кого уровня гигиены ротовой полости, достигнутого на этапе лечения.

Заключение.

На основании проведенных исследований авторы установили ярко выраженный противовоспалительный эффект от проводимой терапии как в группе с применением Метрагил Дента, так и в группе с использованием аскорбата хитозана с метронидазолом. Однако клиническая эффективность терапии гелем аскорбата хитозана с метронидазолом оказалась достоверно выше, чем от традиционной терапии с Метрагил Дента. Следовательно, предложенная нами методика применения гелевой формы водорастворимого аскорбата хитозана с метронидазолом в комплексном лечении хронического катарального гингивита позволяет в короткий срок снять воспалительный процесс в десне и может быть рекомендован к широкому применению в стоматологической практике.

ХИТОЗАНОВАЯ ЭНТЕРОСОРБЦИЯ ПРИ ОСТРОМ УРЕМИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Большаков И.Н.
Красноярская государственная медицинская академия, Красноярск

Основное место в лечении острой почечной недостаточности занимают методы экстраренальной детоксикации. К этим методам относятся: гемоперфузия, перитонеальный диализ, искусственная почка и кишечный диализ. В 1974 г Kolff, применяя перфузию изолированного отдела тонкой кишки, впервые доказал возможность удаления уремических метаболитов через желудочно-кишечный тракт (ЖКТ). В литературе имеются единичные сведения, указывающие на возможность использования ЖКТ в качестве заместительного органа в выведении уремических токсинов из организма и метаболической коррекции почечной недостаточности. Поиск и разработка новых энтеросорбентов является одной из фундаментальных задач эфферентной медицины.

Большой интерес в настоящее время представляют водорастворимые и водонерастворимые препараты хитозана, дающие вязкие растворы и гели. Проведение детоксикации организма через желудочно-кишечный тракт путем использования сеансов кишечного диализа хитозаном по сравнению с другими известными сорбентами имеет ряд преимуществ: 1. Хитозан имеет уникальную поликатионную фибриллярную структуру и обеспечивает адгезионное сродство к материалам клеточных стенок. 2. Хитозан имеет два типа реакционно-способных групп, создающих возможность проведения более разнообразной их модификации, осуществление строго направленного синтеза производных по OH- и NH_2-группам. Этот линейный полиамин имеет высокую частоту реактивных OH- и NH_2-групп, может быть нерастворим и растворим в воде при различных pH среды. Дополнительно протонированная аминогруппа является высокоактивной. Эти свойства хитозана позволяют по-новому подойти к коррекции внутренней среды человека, ответственной за детоксикационную функцию. 3. Хитозан является полисахаридом органического происхождения и может использоваться в виде геля с высокой текучестью, обладающего низким раздражающим действием на слизистую оболочку кишки, мукоадгезивен, высоко биосовместим, существенно повышает биодоступность труднорастворимых веществ в крови, биодеградирует.

Известно взаимодействие положительно заряженных мукоадгезивных микросфер хитозана с отрицательно заряженными гликопротеидами слизи. Степень адсорбции слизи пропорциональна абсолютным значениям положительного Z-потенциала микросфер хитозана и рассеивающего Z-потенциала гликопротеидов слизи. Показана работа хитозана, как усиливающего агента, для векторной проницаемости кишечного эпителия на примере функционирования моноклеточного слоя Caco-2 клеток, подобных кишечному эпителию. Сделан вывод - хитозан не влияет на проницаемость кишечного эпителия при нейтральной pH среды, а в кислой среде из-за положительного заряда хитозан может взаимодействовать с анионными компонентами гликопротеидов на поверхности эпителиальных клеток и вызывать проницаемость кишечного эпителия. В этой ситуации меняется трансэпителиальная электрорезистентность и электроустойчивость эпителиальных клеток. Присутствие хитозана на клеточной поверхности слизистой оболочки изменяет топографию этой поверхности. Полимер абсорбируется на поверхности клетки и изменяет ее рельеф по сравнению с контрольными веществами. При наличии свободных аминогрупп как свободный хитозан, так и его солевые формы независимо от pH эффективно повышают абсорбцию белков через слизистую оболочку. Гель хитозана в концентрации 0,5% вызывает слабое повреждение мембраны слизистой оболочки, на что указывают выход в среду следовых количеств лактатдегидрогеназы. Объяснение факта увеличения парацеллюлярного транспорта веществ находят в реакции цитоскелета эпителия. В результате локального перераспределения F-актина изменяется структура и проницаемость апикальных сегментов клеток кишечного эпителия с сохранением изначальной проницаемости базальных мембран. В результате неравномерной и массовой контракции мембран образуются расширенные межклеточные контакты и растет околоклеточная проницаемость маркерных молекул различной молекулярной массы. Дополнительно известно, что при контакте клеток с хитозановым гелем увеличивается активность этих клеток на полимерной подложке по сравнению с активностью клеток без присутствия хитозана. Высокая молекулярная масса и большое количество глутамата хитозана снижают продолжительность транспорта. Карбогидратная основа хитозана взаимодействует с белками клеточных мембран. В комплексе с полифосфатом хитозан легко образует связи с гидрофильными белками клеточной поверхности. Такие взаимодействия не носят ионного характера и играют важную роль в опосредованной транспортировке веществ клетками. Молекулярный диапазон и вязкость полимеров влияют на морфологическую картину кишки.

Анализ изучения компенсаторных возможностей желудочно-кишечного тракта в выведении уремических токсинов из организма в условиях острого уремического синдрома при проведении интенсивного кишечного диализа гелевой формой мелкодисперсного хитозана показал перспективность применения этого класса сорбентов.

В связи с такой постановкой задачи проведено экспериментальное моделирование уремии на белых крысах линии Wistar массой 180-200 г. Уремический синдром развивался после двухстороннего изолированного удаления почек через лапаротомический разрез под нейролептанальгезией (внутрибрюшинное введение кетамина). В послеоперационном периоде животные получали через желудочный зонд 2% гели контрольных и опытных матриц энтеросорбентов в объеме по 1 мл через каждые 3 часа. В качестве контрольных энтеросорбентов применялись сефадексы G-25 и G-200 (сшитые декстраны) и мелкокристаллическая карбоксиметилцеллюлоза. В качестве опытных матриц энтеросорбентов использованы гели мелкодисперсного хитозана с ММ 10-200 kD и степенью деацетилирования (СД) 75%-95%. Выведение животных из эксперимента проводилось в терминальный период. Результаты показали, что постоянный энтеродиализ увеличивает выживаемость крыс. Лучший результат отмечен при использовании мелкодисперсного хитозана молекулярной массой 180-200 kD и степенью деацетилирования 75%, хотя положительный эффект оказывали все использованные марки полимера. Выживаемость в этой группе животных составила 93,5±0,79 часов и сопровождалось улучшением общего состояния экспериментального животного. Контрольные животные, не получавшие энтеросорбенты, выживали только в течение 47,2±0,30 часов. Анализ метаболических нарушений при развитии аренального синдрома проведен на 63 крысах популяции Wistar. Первую группу составили интактные животные (контроль 1), во второй группе находились крысы с двухсторонним изолированным удалением почек, не получавшие энтеросорбенты (контроль 2). В третью (опытную) группу животных входили крысы, получавшие хитозан с ММ 180-200 kD и степенью дезацетилирования 75 % в раннем послеоперационном периоде по 1 мл через каждые 3 часа. Выведение животных из эксперимента осуществлялось через 8, 16, 24 и 48 часов. Оценивались биохимические показатели сыворотки крови и центрифугата химуса тонкой кишки: мочевина, креатинин, общий белок, общий билирубин, калий, натрий, хлор (Hitachi 912, Japan). Проводился забор начального и конечного отделов тонкой и толстой кишки для качественного и цифрового компьютерного морфологического исследования.

В контрольной группе (контроль 2) по сравнению с группой 1 происходят изменения в биохимических показателях сыворотки крови, отмеченные уже в первые 8 часов уремии. Через 8 часов заболевания мочевина нарастает в 2,3 раза, через 16 часов увеличивается в 5,5 раза, через 24 часа - в 6,7 раза и к 48 часам - в 8,2 раза ($p<0,001$). Креатинин в первые 8 часов заболевания увеличивается в 1,5 раза, а к 16 часам возрастает в 3,5 раза, к 24 часам концентрация составляет в 5 раз превышающую исходную и к 48 часам увеличивается в 6 раз ($p<0,001$). Общий билирубин через 8 часов заболевания не отличается от контроля ($t=0,28$, $p=0,79$), в последующие 16 - 24 часа увеличивается в 3-3,4 раза и к 48 часам нарастает в 5,6 раза. В исследуемой группе, несмотря на получение хитозана с диетой, по сравнению с группой 1 происходит прогрессирование уремии. Однако скорость нарастания интоксикации существенно ниже, чем в группе 2. Если в динамике принять уровни метаболитов в группе 2 за 100%, то в группе 3 нарастание мочевины в сыворотке крови через 8 часов заболевания составляет только 75%, через 16 часов – 82%, через 24 часа – 73%, через 48 часов – 63%. Подобная динамика уровня креатинина строится следующим образом: 8 часов уремии – 71%, 16 часов – 71%, 24 часа – 45%, 48 часов – 35%. Нарастание уровня общего билирубина в первые 8 часов уремического синдрома не происходит, что указывает на период относительной компенсации функции печеночных клеток и отсутствие массовой их дезинтеграции. Однако 16 часовой период заболевания характеризуется существенным ростом этого метаболита в 3,4 раза по сравнению с интактным контролем. Присутствие в кишке гелевого хитозана обеспечивает снижение темпа нарастания уровня билирубина на 14% (6,8± 0,05 мкмоль/л против 7,9± 0,62 мкмоль/л в контроле 2). Однако при дальнейшем прогрессировании аренального синдрома энтеросорбция полимером не изменяет профиль билирубинемии, и основные события развиваются в интерстициальных полостях.

Электролитный состав крови при некомпенсированной уремии характеризуется гипохлоремией (к 48 часам снижение составляет 23%), гипонатриемией (через 48 часов заболевания снижение составляет 5%) и гиперкалиемией (через 48 часов уремии увеличение составляет 61%). Постоянная почасовая энтеросорбция хитозаном практически не меняет профиля гипохлоремии, гипонатриемии и гиперкалиемии.

Известно, что в толстую кишку из тонкой попадает примерно ¼ содержания всей мочевины, проникшей из крови в кишку. Остальные ¾ объема мочевины в тонкой кишке подвергаются гидролизу с образованием аммиака, который резорбируется в кровь. Та часть мочевины, которая поступает в толстую кишку, также подвергается гидролизу под действием микробных ферментов с образованием аммиака. Таким образом, в экскрементах уровень мочевины в норме низкий или не регистрируется. При биохимическом исследовании центрифугата химуса тонкой кишки во второй группе крыс отмечается рост мочевины в первые 8 часов заболевания в 1,8 раза и поддерживается в течение первых суток. Через 48 часов уровень метаболита возрастает в 9,2 раза. Уровень креатинина через 8 часов растет в 9,4 раза, к 16 часам - в 12,2 раза, через 24 часа - в 17 раз и к 48 часам - в 31раз. Общий билирубин в первые 8 часов заболевания растет в 23,8 раза, через 16 часов - в 39,2 раза, к 24 часам составляет в 65 раз больше от исходного значения и к 48 часам - в 182 раза.

Формирование хитозановой пленки на эпителиальном покрове слизистой оболочки тонкой кишки, а также смешивание с ее содержимым позволяет задер-

живать рост уровня мочевины на 24 часа. В течение первых суток энтеросорбции содержание метаболита находится в переделах нормы и составляет 2,7± 0,04 ммоль/л, а через 48 часов кормления полимером соответствует уровню у контрольных животных в период первых 24 часов заболевания. Уровни креатинина в кишечном содержимом в результате введенного хитозана составляют только 48% от контроля 2 (8 часов наблюдения), 52% (16 часов наблюдения), 65% (24 часа наблюдения), 45% (48 часов наблюдения). Таким образом, степень компенсации энтеросорбентом по клиренсу (исключение из метаболизма как субстрата) креатинина составляет в среднем 52%.

Анализ общей фракции билирубина в кишечном фильтрате указывает на формирование мощного градиента концентрации по сравнению с уровнем в сыворотке крови. Суточная компенсация уремического синдрома в результате энтеросорбции сопровождается образованием высоких концентраций билирубина в тонкой кишке, превышающей в 4,5 раза некомпенсированную уремию уже через 8 часов послеоперационного периода (831± 7,8 мкмоль/л против 171± 0,2 мкмоль/л). Через 16-24 часа развития синдрома уремии концентрирование билирубина в просвете кишки сохраняется и превышает контроль 2 в 3,9 –3,2 раза. И только терминальный период у контрольных животных (послеоперационный период 48 часов) уравнивает билирубининтестинальные концентрации. Весьма высокие концентрации в кишке общей фракции билирубина и колоссальный градиент концентраций в сыворотке крови и химусе кишки при введении хитозана может быть объяснен с двух позиций. Первая позиция – это мощный желчегонный эффект (усиленная работа гладкой мускулатуры внепеченочных желчных протоков и тонкой кишки, что всегда характерно при действии продуктов целлюлозы, и массивное поступление метаболита с желчью в результате лавинной гибели печеночных клеток. Вторая позиция – это активное и широкое комплексообразование полимера-поликатиона с билирубином-анионом на основе, прежде всего, электростатических взаимодействий. Активный дренаж печеночного массива при уремии имеет место уже в самые ранние сроки наблюдения.

Сравнительный анализ электролитов в сыворотке крови и фильтрате химуса тонкой кишки указывает на их активный транспорт через ее стенку, создаваемый хитозановой мембраной, выстилающей эпителиальный покров. Гипонатриемия и гипохлоремия в сыворотке крови сочетается с высокими уровнями в кишечном химусе. Желудочно-кишечный тракт в условиях аренального синдрома выполняет роль выделительной системы. Хитозановый полимер выполняет роль активной дополнительной мембраны, организующей усиленный транспорт через эпителиальный покров интестинальной трубки. Кроме того, хитозановый гель формирует барьер ретроградного потока электролитов в сосудистое русло. Гиперкалиемия и высокая концентрация ионов калия в химусе –это результат дисфункции шоковых органов при аренальном синдроме: печени, крови, желудка, кишки, легких. Результатом лизиса клеточного массива тканей является выход ионов калия в интестинальное пространство и сосудистое русло. В случае введения хитозана в кишку активно связываются электролиты и удерживаются в жесткой цепи полимера. Однако паралитическая кишечная непроходимость, как следствие шоковой кишки, приводит к скоплению агрессивного химуса в ее просвете без признаков дренирования и доступности свежих порций полимера. Такое обстоятельство к периоду 48 часов является причиной начала стадии декомпенсации.

Таким образом, программированный энтеродиализ хитозаном в условиях аренального синдрома способен продлевать стадию компенсации на 100% в результате существенного перераспределения агрессивных компонентов метаболизма между периферической кровью и шоковой кишкой. Отсутствие условий активного дренирования агрессивной среды, связанной с полимером, из интестинальной трубки не позволяет увеличивать стадию компенсации.

Известно, что двухстороннее изолированное удаление почек в эксперименте сопровождается увеличением эндогенной интоксикации и развитием воспаления кишки. Морфологическая картина ярко развивается, главным образом, в ее слизистой оболочке. Эти изменения ведут к расстройству функций органа: двигательной, всасывательной, выделительной, секреторно-пищеварительной. При микроскопическом исследовании срезов тонкой кишки во второй группе животных подтверждается гиперемия, отечность слизистой оболочки, десквамация с отслаиванием эпителиального покрова, регистрируются поверхностные некрозы слизистой оболочки, обнаруживается увеличение числа клеток бокаловидного эпителия, содержащих большое количество слизи. Повреждения слизистой оболочки соответствуют высокому уровню мочевины в кишечном содержимом и высокой концентрации углекислого аммония - прямых ингредиентов, вызывающих раздражение и некроз. При нарастании процесса эндогенной интоксикации воспаление может не ограничиваться слизистой оболочкой, нередко в подслизистом слое регистрируется отек, расширенные и переполненные кровью сосуды, периваскулярные лимфо-лейкоцитарные инфильтраты, лимфоидные фолликулы. В мышечных слоях наблюдается воспалительный отек, гиперплазия миоцитов и инфильтрация мелкими клетками лимфоидного типа, реже лейкоцитами. Воспалительный процесс может иногда распространяться до серозной оболочки. Развивается клиника катарального острого энтероколита.

При сравнительном анализе морфологических срезов отделов кишки в 3 группе отмечается сохранение слизистой оболочки тонкой и толстой кишки, выражающееся в наличии зон регенерации клеток эпителия слизистой оболочки, снижении количества бокаловидных клеток. В подслизистом слое сохраняется умеренно выраженный отек и преобладающее количество эозинофилов над лейкоцитами.

Таким образом, основной механизм детоксикации хитозана проявляется в образовании, с одной стороны, надежного барьера профузной проницаемости кишечной стенки при ее остром воспалении благодаря адгезии полимера к слизистой оболочке, с другой стороны, активной абсорбции из сосудистого русла и кишечного химуса токсических метаболитов благодаря его высокому положительному заряду. Длительное

надежное пристеночное дренирование кишечной стенки является определяющим в характере воспалительной реакции. В результате таких воздействий кишечная стенка выполняет роль избирательной полупроницаемой мембраны, обеспечивающей продолжительную компенсацию нарушенного метаболизма.

ХИТОЗАНОВЫЙ ЭНТЕРОДИАЛИЗ ПРИ ДЕСТРУКТИВНОЙ ФОРМЕ ПАНКРЕАТИТА

Большаков И.Н., Приходько Е.А.
ГОУ ВПО «Красноярская государственная медицинская академия», Красноярск

Многоэтапная система контроля поддержания постоянства энтеральной среды дает сбои при критических состояниях, патологических процессах в желудочно-кишечном тракте, различного рода токсемиях, сопровождающихся нарушениями процессов секреции и всасывания. Возрастает нагрузка на другие органы детоксикации и метаболической коррекции: печень, легкие, почки, кожу. В свою очередь, нарушение функции этих органов и накопление в крови недоокисленных продуктов метаболизма ведет к повышению их выделения в просвет желудочно-кишечного тракта. Посредством такого взаимодействия органов и систем на фоне относительной функциональной специализации возможны перераспределение метаболической нагрузки и усиление роли желудочно-кишечного тракта в детоксикации, выведении продуктов обмена, включение кишки в дополнительные звенья регуляции гомеостаза. Эту способность можно усилить путем введения энтеросорбентов, связывающих агрессивные компоненты химуса. С начала серийного выпуска модифицированных сорбентов энтеросорбция привлекла внимание клиницистов простотой выполнения. В основе метода лежит возможность обратного извлечения токсических веществ из крови в кишку и дальнейшее их связывание на сорбентах.

Большой интерес представляют водорастворимые и водонерастворимые препараты хитозана, дающие вязкие растворы и гели. Хитозан имеет уникальную линейную поликатионную фибриллярную структуру и обеспечивает адгезионное сродство к компонентам клеточных мембран. Хитозан имеет два типа реакционноспособных групп, создающих возможность проведения более разнообразной их модификации, осуществление строго направленного синтеза производных по OH- и NH_2-группам. Дополнительно протонированная аминогруппа (NH3+) является высокоактивной. Хитозан является полисахаридом органического происхождения. Высокая биосовместимость, нетоксичность, даже в больших дозах, биодеградабельность, низкое раздражающее действие на слизистую оболочку кишки полимера хитозана и его химических производных открывают широкие возможности их использования при лечении синдрома эндогенной интоксикации. Необходимо отметить высокую адсорбционную активность хитозана при переходе его из растворимого в коллоидное состояние в двенадцатиперстной кишке, где среда постепенно изменяется от кислой до нейтральной и слабощелочной. Чем ниже молекулярная масса хитозана, тем меньше размер его полимерной молекулы, тем легче ему обнаружить точки взаимодействия с глобулой фермента, необходимые для образования межмолекулярного комплекса. При этом степень связывания аминогрупп с ферментом увеличивается и пропорционально возрастает активность биокатализатора. По мере увеличения молекулярной массы хитозана степень связывания фермента с полисахаридом уменьшается вследствие возникновения стерических препятствий при подходе более объемных молекул полимера к биокатализатору.

Известно, что мукоадгезивный эффект хитозана формирует эффект перфузии через эпителиальный слой клеток. Если контакт хитозана с эпителиальными клетками происходит непосредственно без прослойки компонента слизи, то эффект абсорбции веществ, включая и плохо растворимые субстанции, становится высоким. Слой слизи выполняет барьерную функцию. Степень замещения ацетильных групп на аминные и величина молекулярной массы полимера играют существенную роль в активности направленного транспорта веществ. Установлено с помощью ^{14}C-маннитола и ^{14}C-полиэтиленгликоля усиленное проникновение через монослой клеток кишечного эпителия этих веществ в сторону хитозана. Градиент проницаемости в сторону гидрохлорида хитозана возрастает в 34 раза, глутамата хитозана – в 25 раз, N-триметилхитозан хлорида – в 11 раз. При повышении концентрации полимера проницаемость веществ увеличивается. Выявлено, что процесс проницаемости заключается в открытии плотных межклеточных контактов слизистой оболочки, что существенно усиливает околоклеточный транспорт. Важными факторами является заряд и плотность полимера, структура хитозана и его производные. Эти физико-химические свойства определяют эффективность абсорбции. При повышении степени положительного заряда в полимере усиливается проницаемость гидрофильных макромолекул, таких как полипептиды и белки. Повышение степени дезацетилирования хитина до 40-60% приводят к росту транспорта мембранопроникающей флюоресцентной метки. Усиление транспорта сопровождается переносом веществ, состоящих с пептидами в комплексе. Кроме того, усиление абсорбции гидрофильных веществ через эпителиальный слой кишки зависит от pH среды. При pH<7,0 в присутствии гидрохлорида или глутамата хитозана активная трансэпителиальная абсорбция веществ происходит в верхних отделах тонкой кишки. При увеличении ионной силы среды (pH>7,0) интенсивность абсорбции смещается в нижний отдел тонкой кишки и толстую кишку. Увеличение степени дезацетилирования (СД) хитозана до 0,85-0,99 еще больше усиливает околоклеточный транспорт и эффект абсорбции веществ. В этих условиях высокая абсорбция сочетается с низкой токсичностью. Во всех случаях увеличение концентрации полимера в тонкой кишке приводит к повышению проницаемости эпителия. При этом обратный транспорт пептидов через эпителиальный покров слизистой оболочки кишки в сторону заряженного хитозана будет сопровождаться перераспределением и связыванием токсического материала. Кроме того,