

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД В ПРЕДУПРЕЖДЕНИИ ЛИПИДНЫХ ДЕСТАБИЛИЗАЦИЙ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Власова Т.И., Гуляева Л.Р., Лешанкина Н.Ю., Турыгина С.А., Власов П.А.,
Логинов М.А.

ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск, Россия (430005, г. Саранск, ул. Большевикская, 68), e-mail: vap.61@yandex.ru

В работе представлены результаты экспериментального исследования влияния эмоксипина, верапамила и реамберина при превентивном их введении на воспалительный процесс, изменения качественного и количественного состава липидов тканевых структур поджелудочной железы, интенсивность процессов перекисного окисления липидов, антиоксидантный потенциал и активность фосфолипазы А₂ при остром панкреатите. Показано, что превентивное использование исследуемых препаратов перед моделированием острого билиарного панкреатита позволяет уменьшить выраженность воспалительного процесса в ткани поджелудочной железы. Это обусловлено предупреждением резкого нарастания свободно-радикальных процессов липоперекисления, увеличения фосфолипазной активности, нарастания гипоксических процессов, что приводило к меньшей дестабилизации липидного состава биомембран панкреатотцитов. Установлено, что исследованные препараты при предварительном их применении существенным образом уменьшают выраженность мембранодеструктивных процессов в клетках поджелудочной железы при моделированном остром панкреатите, подтверждением чего явилось не только уменьшение очагов панкреонекроза, но и меньшая патологическая трансформация фосфолипидного состава биомембран клеток органа.

Ключевые слова: панкреатит, липиды, эмоксипин, верапамил, реамберин.

PATOGENETIC APPROACH IN PREVENTING LIPID DESTABILIZATION IN ACUTE PANCREATITIS

Vlasova T.I., Gulyaeva L.R., Leshchankina N.Y., Turygina S.A., Vlasov P.A.,
Loginov M.A.

Mordvinian State University, Saransk, Russia (430005, Saransk, street Bolshevistskaya, 68), e-mail: vap.61@yandex.ru

The paper presents the results of an experimental study of the effect emoxipine, verapamil and a proactive reamberin their introduction on the inflammatory process, changes in the qualitative and quantitative composition of the lipid tissue structures of the pancreas, the intensity of lipid peroxidation, antioxidant capacity and the activity of phospholipase A₂ in acute pancreatitis. It is shown that the preventive use of investigational drugs before simulating acute biliary pancreatitis can reduce the severity of inflammation in the tissues of the pancreas. This is due to a sharp increase in the prevention of free-radical processes of lipid peroxidation, increased phospholipase activity, increase of hypoxic processes, which resulted in less destabilization of the lipid composition of biological membranes pankreatotsitov. It has been established that the studied drugs in their preliminary application significantly reduces the severity membranodestruktivnyh processes in the cells of the pancreas with simulated acute pancreatitis, as evidenced by the decrease was not only the centers of pancreatic necrosis, but less pathological transformation of phospholipid composition of biomembranes organ cells.

Keywords: pancreatitis, lipids, emoxipin, verapamil, reamberin.

Острый панкреатит в настоящее время занимает лидирующее место в структуре хирургической патологии органов брюшной полости, конкурируя с острым аппендицитом и острым холециститом, и в последние десятилетия заболеваемость им значительно увеличилась [1]. В 15–20 % наблюдений острый панкреатит носит деструктивный характер [3]. Несмотря на достигнутые успехи в совершенствовании патогенетически обоснованной интенсивной терапии, антибиотикотерапии и миниинвазивных методов хирургического лечения, общая летальность при тяжелом панкреатите на протяжении последних 40 лет

сохраняется на высоком уровне, составляя, по разным данным, от 3,9 до 21 %, и при инфицированном панкреонекрозе достигает 85 % [2,5, 6]. Основной причиной неудовлетворительных результатов лечения острого панкреатита и его осложнений в нашей стране является отсутствие стандартизированных подходов к консервативному и хирургическому лечению при различных формах острого панкреатита и его осложнений [4,7,8,9]. В связи с тем, что результаты лечения острого панкреатита нельзя признать удовлетворительными, проблема оптимизации современной тактики консервативной терапии и поиска новых эффективных способов лечения при данной патологии остается актуальной. Решение проблемы возможно при углубленном изучении патогенеза этой патологии и оценке эффективности препаратов с различными механизмами действия.

Цель работы: изучить в сравнительном аспекте липидрегулирующий эффект эмоксипина, реамберина и верапамила в предупреждении липидных дестабилизаций при остром панкреатите при их превентивном применении.

Материалы и методы исследования

Основой работы явились экспериментальные исследования на 40 взрослых беспородных собаках обоего пола массой от 5,9 до 14,1 кг, разделенных на следующие группы: первая группа (n=8) – контрольная; вторая группа (n=8) – опытная (с эмоксипином), третья группа (n=8) – опытная (с реамберином), четвертая группа (n=8) – опытная (с верапамилем). Для получения данных, принятых за норму, произведены исследования у 8 здоровых животных.

Острый панкреатит моделировали по способу В.М. Буянова с соавт. (1989). Взрослым беспородным собакам выполняли срединную лапаротомию, проводили пункцию желчного пузыря с забором желчи и последующим лигированием места пункции. Далее желчь вводили в паренхиму вертикальной части поджелудочной железы по 0,5 мл в 8 точках. Таким образом воспроизводили деструктивную форму острого панкреатита. В опытных группах оценивали ряд фармакодинамических эффектов препаратов: эмоксипина (ежедневные внутривенные введения 1 % раствора (10 мг/кг)), реамберина (ежедневные внутривенные введения в дозе 15 мл/кг), верапамила (ежедневные внутривенные введения 0,25 % раствора препарата (0,2 мкг/кг)), которые в течение двух суток вводили перед моделированием острого панкреатита.

В контрольные сроки исследования (1-е и 3-и сутки) животным производили релапаротомию, оценивали состояние поджелудочной железы, определяли характер ее повреждений, а также производили биопсию ее тканей, забор венозной крови.

Опыты проводились под внутривенным наркозом с использованием тиопентал-натрия из расчета 0,04 мг/кг массы тела животного. После проведения исследований животных выводили из эксперимента введением летальной дозы тиопентал-натрия.

Исследования выполнены в соответствии с нравственными требованиями к работе с экспериментальными животными, одобрены локальным этическим комитетом.

В работе применялись следующие методы исследования.

Липиды из ткани поджелудочной железы экстрагировали хлороформметаноловой смесью (Хиггинс Дж. А., 1990). Липиды фракционировали методом тонкослойной хроматографии (Хиггинс Дж. А., 1990; Vaskovsky V.E. et al., 1975). Молекулярный анализ проводили на денситометре Model GS-670 (BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (Phosphor Analyst/PS Software).

Показатели интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ): диеновые конъюгаты (ДК) определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 232–233 нм (Ганстон Ф.Д., 1986); уровень малонового диальдегида (МДА) – спектрофотометрическим методом в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) (Sigma), активность супероксиддисмутазы (СОД) – в реакции с нитросиним тетразолием (Гуревич В.С. и др., 1990). Активность фосфолипазы А₂ исследовали в среде, содержащей 10 ммоль трис-НСL-буфер (рН 8,0), 150 ммоль тритон X-100, 10 ммоль СаСl₂ и 1,2 ммоль субстрата, в качестве которого использовали фосфатидилхолины яичного желтка (Трофимов В.А., 1999).

Измерение содержания пировиноградной кислоты (ПВК) производили при проведении реакции с 2,4-динитрофенилгидразином (Кушманова О. Д., Ивченко Г. М., 1983). Содержание молочной кислоты (МК) определяли по реакции с параоксидифенилом (Меньшиков В. В., 1987).

Статистическую обработку полученных данных производили общепринятыми методами статистики с определением достоверности различий между данными в опытной и контрольной группах на основе расчета критерия Стьюдента. Выявленные закономерности и связи изучаемых параметров между группами и признаками были значимыми при вероятности безошибочного прогноза $p=95\%$ и более.

Результаты исследования и их обсуждение

В работе при проведении экспериментального исследования показано, что выбранная модель панкреатита оказалась вполне адекватной для решения цели и задач исследования. Во всех случаях у животных возникал острый панкреатит деструктивной формы, что подтверждалось макро- и микроскопически.

Результаты, полученные в контрольной группе опытных животных, свидетельствуют о том, что при остром билиарном панкреатите наблюдается формирование нарушений липидного метаболизма, проявляющееся увеличением в тканях поджелудочной железы уровня ДК и ТБК-активных продуктов, а также фосфолипазной активности. При этом антиоксидантный потенциал исследуемых тканей значительно снижался, что выражалось

падением активности СОД по сравнению с исходом на 44,4–63,8% ($p < 0,05$) в 1-е – 3-и сутки исследования.

Состав липидов в качественном и количественном отношении в тканях поджелудочной железы характеризовался снижением уровня суммарных фосфолипидов, холестерина при увеличении количества моноацилглицеролов (МАГ), диацилглицеролов (ДАГ) и свободных жирных кислот (СЖК). Содержание триацилглицеролов изменялось неодинаково: в первые сутки имел место рост показателя, к третьим суткам – достоверное его снижение. Динамика количества эфиров холестерина была противоположной (таблица 1).

При анализе состава фосфолипидов в контрольной группе животных отмечены более высокие показатели лизофосфолипидов (ЛФЛ), сфингомиелина (СМ), фосфатидилхолина и меньшие значения фосфатидилсерина, фосфатидилинозита и фосфатидилэтаноламина (ФЭА) в сравнении с нормой (таблица 2).

Изменения липидного состава тканей поджелудочной железы при остром панкреатите сочетались с развитием гипоксических явлений в них, что проявлялось ростом уровня МК, ПВК и коэффициента гипоксии в контрольной группе животных.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при остром билиарном панкреатите происходит существенная модификация липидного метаболизма в тканевых структурах поджелудочной железы и формируется гипоксия органа, свидетельствующие о развитии мембранодеструктивных явлений в нем.

Учитывая, что в патогенезе острого панкреатита важнейшая роль принадлежит нарушениям липидного обмена, целесообразным представляется исследование фармакологических эффектов препаратов метаболического типа действия, особенно в отношении предупреждения формирования липидных дестабилизаций, что, вероятно, возможно при их превентивном применении. В качестве сравниваемых по эффективности препаратов нами выбраны эмоксипин – препарат антиоксидантного типа действия, реамберин – антигипоксикант и верапамил – ингибитор кальциевых каналов (блокатор фосфолипазной активности).

Превентивное применение исследуемых препаратов в течение 2-х дней до моделирования билиарного панкреатита приводило к существенному уменьшению явлений острого панкреатита, в частности уменьшению очагов панкреонекроза. Такого рода терапия значительно влияла на анализируемые показатели липидного метаболизма в опытных группах. Наблюдалось снижение интенсивности ПОЛ в тканевых структурах поджелудочной железы, что проявлялось уменьшением количества ДК и ТБК-активных продуктов на 10,3–45,6 % ($p < 0,05$) и 13,1–24,6 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем на 1 и 3-и сутки эксперимента. Аналогичная динамика прослеживалась и в отношении фосфолипазной

активности. На фоне превентивного применения препаратов в ткани воспаленной поджелудочной железы отмечено увеличение активности СОД на 21,9–121,7 % ($p < 0,05$) по отношению к контролю на 1–3-и сутки эксперимента.

При сравнительном анализе этих опытных групп оказалось, что наибольшим влиянием при превентивном применении на интенсивность ПОЛ обладает эмоксипин.

Предварительное применение изучаемых препаратов позволило существенно влиять на состав липидов в ткани поджелудочной железы, что проявлялось достоверным повышением уровня суммарных фосфолипидов, холестерина при снижении содержания МАГ, ДАГ и СЖК. Динамика остальных показателей была менее значимой (табл. 1).

Таблица 1

Влияние некоторых препаратов на состав липидов (% от общего содержания липидов) при их превентивном применении в ткани поджелудочной железы при панкреатите ($M \pm m$, $n=8$ в каждой группе)

Показатель	Норма	Группа	Этапы наблюдения	
			1-е сутки	3-и сутки
Суммарные фосфолипиды	28,88±1,01	I	16,71±0,53*	18,87±0,49*
		II	23,29±0,87* $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$	27,95±0,77 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$
		III	19,69±0,43* $P_3 > 0,05$	24,09±0,60* $P_3 > 0,05$
		IV	20,34±0,53*	25,11±0,61*
Моноацилглицеролы	2,05±0,07	I	4,02±0,14*	5,92±0,26*
		II	3,04±0,15* $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$	3,86±0,19* $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$
		III	3,42±0,15* $P_3 > 0,05$	4,47±0,29* $P_3 > 0,05$
		IV	3,82±0,22*	4,15±0,10*
Холестерол	28,41±1,09	I	27,16±0,77	13,29*±0,43*
		II	27,46±0,77 $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$	16,69±0,90* $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$
		III	27,10±0,70 $P_3 > 0,05$	16,29±0,56* $P_3 > 0,05$
		IV	27,62±0,69	15,34±0,62*
Диацилглицеролы	1,53±0,08	I	2,99±0,12*	16,05±0,33*
		II	1,89±0,06* $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$	10,43±0,51* $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$
		III	2,37±0,13* $P_3 < 0,05$	14,12±0,60* $P_3 < 0,05$
		IV	2,02±0,05*	11,93±0,35*
Свободные жирные кислоты	5,97±0,44	I	14,27±0,45*	16,38±0,54*
		II	10,67±0,60* $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$	11,77±0,53* $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$
		III	12,79±0,32* $P_3 > 0,05$	13,35±0,63* $P_3 > 0,05$

		IV	12,01+0,38*	12,94+0,41*
Триацилглицеролы	18,34+0,78	I	28,06+0,76*	10,07+0,47*
		II	21,93+0,81* P₁<0,05 P₂<0,05	15,98+0,46* P₁<0,05 P₂<0,05
		III	24,72+0,47* P ₃ >0,05	12,19+0,71* P ₃ >0,05
		IV	23,10+0,45*	15,32+0,35*
Эфиры холестерина	14,31+0,89	I	7,43+0,38*	18,91+0,41*
		II	11,75+0,35* P₁<0,05 P₂>0,05	14,94+0,62 P₁>0,05 P₂<0,05
		III	9,05+0,37* P₃<0,05	15,84+0,36 P₃<0,05
		IV	10,67+0,28*	15,14+0,58

Примечание: Здесь и далее: I – контрольная, II – опытная группа с эмоксипином, III – опытная группа с верапамилом; IV – опытная группа с реамберином; * – достоверность изменений показателей по отношению к норме при $p<0,05$; жирный шрифт – достоверность разницы между данными контрольной и опытной группы при $p<0,05$; $p_1<0,05$ – достоверность разницы между данными II и III группы; $p_2<0,05$ – достоверность разницы между данными II и IV группы; $p_3<0,05$ – достоверность разницы между данными III и IV группы.

Превентивное использование препаратов позволило воздействовать на состав фосфолипидов в тканевых структурах органа. При этом наблюдалось достоверное снижение уровня ЛФЛ, СМ при увеличении показателя ФЭА на всех этапах эксперимента (табл. 2).

Таблица 2

Влияние некоторых препаратов на состав фосфолипидов (% от общего содержания липидов) при их превентивном применении в ткани поджелудочной железы при билиарном панкреатите ($M\pm m$, $n=8$ в каждой группе)

Показатель	Норма	Группа	Этапы наблюдения	
			1-е сутки	3-и сутки
Лизофосфолипиды	1,55±0,04	I	7,65±0,32*	14,67±0,46*
		II	3,44+0,10* P₁<0,05 P₂<0,05	10,14+0,41* P₁<0,05 P₂<0,05
		III	4,21+0,11* P ₃ >0,05	11,46+0,38* P ₃ >0,05
		IV	4,85+0,39*	12,04+0,41*
Сфингомиелин	4,84±0,17	I	8,51±0,18*	7,46±0,08*
		II	5,62+0,24* P₁>0,05 P₂<0,05	5,24+0,15 P₁<0,05 P₂<0,05
		III	6,15+0,16* P₃<0,05	5,94+0,25* P ₃ >0,05
		IV	6,95+0,11*	6,17+0,16*
Фосфатидилхолин	17,19±0,44	I	18,38±0,59	21,80±0,37*
		II	17,28±0,55	17,53+0,42

			$P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$	$P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$
		III	17,75±0,29 $P_3 > 0,05$	17,93±0,21 $P_3 < 0,05$
		IV	18,08±0,23	18,89±0,20*
Фосфатидилсерин	16,76±0,67	I	17,16±0,61	8,35±0,24*
		II	16,35±0,36 $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$	12,15±0,55* $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$
		III	16,85±0,38 $P_3 > 0,05$	11,34±0,37* $P_3 > 0,05$
		IV	17,04±0,13	10,65±0,27*
Фосфатидилинозит	19,06±0,52	I	16,55±0,30*	18,06±0,52
		II	18,45±0,45 $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$	19,06±0,29 $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$
		III	18,28±0,31 $P_3 > 0,05$	18,89±0,20 $P_3 > 0,05$
		IV	18,08±0,23	19,03±0,33
Фосфатидилэтаноламин	41,73±1,03	I	33,88±0,78*	29,12±1,08*
		II	38,16±0,80* $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$	37,24±0,80* $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$
		III	37,77±0,34* $P_3 > 0,05$	33,85±0,49* $P_3 > 0,05$
		IV	36,82±0,76*	33,64±0,81*

При проведении сравнительного анализа влияния изучаемых препаратов на патологическую трансформацию состава липидов и фосфолипидов ткани поджелудочной железы оказалось, что наибольшее стабилизирующее воздействие на этот патологический процесс наблюдалось при превентивном применении эмоксипина и верапамила, наименьшее – реамберина.

Предварительное введение изучаемых препаратов до моделирования патологического процесса в поджелудочной железе позволило уменьшить выраженность гипоксических процессов, что характеризовалось снижением по сравнению с данными контрольной группы показателей МК на 13,3–53,2 % ($p < 0,05$), ПВК – на 9,9–41,4 % ($p < 0,05$) и коэффициента гипоксии – на 9,3–20,1% ($p < 0,05$). При сравнительном сопоставлении терапевтической эффективности изучаемых препаратов на гипоксические процессы в ткани воспаленной

поджелудочной железы выяснилось, что наибольшим воздействием обладали реамберин и эмоксипин, наименьшим – верапамил.

Заключение. Проведенные экспериментальные исследования показали, что превентивное использование антиоксиданта эмоксипина, антигипоксанта реамберина, ингибитора кальциевых каналов верапамила позволяет уменьшить выраженность воспалительного процесса в ткани поджелудочной железы при моделировании острого панкреатита. Это обусловлено предупреждением резкого нарастания свободно-радикальных процессов липопереокисления, увеличения фосфолипазной активности, нарастания гипоксических процессов, что приводило к меньшей дестабилизации липидного состава биомембран панкреатоцитов. Установлено, что исследованные препараты при предварительном их применении существенным образом уменьшают выраженность мембранодеструктивных процессов в клетках поджелудочной железы при моделированном остром панкреатите, подтверждением чего явилось не только уменьшение очагов панкреонекроза, но и меньшая патологическая трансформация фосфолипидного состава биомембран клеток органа.

Работа опубликована при финансовой поддержке министерства Образования и науки РФ в рамках МК-3106.2014.7.

Список литературы

1. Багненко С.Ф., Гольцов В.Р. Острый панкреатит – современное состояние проблемы и нерешенные вопросы // Альманах Института хирургии им. А. В. Вишневского. – 2006. – Т. 3. – № 3. – С. 104–112.
2. Власов А.П., Трофимов В.А., Крылов В.Г. Системный липидный дистресс-синдром в хирургии. – М.: Наука, 2009. – 224 с.
3. Грумберг И.А., Вахрушев И.Н. Современные подходы к диагностике и лечению острого панкреатита // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2009. – № 1. – С. 32-35.
4. Губергриц Н.Б., Христич Т.Н. Клиническая панкреатология. – Донецк: Лебедь, 2000. – 416 с.
5. Ермолов А.С., Иванов П.А., Гришин А.В. Патогенетические подходы к диагностике и лечению острого панкреатита // Хирургия им. Н. И. Пирогова. – 2007. – № 5. – С. 4-8.
6. Жидкова С.В., Вишняков С.С., Шачинова Т.П. Патогенетические основы оптимизации терапии экспериментального панкреатита // Общество, здоровье, лекарство: Матер. Всеросс. науч.- практ. конф. – Саранск, 2005. – С. 49–51.

7. Зубарев П.Н., Касачев И.Д., Паскарь С.В. Причины летальных исходов при остром деструктивном панкреатите // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2009. – Сер. 11. – Вып. 4. – С. 161–168.
8. Beger H. G., Rau B. Acute pancreatitis. – Ann. Ital. Chir. – 1995. – Vol. 66. – P. 209–215.
9. Benchimol D., Firtion O., Bereder J.M. Acute pancreatitis treated in a surgery ward. Apropos of 57 cases. – J. Chir. – 1996. – Vol. 133. – №. 5. – P. 208–213.

Рецензенты:

Смолькина А.В., д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск.

Бякин С.П., д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск.