

## ПОВЫШЕНИЕ ТОЛЕРАНТНОСТИ КИШЕЧНИКА ПРИ ПАНКРЕОНЕКРОЗЕ

Муратова Т.А.<sup>1</sup>, Власов А.П.<sup>1</sup>, Григорьев А.Г.<sup>2</sup>, Полозова Э.И.<sup>1</sup>, Трохина И.Е.<sup>1</sup>, Кирдяшкина О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск, e-mail: vap.61@yandex.ru;

<sup>2</sup>Научный клинический центр «Медкриология», Нижний Новгород, e-mail: medkrio@mail.ru

В работе на основе изучения в динамике уровня показателей эндогенной интоксикации, перекисного окисления липидов и показателей гемостаза при сопоставлении клинических данных и результатов биохимических исследований крови определены явления энтеральной недостаточности при панкреонекрозе в эксперименте. Показано, что комбинированное применение ремаксолола и лазеротерапии при тотальном панкреонекрозе способствует снижению поступления токсинов в кровоток и интоксикационного синдрома в целом, выступает в роли предохраняющего фактора в развитии энтеральной недостаточности. Установленная в ходе эксперимента способность данной терапии замедлять процессы перекисного окисления липидов и корректировать коагуляционно-литическое состояние тканей кишечной стенки явилась основным механизмом в коррекции функциональных нарушений со стороны кишечника, что способствует повышению барьерного потенциала кишечной стенки.

Ключевые слова: панкреонекроз, эндогенная интоксикация, энтеральная недостаточность, антиоксиданты, лазеротерапия.

## THE INCREASED TOLERANCE OF THE BOWEL IN NECROTIZING PANCREATITIS

Muratova T.A.<sup>1</sup>, Vlasov A.P.<sup>1</sup>, Grigoryev A.G.<sup>2</sup>, Polozova E.I.<sup>1</sup>, Trokhina I.E.<sup>1</sup>, Kirdyashkina O.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mordvinian State University, Saransk, e-mail: vap.61@yandex.ru;

<sup>2</sup>Scientific Clinical Center «Medkriologiya», Nizhny Novgorod, e-mail: medkrio@mail.ru

The paper based on the study in the dynamics of indicators of the level of endogenous intoxication, lipid peroxidation and hemostasis when comparing the clinical data and the results of blood biochemical research identified the phenomenon of enteral insufficiency in pancreatic necrosis in the experiment. It is shown that the combined use of laser therapy and remaxol in total pancreatic necrosis reduces the toxins entering the bloodstream and intoxication syndrome in general, acts as a factor which protects the development of enteral insufficiency. Installed in the experiment, the ability of this therapy to slow down the processes of lipid peroxidation and correct the coagulation-lytic state of tissue of the intestinal wall was the main mechanism for the correction of functional disorders of the intestine, thereby increasing the potential barrier of the intestinal wall.

Keywords: pancreatic necrosis, endogenous intoxication, enteral insufficiency, antioxidants, laser therapy.

Острый панкреатит является одной из наиболее проблемных нозологий в хирургии. Это обусловлено не только ростом заболеваемости и высокими экономическими затратами на лечение, но и тем, что основную часть больных составляют пациенты трудоспособного возраста и летальность при данной патологии остается на высоком уровне [1; 3; 7]. Основной причиной гибели больных панкреонекрозом является полиорганная недостаточность. Развитие полиорганной недостаточности при панкреонекрозе тесно связано с прогрессированием эндогенной интоксикации (ЭИ), которая является сложным многокомпонентным процессом [4].

Последнее десятилетие пристальное внимание уделяется морфофункциональным нарушениям в кишечнике при неотложных заболеваниях органов брюшной полости, особенно при панкреонекрозе, который фактически всегда сопровождается паралитической

кишечной непроходимостью [1]. Нарушение энтерогематического барьера как одного из патологических проявлений энтеральной недостаточности (ЭН) приводит к возникновению дополнительного источника эндотоксикоза, что замыкает порочный круг и обуславливает возникновение необратимых поражений различных органов и систем [2; 5].

В настоящее время существует множество схем патогенетической терапии, направленных на уменьшение выраженности ЭН при различных патологических процессах, основными компонентами которых являются препараты антиоксидантного типа действия или квантовые методы терапии [6]. Однако до сих пор недостаточно сведений об их эффективности при панкреонекрозе, чему и посвящена настоящая работа.

**Цель работы.** В эксперименте при панкреонекрозе определить эффективность комбинированной лазерной и антиоксидантной терапии в повышении толерантности кишечника.

### **Материалы и методы исследования**

Работа основывается на результатах экспериментальных исследований, проведенных на 45 взрослых беспородных половозрелых собаках обоего пола массой от 9,4 до 13,8 кг. Животные были разделены на 2 группы.

Первая – контрольная группа (n=12): животным моделировали острый тотальный панкреонекроз. Вторая – опытная группа (n=12): модель острого тотального панкреонекроза; в послеоперационном периоде животным данной группы применена лазерная и антиоксидантная терапия. Хронические опыты поставлены под внутривенным наркозом с использованием тиопентал-натрия (0,04 г/кг).

Панкреонекроз моделировали по способу В.М. Буянова с соавт. (1989). Под наркозом животным выполняли срединную лапаротомию, пунктировали желчный пузырь, забирали желчь с последующим лигированием места пункции. Затем желчь вводили в паренхиму поджелудочной железы. Брюшную полость ушивали наглухо. Желчь вводили в 10 точек. В контрольные сроки (1, 3, 5-е сутки) осуществляли забор артериальной и венозной (из брыжеечных вен) крови, биопсию тканей кишечника. Уровень исследованных показателей в норме устанавливали у 10 здоровых животных. В послеоперационном периоде всем животным проводили инфузионную терапию (ежедневные внутривенные введения 10%-ного раствора глюкозы и 0,89%-ного раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного).

Животным опытной группы проводили ежедневные однократные сеансы лазерного облучения крови гелий-неоновым лазером при мощности излучения на выходе световода 5 мВт и времени экспозиции 15 минут (доза 0,1 Дж/см<sup>2</sup>). В работе использован терапевтический лазерный аппарат «ЛГ-75» с набором прилагающихся стандартных

световодов, предназначенных для проведения процедуры внутрисосудистого лазерного облучения крови. Доза и режим внутривенного лазерного облучения крови соответствовали общепринятым (Козлов В.И., Буйлин В.А., 1992). Наряду с лазеротерапией животным второй группы вводили ремаксол (ежедневно внутривенно в дозе 20,0 мл на 1 кг массы животного).

Эксперименты проводились в соответствии с нравственными требованиями к работе с экспериментальными животными (Федеральный закон «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г., Приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики») и одобрены локальным этическим комитетом.

Уровень эндотоксемии оценивали по содержанию молекул средней массы (МСМ) в сыворотке крови, притекающей к кишечнику и оттекающей от него. Содержание молекул средней массы в сыворотке крови измеряли на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 250 и 280 нм (Пикуза О.И., Шакирова Л.З., 1994).

Для характеристики физико-химических свойств альбумина определяли эффективную (ЭКА) и общую (ОКА) концентрацию альбумина в сыворотке крови, притекающей и оттекающей от кишечника. Резерв связывания альбумина (РСА) определяли по формуле  $РСА = ЭКА/ОКА$ . Индекс токсичности плазмы (ИТ) определяли по формуле:  $ИТ = ОКА/ЭКА - 1$  (Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е., 1994).

Изучали показатели интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканевых структурах тонкой кишки: содержание малонового диальдегида (МДА) оценивали в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по способности фермента тормозить аэробное восстановление нитросинего тетразолия до формазана (Гуревич В.С. и др., 1990; Досон Р. и др., 1991). Регистрацию каталитической деятельности фосфолипазы А<sub>2</sub> проводили титрометрическим методом по мере образования свободных жирных кислот (Трофимов В.А., 1999). Диеновые и триеновые конъюгаты (ДК и ТК) определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 232 и 275 нм.

Определяли показатели гемостаза: время рекальцификации обычной плазмы по Bergerhof и Roka (1954), каолиновое время (КВ) свертывания плазмы по P.G.J. Hattersley (1966), протромбиновое время (ПВ) плазмы по A.J. Quick (1966), тромбиновое время (ТВ) по R.M. Biggs и R.G. Macfarlane (1962), эуглобулиновый метод определения фибринолитической активности крови по H. Kowarzyk, L. Buluck (1954).

Полученные цифровые экспериментальные данные обработаны методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента. Вычисления и построение диаграмм, отражающих динамику изученных показателей, совершали с

поддержкой программы Microsoft Excel XP. Применен текстовый процессор Microsoft Word XP.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Проведенные исследования показали адекватность выбранной модели, о чем свидетельствовали морфологические и лабораторные признаки заболевания. В поджелудочной железе возникали явления некроза тканей: в первые сутки в местах инъекций желчи; в последующие – очаговые или тотальные явления панкреонекроза. В кишечнике возникали выраженные морфологические изменения. В слизистой оболочке регистрировались воспалительно-дегенеративные явления вплоть до язвенных дефектов. Это происходило на фоне паралитической кишечной непроходимости, которая была особенно выраженной при тотальном панкреонекрозе.

Экспериментально установлено, что при панкреонекрозе развивается синдром ЭИ. Развитие эндотоксикоза при панкреонекрозе тесно связано с нарушением энтерогематического барьера и формированием ЭН, что в свою очередь обусловлено нарушением биологической герметичности пораженного кишечника с последующей транслокацией бактериальных токсинов в кровь и образованием в условиях гипоксии и ацидоза большого количества высокотоксичных продуктов в ткани органа.

В ходе исследования установлено, что при тотальном панкреонекрозе развивается ЭИ. При этом уровень МСМ ( $\lambda=254$  нм) в притекающей и оттекающей крови увеличивался на 39,5-152,7% ( $p<0,05$ ) и 52,9-161,2% ( $p<0,05$ ) соответственно. Уровень МСМ ( $\lambda=280$  нм) при тотальном панкреонекрозе в притекающей и оттекающей крови повышался на 128,8-334,9% ( $p<0,05$ ) и 155,7-368,5% ( $p<0,05$ ) соответственно.

В ходе исследования установлено выраженное снижение ЭКА и РСА в притекающей к кишечнику и оттекающей от него крови. ИТ прогрессивно нарастал (рис. 1).

Таким образом, при панкреонекрозе прямым способом по оценке уровня токсических продуктов в притекающей к кишечнику и оттекающей от него крови установлено нарушение энтерогематического барьера.

На следующем этапе экспериментального исследования предстояло выяснить механизмы ЭН при панкреонекрозе. Установлено, что снижению функциональности энтерогематического барьера при панкреонекрозе способствовали метаболические нарушения в ткани кишечника, что сопровождалось активацией ПОЛ в ткани органа. Уровень ДК увеличивался на 131,7-433,6% ( $p<0,05$ ), МДА – на 44,2-90,8% ( $p<0,05$ ) (рис. 2).

Дефицит энергии приводит к накоплению ионов кальция в цитоплазме клеток, что сопровождается активацией кальций-зависимых фосфолипаз, в том числе фосфолипазы А<sub>2</sub>,

уровень которой в ткани кишечника возрос при тотальном панкреонекрозе на 147,8-451,1% ( $p < 0,05$ ).

Антиоксидантная система регулирует процессы ПОЛ при патологических состояниях. Срыв механизмов нейтрализации окислительного действия кислорода сопровождается накоплением токсических продуктов ПОЛ. Ключевым ферментом данного процесса является СОД, в функции которой входит осуществление высокоспецифической нейтрализации супероксидного радикала с образованием перекиси водорода и кислорода. В ходе исследования установлено снижение ее активности в ткани кишечника при тотальном панкреонекрозе на 33,9-68,4% ( $p < 0,05$ ).

Как указано выше, одними из значимых патогенетических компонентов развития энтеральной недостаточности при панкреонекрозе являются дисмикроциркуляторные процессы, которые во многом зависят от гемостатических нарушений. Нами изучено состояние тканевой (кишечной стенки) коагуляционно-литической системы.

В ходе эксперимента в динамике выявлены нарушения в тканевой системе гемостаза. Так, экстракт ткани кишечника при тотальном панкреонекрозе укорачивал время рекальцификации, каолиновое, протромбиновое и тромбиновое время на 36,7-44,9, 44,5-54,6, 19,9-40,8 и 32,5-50,3% ( $p < 0,05$ ) соответственно (рис. 3). При панкреонекрозе нарушалась и фибринолитическая система тканей кишечной стенки. Так, время эуглобулинового фибринолиза при тотальном панкреонекрозе удлинялось на 31,8-76,7% ( $p < 0,05$ ).

Анализируя данные исследований в контрольной группе, отметим, что при панкреонекрозе нарушение энтерогематического барьера обусловлено избыточной активностью ПОЛ и расстройствами гемостаза в тканях кишечной стенки. Выявлено, что при тотальном панкреонекрозе ЭН обусловлена достоверными изменениями исследованных патологических процессов.

На следующем этапе нами изучены эффекты влияния на функциональное состояние кишечника при тотальном панкреонекрозе комбинированного применения лазерной и антиоксидантной терапии (на примере ремаксола).

Комбинированное применение лазерного облучения крови и антиоксиданта ремаксола способствовало выраженному снижению проявлений эндотоксикоза. Так, ЭКА в притекающей крови на фоне комбинированного применения лазеротерапии и ремаксола при тотальном панкреонекрозе была ниже нормы на первые и третьи сутки на 17,3 и 22,6% ( $p < 0,05$ ), относительно контроля на третьи и пятые сутки она была выше на 57,2 и 99,9% ( $p < 0,05$ ) соответственно. ЭКА в оттекающей крови при данной терапии была ниже исходной на первые сутки на 17,4% ( $p < 0,05$ ) и выше относительно контроля на третьи и пятые сутки на 19,3 и 63,8% ( $p < 0,05$ ) соответственно. РСА в притекающей от кишечника крови на фоне

лазеротерапии в сочетании с введением ремаксола достоверно был ниже нормы на первые и третьи сутки на 11,8 и 17,4% ( $p < 0,05$ ) соответственно. На пятые сутки данный показатель превысил контроль на 39,8% на ( $p < 0,05$ ) (рис. 1).

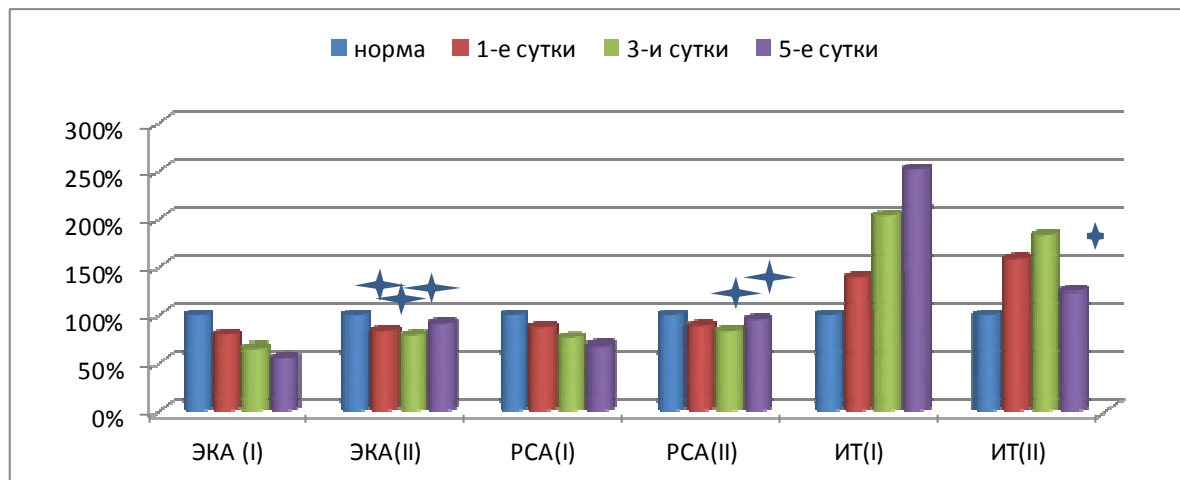


Рис. 1. Показатели эндогенной интоксикации в плазме крови, притекающей к кишечнику, при тотальном панкреонекрозе на фоне комбинированного применения лазеротерапии и ремаксола (нормы приняты за 100%; I - данные контрольной группы, II - данные опытной группы; ✦ - изменения показателей, достоверные по отношению к контролю,  $p < 0,05$ )

В оттекающей от кишечника крови при комбинированном лечении РСА был достоверно ниже нормы лишь в первые сутки исследования на 13,4%, а относительно контроля был выше во все сроки на 15,7-62,5% ( $p < 0,05$ ). По сравнению с притоком данный показатель был ниже только на 8,7-11,9% ( $p < 0,05$ ).

ИТ в притекающей к кишечнику и оттекающей от него крови при комбинированном лечении тотального панкреонекроза к пятым суткам был сравним с нормой, но в начальные сроки превышал таковую на 58,8-83,7 и 35,4-46,9% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Относительно контрольной группы данный показатель в притекающей крови был ниже на третьи и пятые сутки на 24,8 и 59,7% ( $p < 0,05$ ), в оттекающей крови во все сроки эксперимента – на 28,1-65,6% ( $p < 0,05$ ), а на первые и третьи сутки превысил уровень в притоке на 37,5 и 33,9% ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Показательным фактом является значительное снижение продукции токсических субстанций гидрофильной природы в кровотоке кишечника на фоне терапии тотального панкреонекроза ремаксолем в сочетании с лазерным облучением крови. На фоне комбинированной терапии при панкреонекрозе отмечалось увеличение в притекающей к кишечнику и оттекающей от него крови относительно нормы содержания МСМ ( $\lambda=254$  нм) на третьи сутки исследования на 26,7 и 35,4% и МСМ ( $\lambda=280$  нм) притока на первые и третьи сутки на 91,9 и 101,7% ( $p < 0,05$ ), а МСМ ( $\lambda=280$  нм) на всех этапах исследования на 43,8-

91,5% ( $p < 0,05$ ). Относительно группы контроля МСМ ( $\lambda = 254$  нм) и МСМ ( $\lambda = 280$  нм) в притекающей к кишечнику и оттекающей от него крови на фоне комбинированного применения лазеротерапии и ремаксола при тотальном панкреонекрозе были ниже контроля во все сроки эксперимента на 16,8-69,5 и 25,7-69,9% ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Применение ремаксола в комбинации с лазеротерапией в условиях тотального панкреонекроза способствовало снижению интенсивности процессов ПОЛ относительно данных контроля, уменьшению активности фосфолипазы  $A_2$  и росту собственного антиоксидантного потенциала плазмы крови за счет повышения активности СОД.

Так, уровень ДК и МДА в тканях кишечника на фоне данной терапии был достоверно выше нормы на 53,9-167,7% и 23,9-143,8% ( $p < 0,05$ ), а относительно контрольной группы – ниже на 26,3-71,8% и 14,5-43,8% соответственно ( $p < 0,05$ ). Активность фосфолипазы  $A_2$  на фоне данной терапии достоверно превышала норму на 138,4-231,7%, но относительно группы контроля была достоверно ниже на 29,3-55,9%. СОД относительно нормы снижалась на 26,7-57,2% ( $p < 0,05$ ), а относительно контрольных величин данный показатель был достоверно выше на 27,8-128,4% (рис. 2).

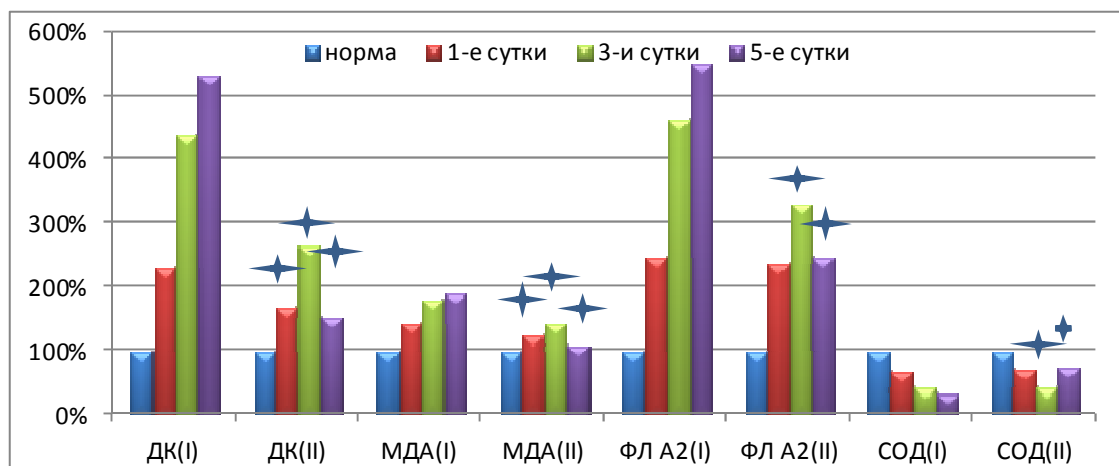


Рис. 2. Продукты перекисного окисления липидов, активность фосфолипазы  $A_2$  и супероксиддисмутазы в тканях кишечника при тотальном панкреонекрозе на фоне комбинированного применения ремаксола и лазеротерапии (нормы приняты за 100%; I - данные контрольной группы, II - данные опытной группы; \* - изменения показателей, достоверные по отношению к контролю,  $p < 0,05$ )

Комбинация лазеро- и ремаксолотерапии при тотальном панкреонекрозе способствовала улучшению показателей гемостаза уже с первых суток применения. Экстракт ткани кишечника на фоне комбинированного лечения панкреонекроза укорачивал время рекальцификации, КВ, ТВ относительно исходных данных на 15,7-30,5, 33,1-40,8 и 14,7-27,3% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Относительно группы контроля значения данных

показателей достоверно были выше на всех этапах исследования на 21,8-45,9, 20,6-41,9 и 26,3-54,5% соответственно. ПВ на фоне терапии лазером и ремаксолом укорачивалось относительно нормы на третьи сутки на 13,9% ( $p < 0,05$ ), а относительно контроля было выше на третьи и пятые сутки эксперимента на 33,8 и 60,7% ( $p < 0,05$ ) соответственно (рис. 3).

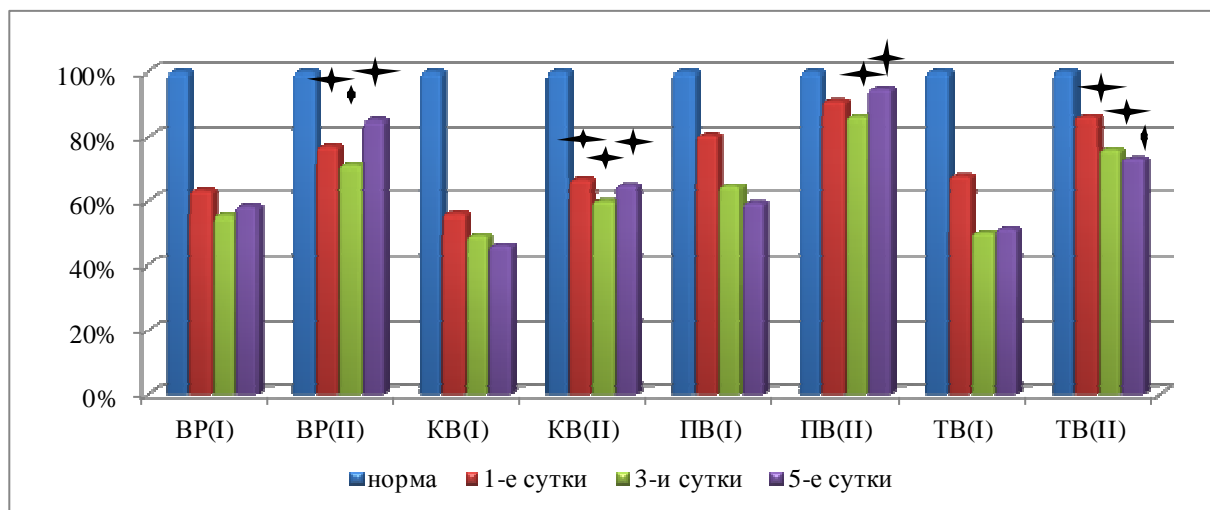


Рис. 3. Изменение коагуляционно-литического потенциала тканевых структур кишечника при тотальном панкреонекрозе на фоне комбинированного применения ремаксолола и лазеротерапии (нормы приняты за 100%; I - данные контрольной группы, II - данные опытной группы; ✦ - изменения показателей, достоверные по отношению к контролю,  $p < 0,05$ )

Время эуглобулинового фибринолиза при комбинированной терапии тотального панкреонекроза превышало норму лишь на третьи сутки исследования на 34,6% ( $p < 0,05$ ), а относительно контроля данный показатель был достоверно ниже на всех этапах наблюдения на 19,7-35,9% ( $p < 0,05$ ).

**Заключение.** Комбинированное применение ремаксолола и лазеротерапии при тотальном панкреонекрозе способствует снижению поступления токсинов в кровотоки и интоксикационного синдрома в целом, выступает в роли предохраняющего фактора в развитии ЭН. Установленная в ходе эксперимента способность данной терапии замедлять процессы ПОЛ и корректировать коагуляционно-литическое состояние тканей кишечной стенки явилась основным механизмом в коррекции функциональных нарушений со стороны кишечника, что способствует повышению барьерного потенциала кишечной стенки.

Подчеркнем, что положительное действие комбинированной терапии проявлялось и в виде уменьшения воспалительно-дегенеративных процессов не только со стороны кишечника, особенно его слизистой оболочки, но и тканевых структур органа поражения – поджелудочной железы.



Таким образом, полученные данные имеют важное значение для современной хирургии, в частности для хирургической панкреатологии, поскольку не только пополняют знания о причинах развития ЭН при панкреонекрозе, но и определяют базовые направления по ее своевременной коррекции, что внесет определенный вклад в лечение панкреонекроза в целом.

### Список литературы

1. Дибиров М.Д., Алиев А.М., Талханов В.М. Синдром кишечной недостаточности и его коррекция при панкреатогенном эндотоксикозе // Врач скорой помощи. – 2014. – № 1. – С. 58-64.
2. Кубышкин В.А., Мороз О.В., Степанова Ю.А. Гнойно-некротические осложнения острого деструктивного панкреатита: возможности лучевых методов диагностики в определении тактики лечения (часть 2) // Диагностическая и интервенционная радиология. – 2013. – Т. 7. – № 4-4. – С. 33-43.
3. Шаповальянц С.Г., Будзинский С.А., Федоров Е.Д. Эндоскопическая профилактика и лечение острого панкреатита после транспапиллярных ретроградных вмешательств // Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии : XXI Международный конгресс Ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ. – Пермь, 2014. – С. 158.
4. Batra H.S., Kumar A., Saha T.K. Comparative study of serum amylase and lipase in acute pancreatitis patients // Indian J. Clin. Biochem. – 2015. – Apr. – Vol. 30. – Iss. 2. – P. 230-233.
5. Guo Z.Z., Wang P., Yi Z.H. The crosstalk between gut inflammation and gastrointestinal disorders during acute pancreatitis // Curr. Pharm. Des. – 2014. – Vol. 20. – Iss. 7. – P. 1051-1062.
6. Huang W., Cash N., Wen L. Effects of the mitochondria-targeted antioxidant mitoquinone in murine acute pancreatitis // Mediators Inflamm. – 2015. – Vol. 2015. – Article ID: 901780.
7. Nieminen A., Maksimow M., Mentula P. Circulating cytokines in predicting development of severe acute pancreatitis // Crit Care. – 2014. – May 21. – 18(3) : R104.