

УДК: 616-006:616.33-006.6-089:612.017

ДИНАМИКА ПРОНИЦАЕМОСТИ КИШЕЧНИКА У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ В ПЕРИОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

А.Ю. Карпенко¹, Д.С. Цветков², М.В. Киселевский¹

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, г. Москва¹

ФГБУ ФНКЦ ФМБА, г. Москва²

115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: annayugalkina@gmail.com¹

Слизистая оболочка кишечника является защитным барьером организма, препятствующим проникновению в системный кровоток бактериальных агентов и их токсинов, вызывающих развитие воспалительной реакции. В работе оценена динамика кишечной проницаемости у онкологических и кардиохирургических больных в периоперационном периоде с помощью метода неметаболизируемых сахаров (лактолоза–маннитол). Выявлено, что уровень экскреции лактулозы и маннитола повышен у онкологических больных с развившимися послеоперационными осложнениями как до, так и после операции, что свидетельствует о повышенной кишечной проницаемости у данной группы пациентов. Можно предположить, что проникающий, вследствие повышенной кишечной проницаемости, в кровь бактериальный липополисахарид индуцирует ответ эффекторов врожденного иммунитета, на фоне уже активированной иммунной системы приводит к развитию системной воспалительной реакции. Поэтому оценка трансинтестинальной проницаемости может рассматриваться в качестве прогностического фактора неблагоприятного течения раннего послеоперационного периода у онкологических больных.

Ключевые слова: проницаемость кишечника, онкологические больные, послеоперационные осложнения.

DYNAMIC OF INTESTINAL PERMEABILITY IN CANCER PATIENTS DURING PERIOPERATIVE PERIOD

A.Yu. Karpenko¹, D.S. Tsvetkov², M.V. Kiselevsky¹

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow¹,

FSBI FSCC FMBA, Moscow²

24, Kashirskoye shosse, 115478-Moscow, Russia, e-mail: annayugalkina@gmail.com¹

Intestinal mucosa is a barrier, preventing bacteria and its derivatives from penetrating to organism, where it triggers inflammation. In this study the dynamic of intestinal permeability in cancer and cardio surgery patients during perioperative period is evaluated using dual sugar test (lactulose-mannitol). Lactulose and mannitol excretion ratio is increased in group of cancer patients with postoperative complications before and after surgery. This indicates an increased intestinal permeability in these patients. Probably increased permeability cause bacterial lipopolysaccharide translocation into blood, where it induces effectors of innate immunity, leading to system inflammation reaction due to already activated immunity. According to this, evaluation of intestinal permeability can be considered as a prognostic factor of unfavorable early postoperative period in cancer patients.

Key words: intestinal permeability, cancer patients, postoperative complications.

У онкологических больных в периоперационном периоде часто наблюдается увеличение содержания в крови бактериального эндотоксина – липополисахарида (ЛПС). Энтеротоксемия может быть обусловлена не только поступлением бактерий и их токсинов из первичного очага воспаления, но и усилением их транслокации через слизистые оболочки. Слизистая оболочка кишечника формирует эффективный барьер для микроорганизмов и токсинов [12]. Нарушение этого защитного механизма в случае увеличения кишечной проницаемости может привести к чрезмерной транслокации кишечных

бактерий и/или их токсинов в окружающие ткани и отдаленные органы [14]. Транзиторная бактериемия встречается довольно часто и сопровождается не только инвазивные, но и многие неинвазивные манипуляции и процедуры. Экспериментально было показано, что трансинтестинальное перемещение бактерий и токсинов наблюдается у пациентов с ожогами, шоком, обструкцией кишечника и после расширенных операций [7, 10, 13, 15, 17].

Следовательно, стрессовое воздействие на организм пациента во время операционного вмешательства может приводить к изменению барьерной

функции слизистых оболочек, прежде всего кишечника, и вызывать поступление в кровь бактерий и/или их токсинов, что, в свою очередь, инициирует каскад воспаления вследствие активации эффекторов врожденного иммунитета. Изучение механизмов такой инверсии иммунных реакций организма является в настоящее время одной из важнейших задач биомедицинских исследований, решение которой позволит понять патогенез развития послеоперационных гнойно-септических осложнений, а также выявить прогностические маркеры и разработать меры профилактики. Оценка целостности кишечного барьера является эффективным методом для диагностики и мониторинга степени повреждения слизистой оболочки кишечника. С этой целью широко используется измерение уровня экскреции с мочой неметаболизируемых сахаров, вводимых перорально [1, 11, 16].

Целью исследования являлось изучение изменения кишечной проницаемости у онкологических больных в периоперационном периоде.

Материал и методы

В исследование были включены 24 больных, из них рак желудка у 18 и толстой кишки у 6 чел., II–III стадий, которым проводилось хирургическое лечение в объеме: гастропанкреатодуоденальные резекции (n=3), гастрозэктомии (n=12), гемиколэктомии (n=9). Контрольной группой являлись пациенты кардиохирургического профиля (n=14), которым проводились операции по замене аортального (n=4) и митрального (n=2) клапанов, аортокоронарное (n=6) и маммарокоронарное (n=5) шунтирование. Исследования проводились с информированного согласия пациентов.

Кишечную проницаемость оценивали с помощью определения экскреции лактулозы и маннитола. Для этого больным перорально давали 30 мл 1,5 % раствора маннитола (4,5 г маннитола) и 30 мл препарата «Дюфалак» (20 г лактулозы), после чего в течение 6 ч собирали мочу, измеряли общий объем диуреза и отбирали пробу для дальнейшего исследования. Полученные пробы мочи хранили при -70°C .

У онкологических пациентов пробы мочи собирали за сутки до операции, на 1, 2 и 5-е сут после операции с целью оценки динамики трансинтестинальной проницаемости. У кардиохирургических больных мочу собирали накануне и на 1-е сут после

операции для сравнения исходных показателей кишечной проницаемости и влияния хирургического вмешательства.

Определение концентрации лактулозы проводили по методу Селиванова [12], маннитола – по методу Cogogan и Page [9]. Вычисляли процент экскретированных с мочой аналитов по следующей формуле:

$$CI = [D \times k \times V/m] \times 100 \%,$$

где D – оптическая плотность; k – коэффициент, полученный с помощью калибровочной кривой, равный 5,7337 для лактулозы и 0,586 для маннитола; V – объем диуреза, мл; m – масса аналита, мг (20 000 мг лактулозы, 4 500 мг маннитола).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критериев непараметрической статистики пакета Statistica 10. Для межгруппового сравнения применяли критерий Манна – Уитни ($p < 0,05$), для внутригруппового – Вилкоксона ($p < 0,05$). В качестве описательной статистики использовали медиану и размах квартилей ($25 \div 75 \%$).

Результаты исследования

Онкологические больные ретроспективно были разделены на 2 подгруппы: 1) с развившимися послеоперационными осложнениями (у 8 из 24 пациентов возникли следующие послеоперационные осложнения: острый панкреатит (n=6), пневмония (n=2), сепсис (n=1)); 2) без осложнений (n=16).

На начальном этапе проводилось сравнение показателей трансинтестинальной проницаемости в обеих группах до и через 1 сут после операции. При исследовании уровня выведения лактулозы оказалось, что на дооперационном этапе уровень экскреции данного сахара у онкологических больных с осложнениями был значимо выше, у кардиохирургических пациентов и онкологических больных без осложнений. После операции этот показатель значимо возрастал у кардиохирургических пациентов и у онкологических больных без осложнений. В группе онкологических больных с осложнениями исследуемый параметр имел недовольную тенденцию к увеличению ($p = 0,06$), однако существенно ($p < 0,05$) превышал аналогичные показатели у онкологических больных без осложнений и кардиохирургических пациентов. Процент выведения лактулозы в группе онкологических больных без осложнений значимо не отличался от

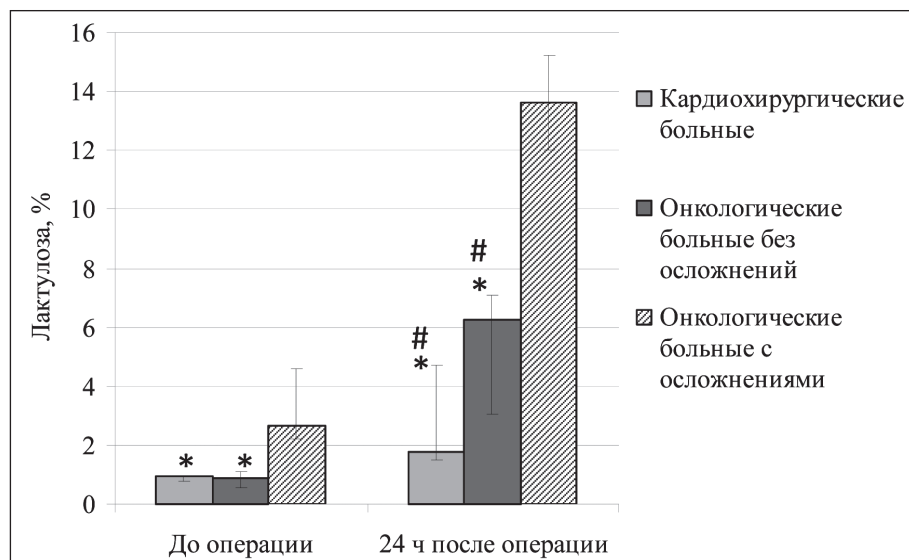


Рис. 1. Выведение лактулозы накануне и через 1 сут после операции у кардиохирургических больных, онкологических пациентов без послеоперационных осложнений и с осложнениями. Данные представлены в виде медианы и размаха квартилей; * – значимое межгрупповое отличие от показателей онкологических больных с осложнениями по критерию Манна – Уитни ($p < 0,05$); # – значимое внутригрупповое отличие от показателей до операции по критерию Вилкоксона ($p < 0,05$)

такового у кардиохирургических пациентов как до, так и после операции (рис. 1).

Процент выведения маннитола в группе онкологических больных с послеоперационными осложнениями исходно также значимо превышал показатели кардиохирургических больных и онкологических пациентов без осложнений. Экскреция маннитола у онкологических больных с послеоперационными осложнениями значимо увеличивалась через 1 сут после операции. Этот показатель значимо не отличался у кардиохирургических больных и онкологических пациентов без осложнений до и после операции; хирургическое

вмешательство также не приводило к достоверному изменению данного параметра в указанных группах (рис. 2).

Таким образом, результаты исследования согласуются с имеющимися литературными данными о повышении трансинтестинальной проницаемости в ответ на хирургическое вмешательство [7]. Рассматриваемое явление наблюдалось не только в группе онкологических больных, у которых в ходе операции нарушалась целостность желудочно-кишечного тракта, но и во время кардиохирургических вмешательств, не оказывающих непосредственного влияния на состояние кишечной стенки.

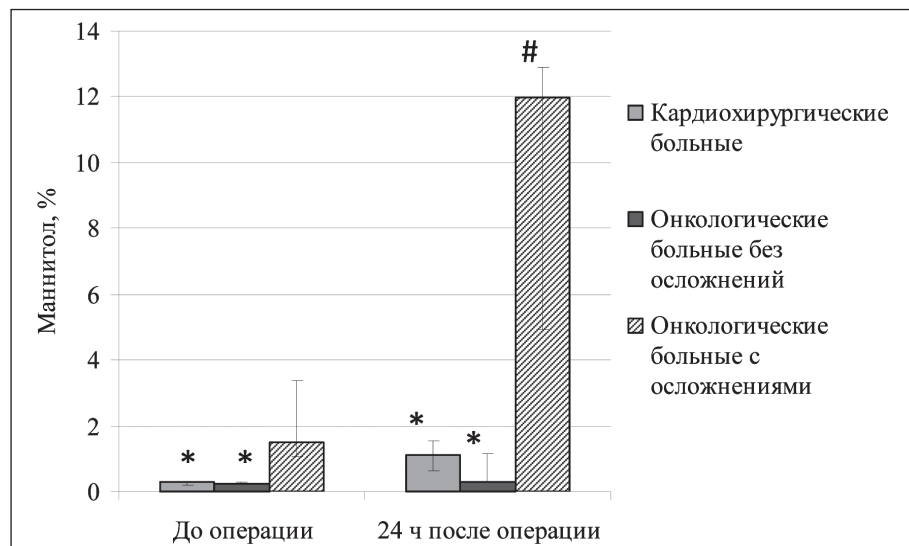


Рис. 2. Выведение маннитола накануне операции и на 1-е сут после операции у кардиохирургических больных и онкологических пациентов без послеоперационных осложнений и с таковыми. Данные представлены в виде медианы и размаха квартилей; * – значимое межгрупповое отличие от показателей онкологических больных с осложнениями по критерию Манна – Уитни ($p < 0,05$); # – значимое внутригрупповое отличие от показателей до операции по критерию Вилкоксона ($p < 0,05$)

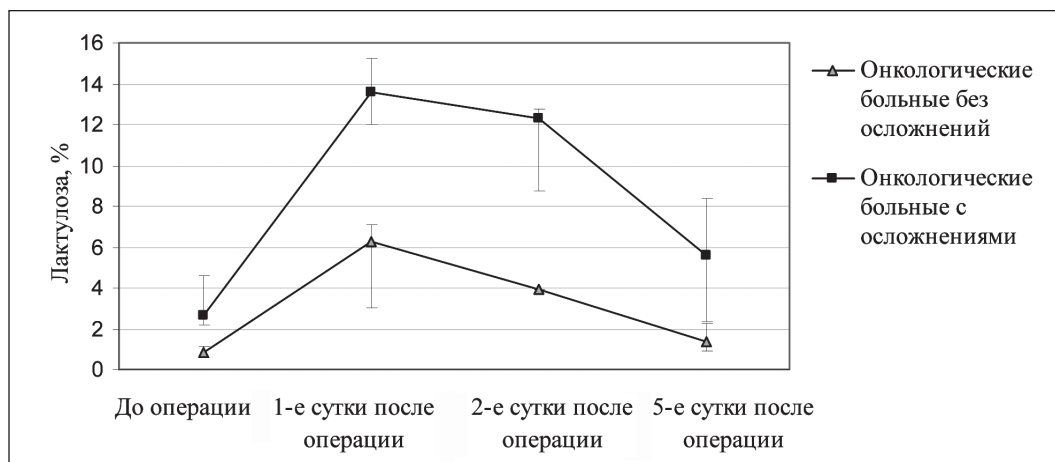


Рис. 3. Изменение уровня лактулозы, экскретированной с мочой в периоперационном периоде, у пациентов без послеоперационных осложнений и с таковыми. Данные представлены в виде медианы и размаха квартилей; * — значимое отличие между группами по критерию Манна – Уитни

Показатели кишечной проницаемости в группе онкологических больных без осложнений не отличались от таковых у кардиохирургических пациентов как до, так и после операции. Это позволяет предположить, что локализация опухоли в органах желудочно-кишечного тракта сама по себе не влияет на трансинтестинальную проницаемость. Однако исследуемые параметры были повышены в группе онкологических больных с послеоперационными осложнениями, что наблюдалось уже на дооперационном этапе.

У онкологических больных исследовалась динамика экскреции маннитола и лактулозы в раннем послеоперационном периоде. При изучении

уровня выведения лактулозы было установлено, что уровень ее экскреции в группе пациентов с осложнениями остается повышенным в течение 5 сут после операции, в то время как у больных без осложнений этот параметр на 5-е сут послеоперационного периода не отличается от исходных значений (рис. 3). Значения экскреции маннитола в группе с осложнениями были значительно выше, чем у пациентов без осложнений, только до и через 1 сут после операции, однако в последующем (2–5-е сут после операции) значимых отличий не выявлено (рис. 4). Такая динамика показателей свидетельствует о повышенной проницаемости кишечной стенки у пациентов с послеоперационными ослож-

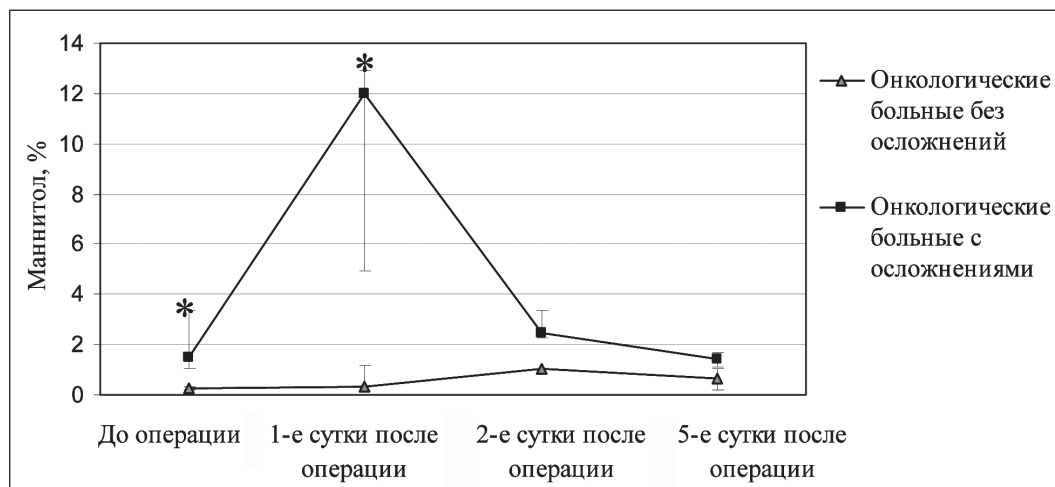


Рис. 4. Изменение уровня лактулозы, экскретированной с мочой в периоперационном периоде, у пациентов без осложнений и с таковыми. Данные представлены в виде медианы и размаха квартилей; * — значимое отличие между группами по критерию Манна – Уитни

нениями, что наблюдается уже на дооперационном этапе. В связи с этим трансинтестинальная проницаемость может рассматриваться как прогностический фактор развития послеоперационных гнойно-септических осложнений.

Обсуждение

Измерение экскреции с мочой неметаболизируемых сахаров, введенных перорально, широко используется для исследования кишечной проницаемости как при различных патологических процессах, так и в здоровом организме. Метод двух сахаров основан на том, что небольшие молекулы (маннитол, рамноза) проходят через слизистую оболочку кишечника трансцеллюлярным путем, а большие молекулы (лактоулоза, целлобиоза) – парацеллюлярным путем, через плотные контакты. Таким образом, возрастание уровня экскреции лактулозы свидетельствует о повышении проницаемости плотных контактов.

Межклеточные плотные контакты представляют собой комплекс из нескольких белков, формирование которого регулируется множеством факторов. Имеются данные об изменении числа плотных контактов в ответ на действие интерферона γ , фактора некроза опухоли α , интерлейкинов 1, 4, 6, 10, различных факторов роста. Механизмы такой регуляции связывают с влиянием вышеперечисленных цитокинов на реорганизацию актинового цитоскелета, что ведет к изменению структуры плотных контактов [8].

Известно, что для онкологических больных характерно повышенное содержание в крови различных цитокинов [3, 5], влияющих на систему межклеточных контактов и, соответственно, на проницаемость кишечника. Это, наряду с последующим стрессовым воздействием расширенного хирургического вмешательства, может стать причиной транслокации бактерий и/или их токсинов через кишечную стенку в системный кровоток, что может привести к развитию системной воспалительной реакции в раннем послеоперационном периоде.

Результаты настоящей работы свидетельствуют о повышенной кишечной проницаемости у онкологических больных с послеоперационными осложнениями в сравнении с кардиохирургическими пациентами и группой онкологических больных без осложнений. Это согласуется с данными других

авторов о повышенном уровне ЛПС и некоторых цитокинов у онкологических больных с сепсисом [2, 4]. Можно предположить, что проникающий вследствие повышенной кишечной проницаемости в кровь ЛПС, посредством толлподобных рецепторов индуцирует ответ эффекторов врожденного иммунитета [6], что на фоне уже активированной иммунной системы приводит к развитию системной воспалительной реакции. Поэтому оценка трансинтестинальной проницаемости может рассматриваться в качестве прогностического фактора неблагоприятного течения раннего послеоперационного периода у онкологических больных.

Выводы

В работе показано, что уровень экскреции лактулозы в группе онкологических больных с послеоперационными осложнениями выше, чем у пациентов без осложнений до операции, на 1-е и 5-е сут после операции. Уровень экскреции маннитола у онкологических пациентов с послеоперационными осложнениями выше, чем таковой у больных без осложнений, до операции и на 1-е сут после операции. Уровень экскреции лактулозы и маннитола у онкологических больных с послеоперационными осложнениями превышает показатели кардиохирургических пациентов как до операции, так и на 1-е сут после. Показатели трансинтестинальной проницаемости онкологических больных не отличаются от таковых в группе кардиохирургических пациентов до операции и через 24 ч после нее.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимова Н.Ю., Громова Е.Г., Кузнецова Л.С., Киселевский М.В. Прогностическое значение сыровоточного уровня липополисахарида и липополисахарид-связывающего белка у онкологических больных с сепсисом // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2011. № 2. С. 82–84.
2. Анисимова Н.Ю., Громова Е.Г., Кузнецова Л.С., Киселевский М.В. Содержание бактериального эндотоксина и цитокинов в крови онкологических больных с послеоперационными осложнениями // Аллергология и иммунология. 2010. Т. 11 (4). С. 310–313.
3. Плужникова Н.А., Анисимова Н.Ю., Иванов Ю.В., Цветков Д.С., Нечаев Д.С., Сошникова Е.В., Ялбуева Т.А., Киселевский М.В. Факторы прогноза течения раннего послеоперационного периода больных, оперированных по поводу новообразований пищевода и желудка // Российский иммунологический журнал. 2012. № 4. С. 370–375.
4. Плужникова Н.А., Иванов Ю.В., Цветков Д.С., Киселевский М.В. Прогностические факторы гнойно-септических осложнений в раннем послеоперационном периоде у онкологических больных // Российский биотерапевтический журнал. 2013. № 2. С. 66–66а.
5. Плужникова Н.А., Цветков Д.С., Киселевский М.В. Исследование клеточного иммунитета для выявления факторов прогноза гнойно-септических осложнений в раннем послеоперационном периоде у онкологических больных // Российский биотерапевтический журнал. 2013. № 2. С. 66.

6. Чикилева И.О., Караулов А.В., Анисимова Н.Ю., Киселевский М.В. Двойственная роль толлподобных рецепторов в регуляции противоопухолевого иммунитета // Иммунология. 2010. № 1. С. 52–55.

7. Ando T., Brown R.F., Berg R.D., Dunn A.J. Bacterial translocation can increase plasma corticosterone and brain catecholamine and indoleamine metabolism // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2000. Vol. 279 (6). P. 2164–2172.

8. Capaldo C.T., Nusrat A. Cytokine regulation of tight junctions // Biochim. Biophys. Acta. 2009. Vol. 1788 (4). P. 864–871. doi: 10.1016/j.bbame.2008.08.027.

9. Corcoran A.C., Page I.H. A method for the determination of mannitol in plasma and urine // Fed. Proc. 1946. № 5. P. 130.

10. Harris C.E., Griffiths R.D., Freestone N., Billington D., Atherton S.T., Macmillan R.R. Intestinal permeability in the critically ill // Intensive Care Med. 1992. Vol. 18 (1). P. 38–41.

11. Miki K., Moore D.J., Butler R.N., Southcott E., Couper R.T., Davidson G.P. The sugar permeability test reflects disease activity in children and adolescents with inflammatory bowel disease // J. Pediatr. 1998. Vol. 133 (6). P. 750–754.

12. Nagpal K., Minocha V.R., Agrawal V., Kapur S. Evaluation of intestinal mucosal permeability function in patients with acute pancreatitis // Am. J. Surg. 2006. Vol. 192 (1). P. 24–28.

13. O'Boyle C.J., MacFie J., Mitchell C.J., Johnstone D., Sagar P.M., Sedman P.C. Microbiology of bacterial translocation in humans // Gut. 1998. Vol. 42 (1). P. 29–35.

14. Papa M., Halperin Z., Rubinstein E., Orenstein A., Gafin S., Adar R. The effect of ischemia of the dog's colon on transmural migration of bacteria and endotoxin // J. Surg. Res. 1983. Vol. 35 (3). P. 264–269.

15. Sagar P.M., MacFie J., Sedman P., May J., Mancey-Jones B., Johnstone D. Intestinal obstruction promotes gut translocation of bacteria // Dis. Colon Rectum. 1995. Vol. 38 (6). P. 640–644.

16. Travis S., Menzies I. Intestinal permeability: functional assessment and significance // Clin. Sci. (Lond). 1992. Vol. 82 (5). P. 471–488.

17. Winchurch R.A., Thupari J.N., Munster A.M. Endotoxemia in burn patients: levels of circulating endotoxins are related to burn size // Surgery. 1987. Vol. 102 (5). P. 808–812.

Поступила 30.09.14

REFERENCES

1. Anisimova N.Ju., Gromova E.G., Kuznecova L.S., Kiselevskij M.V. Prognostic value of lipopolysaccharide and lipopolysaccharide-binding protein serum levels in cancer patients with sepsis // Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii. 2011. № 2. P. 82–84. [in Russian]

2. Anisimova N.Ju., Gromova E.G., Kuznecova L.S., Kiselevskij M.V. The level of bacterial endotoxin in the blood of cancer patients having postoperative complications // Allergologija i immunologija. 2010. Vol. 11 (4). P. 310–313. [in Russian]

3. Pluzhnikova N.A., Anisimova N.Ju., Ivanov Ju.V., Cvetkov D.S., Nechaev D.S., Soshnikova E.V., Jalbueva T.A., Kiselevskij M.V. Predictors of early postoperative period of patients operated on for tumors of the esophagus and stomach // Rossijskij immunologicheskij zhurnal. 2012. № 4. P. 370–375. [in Russian]

4. Pluzhnikova N.A., Ivanov Ju.V., Cvetkov D.S., Kiselevskij M.V. Prognostic factors for purulent-septic complications in early postoperative period in cancer patients // Rossijskij bioterapevticheskij zhurnal. 2013. № 2. P. 66–66a. [in Russian]

5. Pluzhnikova N.A., Cvetkov D.S., Kiselevskij M.V. The study of cellular immunity for identification of prognostic factors in the treatment of purulent-septic complications in early postoperative period in cancer patients // Rossijskij bioterapevticheskij zhurnal. 2013. № 2. P. 66. [in Russian]

6. Chikileva I.O., Karaulov A.V., Anisimova N.Ju., Kiselevskij M.V. The Dual role of Toll-receptors in regulation of antitumorous immunity // Immunologija. 2010. № 1. P. 52–55. [in Russian]

7. Ando T., Brown R.F., Berg R.D., Dunn A.J. Bacterial translocation can increase plasma corticosterone and brain catecholamine and indoleamine metabolism // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2000. Vol. 279 (6). P. 2164–2172.

8. Capaldo C.T., Nusrat A. Cytokine regulation of tight junctions // Biochim. Biophys. Acta. 2009. Vol. 1788 (4). P. 864–871. doi: 10.1016/j.bbame.2008.08.027.

9. Corcoran A.C., Page I.H. A method for the determination of mannitol in plasma and urine // Fed. Proc. 1946. № 5. P. 130.

10. Harris C.E., Griffiths R.D., Freestone N., Billington D., Atherton S.T., Macmillan R.R. Intestinal permeability in the critically ill // Intensive Care Med. 1992. Vol. 18 (1). P. 38–41.

11. Miki K., Moore D.J., Butler R.N., Southcott E., Couper R.T., Davidson G.P. The sugar permeability test reflects disease activity in children and adolescents with inflammatory bowel disease // J. Pediatr. 1998. Vol. 133 (6). P. 750–754.

12. Nagpal K., Minocha V.R., Agrawal V., Kapur S. Evaluation of intestinal mucosal permeability function in patients with acute pancreatitis // Am. J. Surg. 2006. Vol. 192 (1). P. 24–28.

13. O'Boyle C.J., MacFie J., Mitchell C.J., Johnstone D., Sagar P.M., Sedman P.C. Microbiology of bacterial translocation in humans // Gut. 1998. Vol. 42 (1). P. 29–35.

14. Papa M., Halperin Z., Rubinstein E., Orenstein A., Gafin S., Adar R. The effect of ischemia of the dog's colon on transmural migration of bacteria and endotoxin // J. Surg. Res. 1983. Vol. 35 (3). P. 264–269.

15. Sagar P.M., MacFie J., Sedman P., May J., Mancey-Jones B., Johnstone D. Intestinal obstruction promotes gut translocation of bacteria // Dis. Colon Rectum. 1995. Vol. 38 (6). P. 640–644.

16. Travis S., Menzies I. Intestinal permeability: functional assessment and significance // Clin. Sci. (Lond). 1992. Vol. 82 (5). P. 471–488.

17. Winchurch R.A., Thupari J.N., Munster A.M. Endotoxemia in burn patients: levels of circulating endotoxins are related to burn size // Surgery. 1987. Vol. 102 (5). P. 808–812.