клеток Купфера.

Полученный положительный результат использования стерофундина изотонического для восполнения гиповолемии является как отражением меньшей выраженности нарушений антимикробной детоксицирующей функции печени, так и возможным следствием поддержания фильтрации низкомолекулярных фракций липополисахарида и пресепсина почками.

Световая микроскопия препаратов печени в 1-е и 3-и сутки выявила увеличение диаметров и площади сечения синусоидов, артерий и вен в триаде, а также центральных вен (рис. 5,6), в большей степени у животных контрольной серии.

К 3-м суткам у крыс, получавших раствор Рингера, отмечалась дисконкомплексация печеночных балок и очаги некроза печеночной паренхимы.

У животных, получавших стерофундин изотонический для коррекции гиповолемии, нарушения микроциркуляции не нарастали по сравнению с 1-ми сутками после кровопотери.

Статистически значимые различия между контрольной и опытной сериями увеличились и достигли: по диаметру синусоидов 33,7%, диаметру артерии в триаде 16,1%, площади сечения артерии в триаде 31,6%, диаметру вены в триаде 22,5%, площади сечения вены в триаде 40%, диаметру центральной вены 25,9%, площади сечения центральной вены 43,7%.

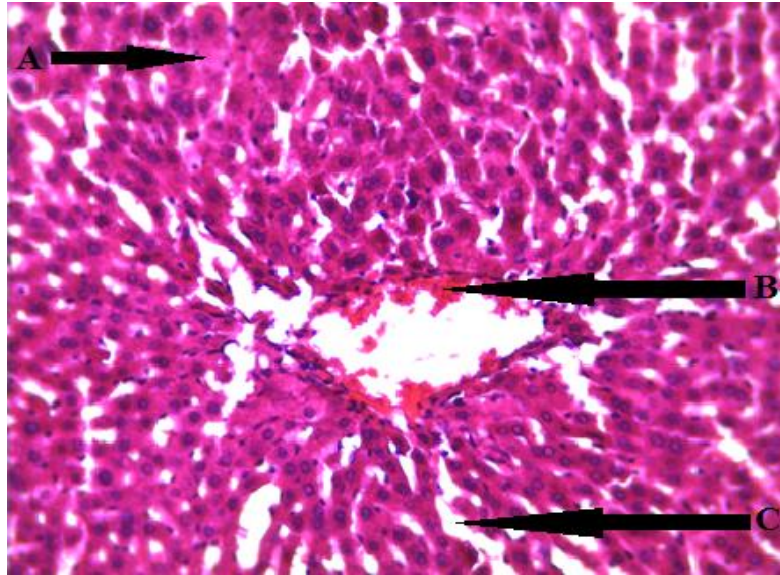


Рис. 5. Структура печени через 3 суток после острой кровопотери у животных контрольной серии (ув. ок. 7, об. 8; окраска гематоксилин-эозин). А – локальная зона некроза гепатоцитов. В – расширение центральной дольковой вены и пристеночное сладжирование эритроцитов. С – расширение перипортального пространства.

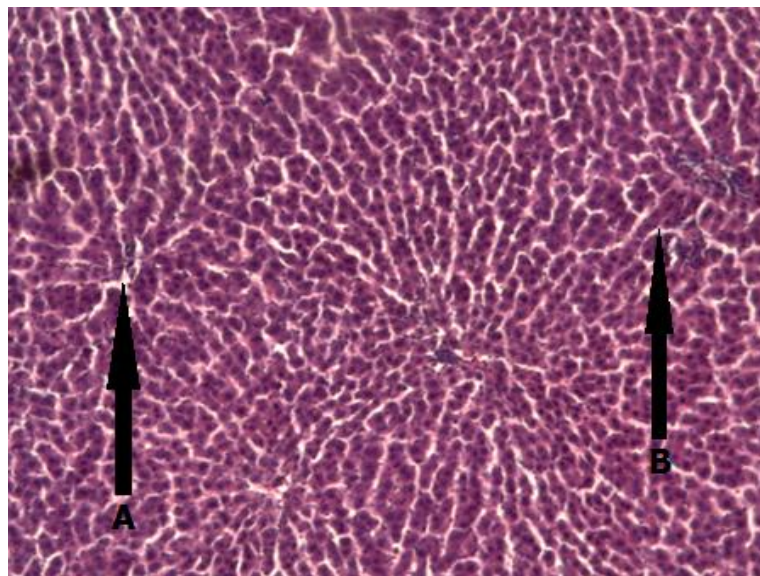


Рис. 6. Структура печени через 3 суток после острой кровопотери у животных опытной серии (ув. ок. 7, об. 8; окраска гематоксилин-эозин). А – отсутствие расширения центральных дольковых вен. В – незначительное расширение межбалочных пространств.

Увеличение диаметров и площади сечения синусоидов, артерий и вен в триаде, а также центральных вен свидетельствовало о снижении тонуса сосудистой стенки.

Препараты почек представлены на рис. 7 и 8. Морфометрические исследования препаратов почек выявили у животных контрольной серии более выраженную недостаточность кровоснабжения клубочков, которая прогрессировала к 3-м суткам наблюдения. На этом этапе исследования достоверные отличия средних значений изучаемых показателей основной серии от контрольной составили: 41% по площади капиллярных петель и 20,6% по ширине свободного пространства в капсуле Шумлянско-Боумена.

Следовательно, использование стерофундина изотонического при острой кровопотере позволило снизить степень повреждения клубочков и канальцев почек, что возможно и обеспечило предупреждение избыточного накопления уремических токсинов в крови и коррекцию эндотоксикоза за счет выделения ВНиСММ, пресепсина и низкомолекулярных фракций ЛПС.

Через 1 сутки после кровопотери площадь капиллярных петель была достоверно меньше на 20,3% у животных, получавших раствор Рингера для восполнения гиповолемии. Это свидетельствует о более выраженной недостаточности кровоснабжения в клубочках. Ширина свободного пространства в капсуле Шумлянско-Боумена была статистически значимо меньше на 15,3% у животных опытной серии, что также свидетельствует о меньшей выраженности нарушений кровоснабжения клубочков.

Через 3-е суток отмечен статистически значимый рост ширины свободного пространства в капсуле Шумлянско-Боумена у животных контрольной серии на 13,6% относительно предыдущего этапа исследования, что свидетельствует о прогрессировании нарушений кровоснабжения клубочков.

На 3 сутки после кровопотери у 5 животных контрольной серии гиперферментемия и гиперазотемия превышали пороговые значения, необходимые для постановки диагноза острой печеночно-почечной недостаточности у людей.

Среди животных, получавших стерофундин изотонический, только в 1 случае значения мочевины и креатинина превышали пороговый уровень.

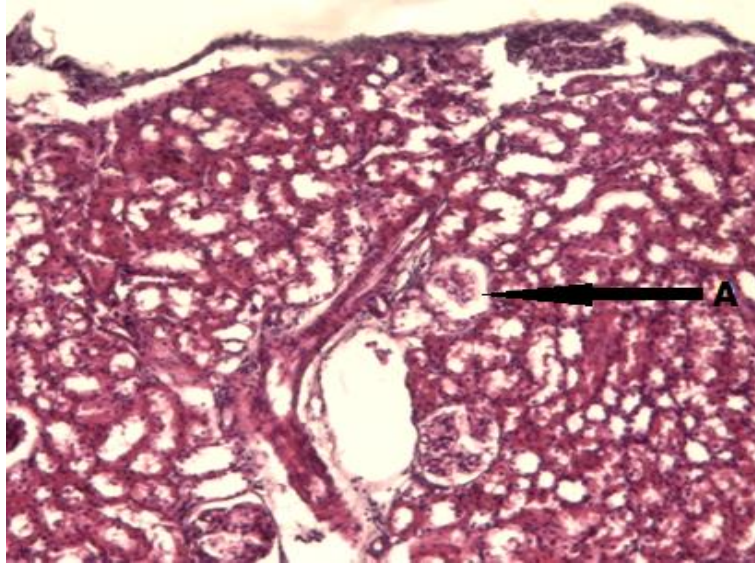


Рис. 7. Структура почки через 3 суток после острой кровопотери у животных контрольной серии (ув. ок. 7, об. 8; окраска гематоксилин-эозин). А – расширение пространства капсулы Шумлянско-Боумена.

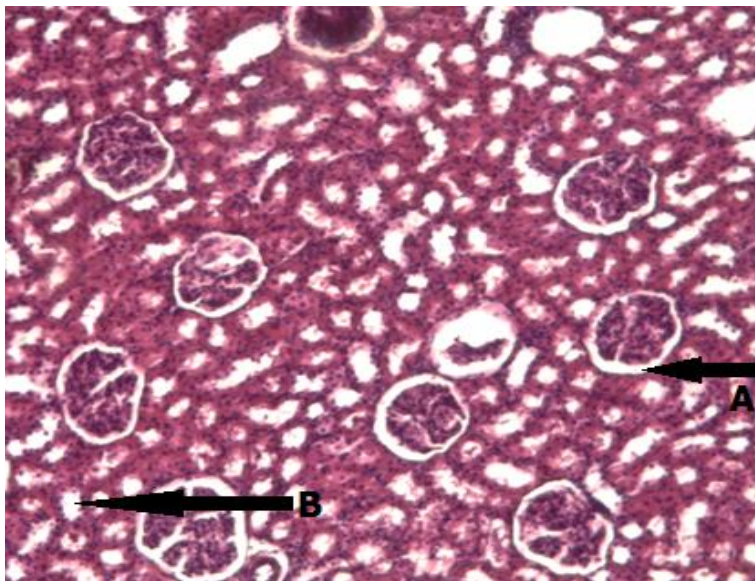


Рис. 8. Структура почки через 3 суток после острой кровопотери у животных опытной серии (ув. ок. 7, об. 8; окраска гематоксилин-эозин). А – умеренный отек пространства капсулы Шумлянско-Боумена. В – свободный просвет почечного канальца.

Таким образом, включение малатсодержащего раствора стерофундина изотонического в программу инфузионной коррекции гиповолемии при кровопотере способствовало сокращению сроков коррекции метаболических нарушений, снижению выраженности цитолитических и холестатических

повреждений гепатоцитов, азотемии, эндотоксикоза катаболического и микробного происхождения, стабилизации реперфузионных повреждений клеток и системы микроциркуляции печени и почек.

ВЫВОДЫ

1. Включение малатсодержащего раствора стерофундина изотонического в инфузионную коррекцию гиповолемии способствует предупреждению гипоксических и реперфузионных повреждений печени и почек при экспериментальной острой кровопотере.

2. Увеличение содержания липополисахарида грамотрицательных бактерий и пресепсина в венозной крови в раннем постгеморрагическом периоде свидетельствует об активном участии микробного компонента эндотоксикоза в формировании повреждений печени и почек и служит прогностическим фактором развития печеночной недостаточности. Использование стерофундина изотонического для восполнения гиповолемии при острой кровопотере снижает содержание липополисахарида и пресепсина в крови портальной и хвостовой вены.

3. Развитие цитолиза гепатоцитов в раннем постгеморрагическом периоде играет ведущую роль в формировании острой печеночной недостаточности. Применение стерофундина изотонического для коррекции гиповолемии при экспериментальной острой кровопотере снижает степень нарушений микроциркуляции, предупреждает некроз гепатоцитов, повреждения клубочков и эпителия почечных канальцев, что подтверждается сдерживающим влиянием препарата на развитие гиперферментемии и азотемии.

4. Стерофундин изотонический способствует компенсации метаболических нарушений крови в постгеморрагическом периоде за счет снижения повышенного уровня глюкозы и лактата, а также увеличения содержания пирувата.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью предупреждения развития печеночно-почечной недостаточности при острой кровопотере целесообразно проводить коррекцию гиповолемии с помощью малатсодержащего раствора стерофундина изотонического.

2. Для прогнозирования развития в постгеморрагическом периоде острой печеночной недостаточности и оценки вклада микробного компонента в формирование эндотоксикоза необходимо проводить мониторинг липополисахарида и пресепсина в венозной крови.

Публикации по теме исследования

1. Яковлев А.Ю., Емельянов Н.В., Мухина И.В., Дворников А.В., **Рябиков Д.В.**, Снопина Л.Б., Калентьев Г.В., Минеева Н.В. Выбор инфузионного препарата для профилактики полиорганной недостаточности при острой массивной кровопотере (экспериментальное исследование) // Общая реаниматология, 2010, VI, № 3, с. 48-51.

2. Яковлев А.Ю., Мухина И.В., Калентьев Г.В., Марышева А.Н., **Рябиков Д.В.** Выбор базисного кровезаменителя для терапии острой массивной кровопотери (экспериментальное исследование). // Материалы всероссийского форума «Пироговская хирургическая неделя» 2010, с. 725-726. Приложение к Вестнику Санкт-Петербургского университета. Серия 11. Медицина.

3. Яковлев А.Ю., Мухина И.В., Калентьев Г.В., Дворников А.В., **Рябиков Д.В.** Малатобусловленные эффекты органопротекции при экспериментальном геморрагическом шоке // Материалы XII съезда федерации анестезиологов и реаниматологов России, 2010, Москва, с. 168-169

4. **Рябиков Д.В.** Профилактика реперфузионных повреждений печени и почек с помощью малатсодержащих растворов в эксперименте. // Вестник Российского государственного медицинского университета. Материалы VI Международной пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых, 2011, Москва, с. 307-308.

5. **Рябиков Д.В.**, Калентьев Г.В., Яковлев А.Ю., Братчик В.В., Марышева А.Н. Гемодинамика при инфузионной терапии экспериментального геморрагического шока. // Эфферентная терапия, 2011, т. 17, № 3, с. 129-130.

6. **Рябиков Д.В.** Гепатопротекция при инфузионной терапии экспериментального геморрагического шока. // Эфферентная терапия, 2011, т. 17, № 3, с. 130-131

7. Яковлев А.Ю., Калентьев Г.В., **Рябиков Д.В.**, Марышева А.Н., Мазур А.В., Кулаков В.С. Влияние инфузионной терапии на параметры сердечно-сосудистой системы при экспериментальном геморрагическом шоке. // Вестник интенсивной терапии, 2012, №5, с.38-39

8. Яковлев А.Ю., **Рябиков Д.В.**, Рябикова М.А., Марышева А.Н., Калентьев Г.В., Снопина Л.Б., Мазур А.В., Галанина Т.А., Ятова Е.А. Инфузионная профилактика полиорганной недостаточности при экспериментальном геморрагическом шоке. // Материалы Всероссийской конференции с международным участием "Экологическая физиология и медицина: наука, образование, здоровье населения", 12-14 сентября 2012 года, Ульяновск, с. 228-229.

9. Яковлев А.Ю., **Рябиков Д.В.**, Марышева А.Н., Снопина Л.Б. Малатобусловленная органопротекция при инфузионной терапии экспериментального геморрагического шока // Трансфузиология, 2012, т. 13, № 3, с. 114.

10. Яковлев А.Ю., Кичин В.В., Никольский В.О., Калентьев Г.В., **Рябиков Д.В.**, Рябикова М.А., Протасов Д.М., Галанина Т.А., Сморгалов А.Ю., Евдокимова О.С. Эффективность применения стерофундина изотонического после острой массивной кровопотери // Общая реаниматология, 2013, т. 9, № 3, с. 24-29.

11. Яковлев А.Ю., **Рябиков Д.В.**, Рябикова М.А., Сутыгина Т.Ю., Никольский В.О. Синдром острой кишечной недостаточности после экспериментальной массивной кровопотери . // Материалы XV конгресса «Парентеральное и энтеральное питание», 15-16 ноября 2012 года, с. 73.

12. Протасов Д.М., Яковлев А.Ю., **Рябиков Д.В.**, Никольский В.О. Профилактика острой кишечной недостаточности в постгеморрагическом периоде. // Эфферентная терапия, 2014, том 20, № 1, с. 24.

13. Яковлев А.Ю., **Рябиков Д.В.**, Ниязатов А.А., Зайцев Р.Р., Заречнова Н.В., Чичканова А.С., Улитин Д.Н., Воронцов А.Ю. «Способ прогнозирования острой печеночной недостаточности». Патент на изобретение № 2521271 от 20.09.2014. Опубликовано 27.06.2014. Бюллетень «Изобретения. Полезные модели». № 18.

Список сокращений

АлАТ – аланинаминотрансфераза

АсАТ - аспартатаминотрансфераза

ВНиСММ – вещества низкой и средней молекулярной массы

ГГТП – гамма-глутамилтранспептидаза

ЛПС - липополисахарид

ОППН – острая почечно-печеночная недостаточность

ОППН – острая печеночно-почечная недостаточность

ЩФ – щелочная фосфатаза

РЕЗЮМЕ**кандидатской диссертации Д.В. Рябикова****«Патофизиологическое обоснование применения малатсодержащего раствора для профилактики повреждений печени и почек при острой кровопотере (экспериментальное исследование)»**

В представленном диссертационном исследовании проведено изучение влияния малатсодержащего раствора стерофундина изотонического на метаболические показатели крови и морфологические изменения в печени и почках при экспериментальной острой кровопотере. Эксперимент проводился на крысах, у которых моделировали острую кровопотерю и последующее восполнение гиповолемии раствором рингера и стерофундина изотонического. Изучалась динамика метаболических показателей крови в раннем постгеморрагическом периоде, оценивалась роль инфекционного эндотоксикоза в формировании повреждений печени и почек и исследовалось влияние применения малатсодержащего раствора на морфологические изменения печени и почек. Установлено, что включение малатсодержащего раствора стерофундина изотонического в инфузионную коррекцию гиповолемии способствует компенсации метаболических нарушений крови в постгеморрагическом периоде, эндотоксикоза, предупреждению гипоксических и реперфузионных повреждений печени и почек, некроза гепатоцитов, цитолитического синдрома печеночной недостаточности, снижает степень нарушений микроциркуляции в печени и почках, содержание липополисахарида и пресепсина в крови портальной и хвостовой вены.

SUMMARY**of D.V. Ryabikov`s PhD dissertation "Pathophysiological rationale for the use malatcontains solution for the prevention of damage to the liver and kidneys in acute blood loss (an experimental study)"**

In the presented thesis the study of the influence malatcontains solution of sterofundin isotonic on the metabolic blood parameters and morphological changes in the liver and kidneys in experimental acute blood loss. The experiment was conducted on rats, which simulated acute blood loss and subsequent replenishment of hypovolemia ringer's solution and sterofundin isotonic. Studied the dynamics of metabolic blood parameters in early post-hemorrhagic period, we evaluated the role of infectious endotoxemia in the formation of damage to the liver and kidneys and examined the impact of the application malatcontains solution on the morphological changes in the liver and kidneys. It is established that the inclusion of malatcontains solution of sterofundin isotonic infusion in the correction of hypovolemia contributes to compensation of metabolic disorders of blood in posthemorrhagic period of endotoxemia, prevention of hypoxic and reperfusion damage of the liver and kidney, necrosis of hepatocytes, cytolytic syndrome, liver failure, reduces the degree of microcirculation disorders in the liver and kidneys, the contents of lipopolysaccharide and presepine in the blood of the portal and tail vein.