

Энтеральное введение трибутирина как компонента нутритивной поддержки в коррекции нарушений электрической активности тонкой кишки при экспериментальной эндотоксемии

Е.А. Кислякова, Н.С. Тропская, Т.С. Попова

ГБУЗ г. Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

Контактная информация: Кислякова Екатерина Александровна, kisliakovakatia@mail.ru

Исследована электрическая активность тонкой кишки крыс, которым внутривенно вводили 200 мкг/кг липополисахарида *E. coli*. Показано, что нарушения в генерации мигрирующего миоэлектрического комплекса наблюдаются на протяжении 96-ти ч после введения липополисахарида. Применение энтерального введения трибутирина укорачивало общие сроки восстановления мигрирующего миоэлектрического комплекса до 48-ми ч.

Ключевые слова: трибутирин, мигрирующий миоэлектрический комплекс, тонкая кишка, эндотоксемия.

Введение

Известно, что мигрирующий миоэлектрический комплекс (ММК) является основным маркером электрической активности тонкой кишки у здоровых животных. Период цикла ММК составляет 90-120 мин у человека и собак и 10-20 мин – у крыс [10]. Цикл ММК имеет три фазы. Фаза I (покоя) характеризуется относительным отсутствием спайковых потенциалов по сравнению с другими фазами, что соответствует отсутствию сократительной активности. В фазу II (нерегулярной активности) происходит увеличение интенсивности спайковых потенциалов, но они регистрируются не на каждой медленной волне. В эту фазу наблюдаются сегментирующие и маятникообразные сокращения. Фаза III (регулярной, ритмической активности)

характеризуется внезапным и стабильным появлением пачек высокоамплитудных спайковых потенциалов на каждой медленной волне. Фаза III соответствует пропульсивной перистальтике. Окончание фазы III характеризуется внезапным исчезновением пачек спайковых потенциалов [10]. Соотношение фаз ММК при различных патофизиологических ситуациях претерпевает множественные изменения, вплоть до исчезновения фаз.

При экспериментальной эндотоксемии, вызванной внутривенным введением липополисахарида (ЛПС) *E. coli*, наблюдаются существенные нарушения электрической активности тонкой кишки. Так, в работе J. Cullen и соавт. [1] показано, что введение ЛПС *E. coli* (0,2 мг/кг, в/в) собакам приводило к исчезновению ММК в течение двух суток.

В настоящее время накоплено достаточное количество фактов, свидетельствующих о том, что в механизмах нарушений моторики тонкой кишки при эндотоксемии принимают участие NO-зависимые процессы: NO – как ключевой фактор в генерации воспалительного ответа и NO – как основной тормозный нейротрансмиттер в кишечнике. Как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях показано, что уровень NO повышен при сепсисе и системной воспалительной реакции [7]. Внутривенное введение ЛПС вызывает усиление генерации NO активированными макрофагами в мышечной оболочке кишечника, что приводит к подавлению сократительной активности гладких мышц [2, 3]. В экспериментах на крысах показано, что при эндотоксемии макрофагальная iNOS играет важную роль в подавлении сокращений циркулярных гладких мышц кишечника. Уже через 3 ч после введения ЛПС происходило увеличение экспрессии мРНК iNOS в 20 раз [3]. Кроме того, высвобождение NO из нейрональной NOS – как в энтеральной нервной системе, так и в ЦНС – оказывает влияние на ЛПС-индуцированное нарушение моторики. Так, E. Quintana и соавт. [8, 9] показали увеличение синтеза NO не только в постганглионарных нейронах миэнтерального сплетения на ранней стадии эндотоксемии у крыс (30 мин после инъекции ЛПС), но и увеличение мРНК в n-NOS в дорсальном моторном ядре блуждающего нерва через 2 ч после введения ЛПС.

Таким образом, NO, являясь ключевым фактором в генерации воспалительного ответа и основным ингибиторным нейротрансмиттером, оказывает существенное тормозное влияние на моторику кишечника при эндотоксемии.

Физиологичным способом активации противовоспалительного пути, реализуемого при участии вегетативной нервной системы, являются энтеральные инфузии [6]. Входящие в их состав специальные жировые компоненты активируют вегетативную нервную систему через афферентные волокна блуждающего нерва посредством высвобождения нейроэндокринных гормонов [4, 11]. В экспериментах на крысах при моделировании послеоперационных нарушений моторики кишечника была показана эффективность энтерального введения раствора, обогащенного липидами, что объяснялось активацией афферентных волокон блуждающего нерва через холецистокининовые ХЦК-рецепторы [5].

Введенный в современные фармако-нутриентные смеси трибутирин является структурированным липидом, состоящим из трех молекул бутирата, эстерифицированных глицеролом. В желудке и тонком кишечнике трибутирин гидролизует липазой до бутирата (короткоцепочечной жирной кислоты) и глицерола. Экспериментальных исследований, посвященных трибутирину, немного. Однако немногочисленные публикации убедительно свидетельствуют о том, что энтеральное введение трибутирина приводит к уменьшению продукции провоспалительных цитокинов и NO [12]. В связи с этим, мы предположили, что энтеральное введение трибутирина может способствовать восстановлению моторики тонкой кишки.

Целью настоящего исследования явилась оценка роли трибутирина в коррекции моторных нарушений тонкой кишки при экспериментальной эндотоксемии, вызванной внутривенным введением ЛПС *E. coli*.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 10-ти крысах-самцах популяции линий Wistar средней массой 400 г. Протокол исследований был одобрен локальным комитетом по биомедицинской этике НИИ СП им. Н.В. Склифосовского.

Для предварительной оперативной подготовки крыс в качестве наркоза использовали 5% раствор кетамина, который вводили внутривентрально из расчета 0,3 мл на 100 г массы тела. Во время операции проводили срединную лапаротомию, вживляли зонд в начальную часть тощей кишки (10 см дистальнее связки Трейтца) и два игольчатых электрода: один в стенку средней части двенадцатиперстной кишки (ДПК), другой – в стенку тощей кишки (15 см дистальнее связки Трейтца). После фиксации зонд и электроды проводили через мягкие ткани брюшной стенки и тазовой области и затем с помощью специального инструмента протаскивали под кожей хвоста и выводили наружу.

Эксперименты выполняли через 7-10 дней после операции. Основанием для начала экспериментов являлось появление ММК, распространяющегося из ДПК в тощую кишку при регистрации электромиограмм (ЭМГ). После 18-часовой пищевой депривации регистрировали фоновую электрическую активность тонкой кишки. Затем крысам внутривенно вводили 200 мкг/кг липополисахарида *E. coli* serotype 055:B5. Опыты проводили в первые четверо суток после введения ЛПС.

Животные были распределены на две группы: первая – контрольная, $n=5$; вторая – с введением трибутирина, $n=5$. Животным контрольной группы через 1, 6 и 12 ч после инъекции ЛПС *E. coli* вводили внутрикишечно однократно физиологический раствор в объеме 0,2

мл. Животным опытной группы в эти же сроки было выполнено внутрикишечное введение 0,2 мл раствора трибутирина в дозе 10 мг/кг (Acros Organics, Бельгия).

Каждому животному обеих групп сначала натошак выполнялась фоновая запись электрической активности тонкой кишки в течение 1 ч. Затем внутрикишечно через зонд вводился тестируемый раствор, и электрическая активность регистрировалась еще 2 ч.

Записи электрической активности тонкой кишки проводились с использованием электронного энцефалографа NVX-52 в полосе от 0,1 до 30 Гц. Проводилась компьютерная обработка выходного сигнала. При обработке данных производили фильтрацию сигналов в полосе 5-30 Гц для выявления спайковой активности. Оценивали процент длительности каждой из фаз ММК. Все данные представляли как медиану и перцентили – Me (25; 75)%. Для статистического анализа использовали непараметрический критерий – ранговый дисперсионный анализ по Фридману (Friedman-ANOVA).

Результаты и их обсуждение

В контрольной группе животных в фоновых записях регистрировался ММК, распространяющийся из ДПК в тощую кишку (рис. 1). Процент длительности каждой из фаз ММК составлял для ДПК: фаза I – 28,1 (26,5; 28,3), фаза II – 56,6 (56,4; 57,3), фаза III – 15,3 (15,2; 16,9), для тощей кишки: фаза I – 33,4 (32,5; 39,6), фаза II – 47,9 (39,1; 49,0), фаза III – 16,2 (13,4; 17,6).

В 1-й ч после введения ЛПС наблюдалось исчезновение фазы III ММК (как в ДПК, так и в тощей кишке), что свидетельствовало об исчезновении нормальной пропульсивной перистальтики. При

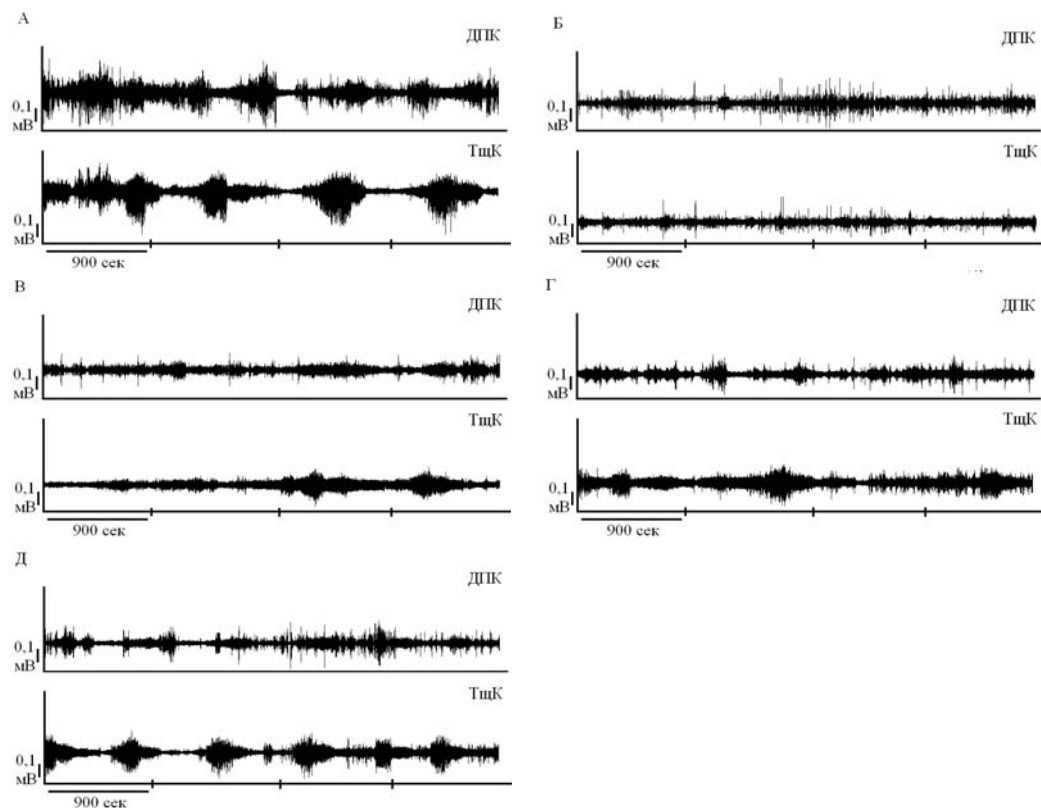


Рис. 1. Динамика изменений электрической активности двенадцатиперстной (ДПК) и тощей (ТщК) кишок при эндотоксемии (контрольная группа). А – фоновая запись; Б – 1-й ч после введения ЛПС *E. coli*; В – 12-й ч после введения ЛПС *E. coli*; Г – 48-й ч после введения ЛПС *E. coli*; Д – 96-й ч после введения ЛПС *E. coli*.

этом в ДПК длительность нерегулярной активности повышалась, а в тощей кишке увеличивалась продолжительность периодов покоя. Однако эти изменения не были статистически значимыми ($p > 0,05$). Кроме того, наблюдалось появление патологических паттернов моторики – гигантских мигрирующих сокращений (ГМС) и эпизодов спастической активности в обоих участках тонкой кишки. При введении физиологического раствора в тощую кишку на электромиограммах ДПК и тощей кишки не наблюдалось какой-либо выраженной реакции.

На 6-й ч после введения ЛПС в обоих

участках тонкой кишки выявлялись ГМС и спастическая активность; у трех из пяти животных наблюдалось появление единичных фаз III ММК различной длительности. В ДПК длительность нерегулярной активности снижалась до фонового уровня и составляла 53,2 (46,8; 67,6)% ($p > 0,05$), а в тощей кишке была статистически значимо ниже нормы – 25,3 (13,3; 27,4)% ($p < 0,05$). Кроме того, в тощей кишке продолжительность покоя увеличивалась по сравнению с фоном – 69,3 (67,6; 80,9)% ($p < 0,05$). На 12-й ч после введения ЛПС динамика электрической активности в ДПК не претерпевала существенных

изменений, в то время как в тощей кишке параметры ММК изменялись разнонаправленно. Через 24 ч после введения ЛПС в ДПК преобладала нерегулярная активность, в тощей кишке регистрировались все фазы комплекса. При этом у двух из пяти животных наблюдались редкие эпизоды спастической активности. Через 48 ч в ДПК динамика параметров ММК не изменилась, а в тощей кишке регистрировались все фазы ММК нормальной продолжительности. Через 96 ч в ДПК и в тощей кишке длительность покоя составляла 22,1 (21,4; 38,6)% и 36,9 (36,7; 37,5)%, нерегулярной активности – 54,7 (50,6; 68,3)% и 46,6 (42,0; 47,8)%,

регулярной активности – 10,3 (9,1; 14,2)% и 16,1 (15,3; 16,6)% соответственно, что статистически значимо не отличалось от нормы ($p > 0,05$). Таким образом, восстановление распространяющегося ММК из ДПК в тощую кишку наблюдалось через 96 ч после введения ЛПС.

В опытной группе в фоновых записях регистрировался ММК, распространяющийся из ДПК в тощую кишку (рис. 2, 3). Процент длительности каждой из фаз ММК составлял для ДПК: фаза I – 29,0 (17,5; 37,0), фаза II – 53,3 (49,3; 60,7), фаза III – 21,8 (15,2; 21,8), для тощей кишки: фаза I – 38,8 (33,2; 49,3), фаза II – 47,3 (38,6; 52,4), фаза III – 13,9 (13,5; 14,4).

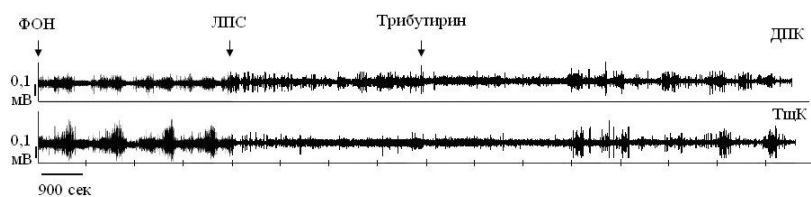


Рис. 2. Влияние энтерального введения трибутирина на электрическую активность двенадцатиперстной (ДПК) и тощей (ТщК) кишок через 1 ч после введения ЛПС *E. coli*.

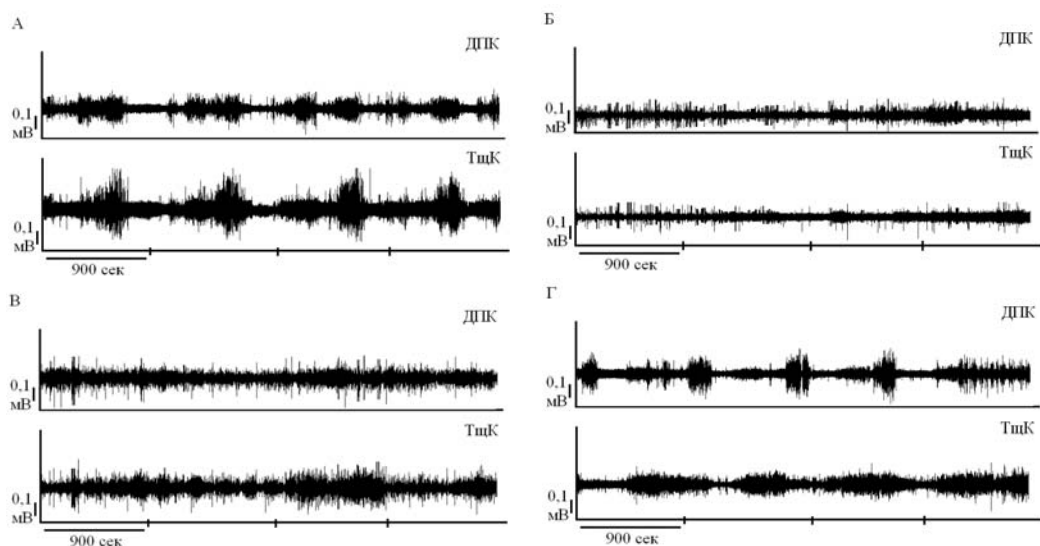


Рис. 3. Влияние энтерального введения трибутирина на динамику изменений электрической активности двенадцатиперстной (ДПК) и тощей (ТщК) кишок при эндотоксемии (опытная группа). А – фоновая запись; Б – 1-й ч после введения ЛПС *E. coli*; В – 48-й ч после введения ЛПС *E. coli*.

В 1-й ч после введения ЛПС наблюдалось исчезновение фазы III ММК – как в ДПК, так и в тощей кишке. При этом в ДПК длительность нерегулярной активности повышалась, а в тощей кишке увеличивалась продолжительность периодов покоя. Однако эти изменения, как и в контрольной группе, не были статистически значимыми ($p>0,05$). Кроме того, наблюдалось появление патологических паттернов моторики – ГМС и эпизодов спастической активности в обоих участках тонкой кишки. При введении трибутирина в тощую кишку на ЭМГ ДПК и тощей кишки значимые изменения появились к концу 1-го часа. Так, на ЭМГ ДПК и тощей кишки появилась фаза III нормальной длительности, которая возникала в ДПК и через 60 с распространялась в тощую кишку. На 2-й ч после введения трибутирина регистрировались 2-4 ММК, распространяющихся из ДПК в тощую кишку, при этом общая продолжительность всех фаз в обоих отделах не отличалась от нормы, однако количество фаз III было ниже нормы. Особо следует отметить, что после введения трибутирина исчезали патологические паттерны – ГМС и спастическая активность.

Через 6 и 12 ч после введения ЛПС до введения трибутирина наблюдались все фазы ММК в обоих отделах тонкой кишки, однако их продолжительность отличалась от нормы. После введения трибутирина в эти сроки на ЭМГ ДПК и тощей кишки выявлялось увеличение длительности фазы II и уменьшение длительности фазы I. При этом длительность фаз III практически не изменялась. Через 48 ч в ДПК и тощей кишке длительность покоя составляла

22,7 (21,8; 28,5)% и 48,1 (24,9; 53,8)%, нерегулярной активности – 66,3 (58,5; 74,2)% и 32,2 (32,0; 46,0)%, регулярной активности – 13,0 (12,0; 14,9)% и 19,7 (14,2; 21,6)% соответственно, что статистически значимо не отличалось от нормы ($p>0,05$). Таким образом, через 48 ч после введения ЛПС наблюдалось восстановление распространяющегося ММК из ДПК в тощую кишку с нормальной продолжительностью фаз.

Заключение

Результаты наших исследований показали, что при эндотоксемии имеют место выраженные длительные (вплоть до 96-ти ч) нарушения генерации ММК. Применение трибутирина укорачивало общие сроки восстановления моторики до 48-ми ч.

В связи с тем, что, по данным современной литературы, энтеральное введение трибутирина приводит к уменьшению продукции NO [12], можно полагать, что стимулирующее влияние трибутирина на моторику кишечника определяется, в основном, снятием тормозных влияний, реализуемых через неадренергические нехолинергические пути. Кроме того, прокинетиические эффекты трибутирина могут быть так же связаны со стимуляцией противовоспалительных холинергических путей (через ХЦК-рецепторы первого типа и рецепторы GLP-1R, родственные к бутирату, расположенные на афферентных волокнах блуждающего нерва).

Таким образом, использование трибутирина как компонента нутритивной поддержки при эндотоксемии может являться физиологичным способом стимуляции перистальтики, приводящим к восстановлению моторики кишечника.

Список литературы

1. Cullen J.J., Caropreso D.K., Hemann L.L., et al. Pathophysiology of adinamic ileus // Dig. dis. sci. 1997. Vol. 42. No. 4. Pp. 731-737.
2. De Winter B.Y. Study of the pathogenesis of paralytic ileus in animal models of experimentally induced postoperative and septic ileus // Verh K. Acad. Geneesk. Belg. 2003. Vol. 65. No. 5. Pp. 293-324.
3. Eskandari M.K., Kalff J.C., Billiar T.R., et al. LPS-induced muscularis macrophage nitric oxide suppresses rat jejunal circular muscle activity // Am. J. Physiol. gastrointest. liver physiol. 1999. Vol. 277. No. 2. Pt. 1. Pp. 478-486.
4. Genton L., Kudsk K.A. Interactions between the enteric nervous system and the immune system: role of neuropeptides and nutrition // Am. J. Surg. 2003. Vol. 186. No. 3. Pp. 253-258.
5. Lubbers T., Luyer M.D., de Haan J.J., et al. Lipid-rich enteral nutrition reduces postoperative ileus in rats via activation of cholecystokinin-receptors // Ann. Surg. 2009. Vol. 249. No. 3. Pp. 481-487.
6. Luyer M.D., Habes Q., van Hak R., Buurman W. Nutritional stimulation of the autonomic nervous system // World J. Gastroenterol. 2011. Vol. 17. No. 34. Pp. 3859-3863.
7. Moncada S., Palmer R.M., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology // Pharmacol. rev. 1991. Vol. 43. No. 2. Pp. 109-142.
8. Quintana E., Hernández C., Alvarez-Barrientos A., et al. Synthesis of nitric oxide in postganglionic myenteric neurons during endotoxemia: implications for gastric motor function in rats // FASEB J. 2004. Vol. 18. No. 3. Pp. 531-533.
9. Quintana E., Hernández C., Moran A.P., et al. Transcriptional up-regulation of nNOS in the dorsal vagal complex during low endotoxemia // Life sci. 2005. Vol. 77. No. 9. Pp. 1044-1054.
10. Sarna S. Myoelectrical and contractile activities of the gastrointestinal tract // Schuster M.M., Crowell M.D., Kenneth L.K. Schuster Atlas of gastrointestinal motility in health and disease. - London: BC Decker Inc., Hamilton, 2002. P. 1-18.
11. Schwartz G.J. The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects // Nutrition. 2000. Vol. 16. No. 10. Pp. 866-873.
12. Vinolo M.A., Rodrigues H.G., Hatanaka E., et al. Suppressive effect of short-chain fatty acids on production of proinflammatory mediators by neutrophils // J. Nutr. biochem. 2011. Vol. 22. No. 9. Pp. 849-855.

Enteral administration of tributyrin as an element of nutritional support in the treatment of disruption of the intestinal electrical activity during experimental endotoxemia

E.A. Kislyakova, N.S. Tropkaya, T.S. Popova

We investigated the electrical activity of the small intestine in rats intravenously administered 200 µg/kg of lipopolysaccharide *E. coli*. It has been shown that disturbances in the generation of migrating myoelectric complex were observed during the 96-hours after lipopolysaccharide administration. Enteral administration of tributyrin shortened overall recovery times migrating myoelectric complex to 48 hours.

Key words: tributyrin, migrating myoelectric complex, small intestine, endotoxemia.