

DOI 10.21292/2078-5658-2016-13-3-14-18

# ОСНОВЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ (экспериментальное исследование)\*

А. П. ВЛАСОВ<sup>1</sup>, А. Н. МИТРОШИН<sup>2</sup>, В. И. НИКОЛЬСКИЙ<sup>2</sup>, А. В. СУСЛОВ<sup>2</sup>, Т. А. МУРАТОВА<sup>1</sup><sup>1</sup>Медицинский институт ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н. П. Огарева», г. Саранск<sup>2</sup>Медицинский институт ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет», г. Пенза

Важнейшими триггерными механизмами мембранодеструктивных явлений при остром панкреатите являются активизация перекисного окисления мембранных липидов, циркуляторная и тканевая гипоксия. Применение антиоксидантной терапии при остром экспериментальном панкреатите снижает интенсивность перекисного окисления липидов (уровень диеновых конъюгатов статистически значимо снижается на 30,4–32,5%) и восстанавливает тканевое дыхание (окислительно-восстановительный потенциал выше контроля на 10–15%). На микроциркуляцию такого рода терапия оказывает меньшее влияние.

*Ключевые слова:* панкреатит, антиоксидант, гипоксия, микроциркуляция, перекисное окисление липидов.

## BASICS OF ANTIOXIDANT THERAPY IN ACUTE PANCREATITIS (experimental study)

A. P. VLASOV<sup>1</sup>, A. N. MITROSHIN<sup>2</sup>, V. I. NIKOLSKIY<sup>2</sup>, A. V. SUSLOV<sup>2</sup>, T. A. MURATOVA<sup>1</sup><sup>1</sup>Medical Institute by Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia<sup>2</sup>Medical Institute by Penza State University, Penza, Russia

The activation of membrane lipid peroxidation, circulatory and tissue hypoxia are crucial triggers for membrane destroying events in acute pancreatitis. The use of anti-oxidant therapy in acute experimental pancreatitis reduces the intensity of lipid peroxidation (the level of diethenoid conjugates statistically confidently reduces by 30.4-32.5%) and restores the tissue respiration (oxidation-reduction potential is above the control one by 10-15%). Such therapy provides less effect on the microcirculation.

*Key words:* pancreatitis, antioxidant, hypoxia, microcirculation, lipid peroxidation.

На сегодняшний день основные принципы лечения острого панкреатита сформулированы достаточно четко. Однако, несмотря на кажущуюся их «незыблемость», вопросов, требующих ответов, остается большое количество [4, 6–9].

Расстройство микроциркуляции при панкреатите в настоящее время можно рассматривать как «фоновый патогенетический фактор» прогрессирования острого панкреатита, пусковыми факторами которого являются медиаторы воспаления. Нарушение микроциркуляции вызывает циркуляторную гипоксию тканей, в том числе и в областях, где отсутствует непосредственное влияние факторов агрессии. Расстройство микроциркуляции создает благоприятный фон для воздействия факторов агрессии на «ослабленную» ткань, тем самым закладывая основу для дальнейшего прогрессирования острого панкреатита. Основу такого «благоприятного фона», как показано в многочисленных исследованиях последних лет, составляет активизация процессов перекисного окисления липидов. Данный механизм запускает цепную реакцию в биологических мембранах, итогом которой являются мембранодеструктивные явления [3, 5, 12].

Циркуляторная и тканевая гипоксия в ткани поджелудочной железы, а также перекисное окисление липидов в биомембранах панкреатоцитов находятся в тесной взаимосвязи друг с другом и по мере про-

грессирования острого панкреатита могут оказать синергический эффект, приводящий к цитодеструктивным процессам в участках ткани поджелудочной железы, не подверженных непосредственному влиянию факторов агрессии [1, 2, 10, 11].

С целью предупреждения развития мембранодеструктивных процессов и, как следствие, цитопротекторного эффекта в настоящее время активно применяют лекарственные препараты, обладающие антиоксидантным действием, точкой приложения которых является цепная реакция перекисного окисления липидов в биологических мембранах. Учитывая патогенетическую взаимосвязь перекисного окисления липидов с циркуляторной и тканевой гипоксией, представляется возможным оценить влияние антиоксиданта на процессы микроциркуляции и тканевое дыхание в ткани поджелудочной железы.

Цель: определить патогенетические эффекты антиоксидантной терапии на тканевые структуры поджелудочной железы при остром экспериментальном панкреатите.

### Материалы и методы

Экспериментальные работы проведены на 34 животных, которым моделировали острый панкреатит отечной формы. Методика эксперимента: взрослым беспородным собакам обоего пола массой от 11,3

\*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках СП-2094.2013.4.

до 16,7 кг в условиях общей анестезии выполняли срединную лапаротомию, проводили пункцию желчного пузыря с забором желчи и последующим лигированием места пункции, затем вводили желчь в паренхиму вертикальной части поджелудочной железы по 0,5 мл в 5 точках. В контрольные сроки исследования (1-е, 3-и и 5-е сут) животным производили релапаротомию, в ткани поджелудочной железы интраоперационно исследовали окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) и коэффициент диффузии кислорода, оценивали микроциркуляцию и морфологическое состояние органа. Выполняли биопсию ткани поджелудочной железы с целью изучения процессов перекисного окисления липидов. Осуществляли макро- и микроскопическую (окраска препаратов гематоксилин-эозином) оценку тканевых структур поджелудочной железы.

Животные были разделены на две серии. Первая серия ( $n = 12$ ) – контрольная, животным в послеоперационном периоде проводили инфузионную терапию (внутривенные введения 5% раствора глюкозы и 0,89% раствора хлорида натрия). Вторая серия ( $n = 12$ ) – опытная, животным в послеоперационном периоде проводили инфузионную терапию (внутривенные введения 5% раствора глюкозы и 0,89% раствора хлорида натрия) и дополнительно включали внутривенные инфузии этоксида (10 мг/кг). Объем инфузионной терапии во всех группах был аналогичным. Нормальные значения показателей изучаемых процессов были получены у 10 здоровых животных. Животных содержали в условиях вивария в соответствии с санитарными нормами, предусмотренными «Правилами лабораторной практики» (приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708 н).

Для исследования микроциркуляции использовали лазерную доплеровскую флоуметрию ткани поджелудочной железы с помощью анализатора ЛАКК-02 (ООО НПП «ЛАЗМА», Россия). Полученные данные регистрировали и расшифровывали с помощью прилагаемого к анализатору программного обеспечения.

Для оценки тканевого дыхания определяли ОВП. Регистрацию ОВП осуществляли на универсальном ионометре ЭВ-74 по методике, изложенной в аннотации к прибору. Показатели интенсивности перекисного окисления липидов: диеновые (ДК) определяли с помощью спектрофотометрического метода при длине волны 232–233 и 275 нм; уровень спонтанного малонового диальдегида (МДА) – спектрофотометрического метода в реакции с тиобарбитуровой кислотой (Sigma).

Полученные цифровые данные анализировали с применением методов вариационной статистики, используя критерий Стьюдента ( $t$ ), вычисляли среднюю арифметическую ( $M$ ), ошибку средней арифметической ( $m$ ) с помощью программы Statistica 6.0.

## Результаты

Модель острого панкреатита оказалась адекватной для достижения поставленной цели. У всех животных развивался острый очаговый панкреонекроз. Интраоперационно поджелудочная железа была гиперемирована, отечна, напряжена, с очагами некроза тканей, особенно в местах введения желчи. В динамике эксперимента наиболее выраженные макроскопические изменения зафиксированы на 3-и сут.

При моделированном панкреатите в поджелудочной железе возникали существенные функционально-метаболические изменения.

Метод лазерной доплеровской флоуметрии микроциркуляции крови в ткани поджелудочной железы показал, что показатель микроциркуляции в контрольной группе на 1-е и 3-и сут был статистически значимо ниже нормы на 21,7 и 31,6% ( $p < 0,05$ ) соответственно. На 5-е сут эксперимента показатель микроциркуляции в контрольной группе (на фоне стандартной инфузионной терапии) достоверно от нормы не отличался. Показатель шунтирования на протяжении всего эксперимента статистически значимо превышал норму на 1-е, 3-и и 5-е сут на 109,9; 124,2 и 91,2% ( $p < 0,05$ ).

При изучении тканевого дыхания в ткани поджелудочной железы установлено, что ОВП в динамике эксперимента в контрольной группе был достоверно ниже нормы на 49,1% ( $p < 0,05$ ).

Для анализа процессов перекисного окисления липидов в ткани поджелудочной железы были изучены молекулярные продукты. Оказалось, что содержание ДК в контрольной группе статистически значимо превышало норму на протяжении всего наблюдения на 218,4–107,9% ( $p < 0,05$ ). Содержание МДА также статистически значимо превышало норму в динамике эксперимента на 88,9–253,4% ( $p < 0,05$ ).

Показатель микроциркуляции на фоне применения антиоксиданта статистически значимо от контрольной группы отличался только на 3-и сут, где достоверно превышал контроль на 15,1% ( $p < 0,05$ ). Показатель шунтирования в опытной группе статистически значимо от контроля отличался только на 5-е сут и был ниже контроля на 39,7% ( $p < 0,05$ ), что соответствовало норме (табл. 1).

Анализируя динамику изменений тканевого дыхания поджелудочной железы на фоне применения антиоксиданта, получили следующие результаты. Так, ОВП на 1-е и 3-и сут наблюдения был выше контроля на 10–15% ( $p < 0,05$ ), а к 5-м сут статистически значимой достоверной разницы между ОВП на фоне инфузионной и антиоксидантной терапии не установлено.

Содержание ДК в динамике эксперимента было статистически значимо ниже контроля на всех этапах наблюдения на 24,5; 28,1 и 30,4% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Уровень МДА также был ниже контроля на 27,4–32,5% ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

**Таблица 1. Микроциркуляция в ткани поджелудочной железы при остром панкреатите ( $M \pm m, n = 24$ )****Table 1. Microcirculation in the pancreas tissue in case of acute pancreatitis ( $M \pm m, n = 24$ )**

Показатель	Норма	Группа	Этапы послеоперационного наблюдения		
			1-е сут	3-и сут	5-е сут
Микроциркуляции	10,94 ± 0,38	I	8,57 ± 0,37*	7,48 ± 0,33 <sup>†</sup>	10,14 ± 0,31
		II	9,05 ± 0,25*	8,61 ± 0,34 <sup>#</sup>	10,74 ± 0,46
Шунтирования	0,91 ± 0,08	I	1,91 ± 0,12*	2,04 ± 0,15 <sup>†</sup>	1,74 ± 0,13*
		II	1,88 ± 0,06 <sup>†</sup>	1,81 ± 0,07*	1,05 ± 0,13 <sup>#</sup>

*Примечание:* здесь и в табл. 2 – I группа – контрольная; II группа – с применением антиоксиданта; \* – данные, которые статистически значимо меняются по отношению к норме при  $p < 0,05$ ; <sup>†</sup> – достоверность изменений между контрольной и опытной группой при  $p < 0,05$ .

**Таблица 2. Перекисное окисление липидов в ткани поджелудочной железы при остром панкреатите ( $M \pm m, n = 24$ )****Table 2. Lipid peroxidation in the pancreas tissue in case of acute pancreatitis ( $M \pm m, n = 24$ )**

Показатель	Норма	Группа	Этапы послеоперационного наблюдения		
			1-е сут	3-и сут	5-е сут
Дниевые конъюгаты (у. е./мг липидов)	0,38 ± 0,03	I	0,98 ± 0,02 <sup>†</sup>	1,21 ± 0,05 <sup>†</sup>	0,79 ± 0,03 <sup>†</sup>
		II	0,74 ± 0,03 <sup>#</sup>	0,87 ± 0,04 <sup>#</sup>	0,55 ± 0,02 <sup>#</sup>
МДА (нмоль/г белка)	3,71 ± 0,11	I	7,01 ± 0,15 <sup>†</sup>	13,11 ± 0,3 <sup>†</sup>	12,24 ± 0,31 <sup>†</sup>
		II	5,75 ± 0,07 <sup>#</sup>	9,52 ± 0,04 <sup>#</sup>	8,26 ± 0,05 <sup>#</sup>

В ходе исследования установлено положительное влияние антиоксидантной терапии на течение воспалительного процесса в поджелудочной железе, что было подтверждено не только микро-, но и макроскопически. Так, в контрольные сроки наблюдения в опытной группе по сравнению с контролем интраоперационно поджелудочная железа была менее напряжена и гиперемирована, очаги некроза тканей были незначительными. Наиболее четко положительный эффект от проводимой терапии зафиксирован на 3-и–5-е сут эксперимента.

### Обсуждение

При остром экспериментальном панкреатите в поджелудочной железе формируется циркуляторная гипоксия, что подтверждается снижением показателя микроциркуляции (на 21,7–31,6%) и увеличением показателя шунтирования (на 91,2–124,2%) относительно нормы. В ткани поджелудочной железы при остром панкреатите развивается тканевая гипоксия. Значение ОВП тканевых структур органа в динамике эксперимента снижалось на 10,1–49,1%. Пик циркуляторной и метаболической гипоксии при данной модели билиарного очагового панкреонекроза приходился на 3-и сут динамического наблюдения. Важнейшим патогенетическим компонентом воспалительно-некротического процесса тканевых структур органа поражения являлась интенсификация перекисного окисления мембранных липидов, что подтверждено статистически значи-

мым повышением уровня молекулярных продуктов липопероксидации на 88,9–253,4%.

Включение антиоксиданта этоксида в лечение острого панкреатита приводило к заметному клинико-лабораторному лечебному эффекту. Основой эффективности являлась способность препарата существенно уменьшать в тканях органа интенсивность перекисного окисления липидов, что выражалось статистически значимым снижением по сравнению с контролем содержания в них ДК и МДА на всех этапах эксперимента. Депрессия активности перекисного окисления липидов существенно уменьшает вероятность нарушения целостности биологических мембран клеток органа поражения, что и определяет патогенетическую направленность антиоксидантной терапии по купированию аутолитического процесса. Отметим, что применение антиоксидантной терапии в меньшей степени восстанавливало микроциркуляцию в поджелудочной железе. Этот факт имеет не только академическое, но, безусловно, и прикладное значение, поскольку определяет направления дальнейших исследований по поиску новых схем предупредительной терапии на триггерном этапе патологии.

### Выводы

1. Важнейшими триггерными механизмами мембранодеструктивных явлений при остром панкреатите являются активизация перекисного окисления мембранных липидов, циркуляторная и тканевая

гипоксия. Существенные проявления указанных процессов отмечаются уже через сутки после воздействия патогенного агента.

2. Антиоксидантная терапия обладает заметной клинико-лабораторной эффективностью в лечении острого экспериментального панкреатита. Основной точкой ее патогенетического приложения являются процесс перекисного окисления мембранных липидов (уровень ДК и МДА в тканях поджелудочной железы статистически значимо снижается на 30,4–32,5%). На микроциркуляцию и тканевое дыхание такого рода терапия оказывает меньшее влияние.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Винник Ю. С., Савченко А. А., Теплякова О. В. и др. Коррекция нарушений перекисного гомеостаза у больных различными формами острого панкреатита // *Вестн. эксперим. и клинич. хирургии.* – 2009. – Т. 2, № 1. – С. 8–13.
2. Власов А. П., Анашкин С. Г., Власова Т. И. и др. Роль микроциркуляторных расстройств в триггерных механизмах прогрессирования острого панкреатита // *Анналы хирургич. гепатологии.* – 2014. – Т. 19, № 4. – С. 83–88.
3. Гайворонский И. В., Ефимов А. Л., Ничипорук Г. И. и др. Изменения гемомикроциркуляторного русла поджелудочной железы и радужки глаза у крыс при остром экспериментальном панкреатите // *Вестн. Рос. воен.-мед. академии.* – 2010. – № 1 (29). – С. 124–129.
4. Миронов В. И., Шелест П. В. Хирургическое лечение острого панкреатита. Спорные и нерешенные вопросы // *Сибир. мед. журнал.* – 2008. – № 2. – С. 95–101.
5. Петров С. В., Ефимов А. Л. Прогностическое значение изменений микроциркуляторного русла у больных острым панкреатитом // *Регионар. кровообращение и микроциркуляция.* – 2003. – № 4 (8). – С. 60–64.
6. Полушин Ю. С., Суховецкий А. В., Сурков М. В. и др. Острый послеоперационный панкреатит. – СПб: Фолиант, 2003. – 160 с.
7. Романов Э. И., Зубеев П. С., Рыжов М. К. и др. Факторы риска летального исхода при панкреонекрозе // *Вестн. хирургии им. И. И. Грекова.* – 2014. – Т. 173, № 4. – С. 39–42.
8. Саганов В. П., Хитрихеев В. Е., Цибиков Е. Н. и др. Проблемы диагностики и лечения различных форм острого панкреатита (обзор литературы) // *Бюл. ВСНЦ СО РАМН.* – 2011. – № 4 (80). – С. 331–335.
9. Туровец М. И., Зюбина Е. Н. Сравнительный анализ применения различных методов профилактики пост-ЭРХПГ панкреатита // *Вестн. анестезиол. и реаниматол.* – 2015. – № 4. – С. 31–39.
10. Фирсова В. Г., Паршиков В. В., Градусов В. П. Острый панкреатит: современные аспекты патогенеза и классификации // *Соврем. технологии в медицине.* – 2011. – № 2. – С. 127–134.
11. Фуньгин М. С., Чегодаева А. А. О некоторых патогенетических принципах лечения острого панкреатита // *Бюл. ВСНЦ СО РАМН.* – 2012. – № 4 (86). – С. 145–147.
12. Яицкий Н. А., Седов В. М., Сопия Р. А. Острый панкреатит. – М.: МЕД-пресс-информ, 2003. – 224 с.

#### REFERENCES

1. Vinnik Yu.S., Savchenko A.A., Teplyakova O.V. et al. Management of disorders in peroxide homeostasis in those suffering from various forms of acute pancreatitis. *Vestn. Eksperim. i Klinich. Khirurgii*, 2009, vol. 2, no. 1, pp. 8–13. (In Russ.)
2. Vlasov A.P., Anashkin S.G., Vlasova T.I. et al. Role of microcirculation disorders in trigger mechanisms of the acute pancreatitis progression. *Annly Khirurgich. Gepatologii*, 2014, vol. 19, no. 4, pp. 83–88. (In Russ.)
3. Gayvoronskiy I.V., Efimov A.L., Nichiporuk G.I. et al. Changes in hemomicrocirculation route of pancreas and iris in rats in case of acute experimental pancreatitis. *Vestn. Ros. Voen.-Med. Akademii*, 2010, no. 1 (29), pp. 124–129. (In Russ.)

4. Mironov V.I., Shelest P.V. Surgical treatment of acute pancreatitis. Disputable and outstanding questions. *Sibir. Med. Journal*, 2008, no. 2, pp. 95–101. (In Russ.)
5. Petrov S.V., Efimov A.L. Prognostic value of changes in microcirculation route in those suffering from acute pancreatitis. *Regionar. Krovoobrascheniye i Microtsirkulyatsiya*, 2003, no. 4 (8), pp. 60–64. (In Russ.)
6. Polushin Yu.S., Sukhovetskiy A.V., Surkov M.V. et al. *Ostry posleoperatsionny pankreatit*. [Acute post-surgery pancreatitis]. St. Petersburg, Foliant Publ., 2003, 160 p.
7. Romanov E.I., Zubeev P.S., Ryzhov M.K. et al. Risk factors of lethal outcomes in case of pancreatonecrosis. *Vestn. Khirurgii im. I.I. Grekova*, 2014, vol. 173, no. 4, pp. 39–42. (In Russ.)
8. Saganov V.P., Khitrikheev V.E., Tsibikov E.N. et al. Problems of diagnostics and treatment of various forms of acute pancreatitis (literature review). *Bull. VSNTS SO RAMN*, 2011, no. 4 (80), pp. 331–335. (In Russ.)
9. Turvets M.I., Zyubina E.N. Comparative analysis of various techniques for prevention of the post-ERCP pancreatitis *Vestnik Anesteziol. i Reanimatol.*, 2015, no. 4, pp. 31–39. (In Russ.)
10. Firsova V.G., Parshikov V.V., Gradusov V.P. Acute pancreatitis: modern aspects of pathogenesis and classification. *Sovrem. Tekhnologii v Meditsine*, 2011, no. 2, pp. 127–134. (In Russ.)
11. Funygin M.S., Chegodaeva A.A. About certain pathogenic principles of acute pancreatitis treatment. *Bull. VSNTS SO RAMN*, 2012, no. 4 (86), pp. 145–147. (In Russ.)
12. Yaitskiy N.A., Sedov V.M., Sopiya R.A. *Ostry pankreatit*. [Acute pancreatitis]. Moscow, MEDpress-Inform Publ., 2003, 224 p.

#### ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

*ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н. П. Огарева»,  
Медицинский институт,  
430005, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68.  
Тел.: 8 (8342) 32–87–56.*

#### **Власов Алексей Петрович**

*доктор медицинских наук, профессор, заведующий  
кафедрой факультетской хирургии.  
E-mail: var.61@yandex.ru*

#### **Муратова Татьяна Александровна**

*кандидат медицинских наук, доцент кафедры  
факультетской хирургии.  
E-mail: var.61@yandex.ru*

*ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет»,  
Медицинский институт,  
440026, г. Пенза, ул. Лермонтова, д. 28.*

#### **Митрошин Александр Николаевич**

*доктор медицинских наук, профессор, заведующий  
кафедрой хирургии.  
Тел.: 8 (8412) 54–82–94.  
E-mail: manpnz@bk.ru*

#### **Никольский Валерий Исаакович**

*доктор медицинских наук, профессор кафедры хирургии.  
E-mail: nvipnz@bk.ru*

#### **Суслов Андрей Владимирович**

*кандидат медицинских наук, ассистент кафедры  
хирургии.  
E-mail: dr.suslov@rambler.ru*

**FOR CORRESPONDENCE:**

*Ogarev Mordovia State University, Medical Institute,  
68, Bolshevikskaya St., Saransk, 430005.  
Phone: +7 (8342) 32-87-56.*

**Alexey P. Vlasov**

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Surgery  
Department.  
E-mail: vap.61@yandex.ru*

**Tatiana A. Muratova**

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor at Surgery  
Department.  
E-mail: vap.61@yandex.ru*

*Penza State University, Medical Institute,  
28, Lermontov St., Penza, 440026,*

**Alexander N. Mitroshin**

*Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Surgery  
Department.  
Phone: +7 (8412) 54-82-94.  
E-mail: manpnz@bk.ru*

**Valery I. Nikolsky**

*Doctor of Medical Sciences, Professor of Surgery Department.  
E-mail: nvipnz@bk.ru*

**Andrey V. Suslov**

*Candidate of Medical Sciences, Assistant at Surgery  
Department.  
E-mail: dr.suslov@rambler.ru*