

УДК 616.37-002:612.111.22

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛОНГИДАЗЫ, ГИПОКСЕНА И ЭССЕНЦИАЛЕ НА НАРУШЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ БИЛИАРНЫМ И НЕБИЛИАРНЫМ ПАНКРЕАТИТОМ

Долгарева С.А., Локтионов А.Л., Конопля А.И., Суняйкина О.А., Гаврилюк В.П.

ГОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет»,

Курск, e-mail: wvas@mail.ru

Под постоянным наблюдением находилось 82 пациента с острым панкреатитом (40 пациентов с билиарным и 42 больных с небилиарным острым панкреатитом), проходивших стационарное лечение в МУЗ «Городская клиническая больница №4» г. Курска с 2008 по 2011 г. В работе представлены данные о нарушениях структурно-функциональных свойств мембраны эритроцитов у больных острым панкреатитом билиарной и небилиарной этиологии до и после традиционной терапии. Определена недостаточная эффективность использования традиционной комплексной терапии у больных острым панкреатитом и обоснована необходимость применения дополнительно лонгидазы, гипоксена и эссенциале в работе профильных лечебных и профилактических учреждений.

**Ключевые слова:** острый панкреатит, традиционная фармакотерапия, лонгидаза, гипоксен, эссенциале

## EFFICIENCY OF INFLUENCE OF LONGIDAZA, HYPOXEN AND ESSENCIALE ON THE BROKEN INDICATORS OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES AT PATIENTS WITH BILIARY AND NONBILIARY ACUTE PANCREATITIS

Dolgareva S.A., Loktionov A.L., Konoplya A.I., Sunyaikina O.A., Gavriliouk V.P.

Kursk state medical university, Kursk, e-mail: wvas@mail.ru

Under constant observation there were 82 patients with an acute pancreatitis (40 patients with biliary and 42 patients with nonbiliary an acute pancreatitis), passing hospitalisation in the Kursk city hospital №4 with 2008 for 2011. In work the data about disturbances of structural and functional properties of a membrane of erythrocytes at patients with biliary and nonbiliary acute pancreatitis after and before traditional therapy. In work insufficient efficiency of use of traditional therapy at patients with acute pancreatitis is defined and necessity of application in addition of longidaza, hypoxen and essenciale in work profile medical and preventive establishments is proved.

**Keywords:** acute pancreatitis, traditional pharmacological therapy, longidaza, hypoxen, essenciale

Острый панкреатит является важнейшей проблемой экстренной хирургии. Занимает третье место среди заболеваний, которые составляют острую хирургическую патологию органов брюшной полости и наблюдается от 9 до 12,5%, при этом летальность остается высокой (3,6–32,5%) и составляет 87,6% при развитии осложнений, а именно при панкреонекрозе, особенно в ранние сроки заболевания. Современное течение острого панкреатита характеризуется тенденцией к генерализации, способствуя вовлечению в патологический процесс иммунной, эндокринной систем и появлению как локальной, так и общесоматической симптоматики [2, 3].

Сегодня можно с убедительностью утверждать, что эритроциты вовлекаются в патологический процесс не только при гематологических заболеваниях, но и претерпевают серьезные изменения структуры и функции при болезнях разного генеза, в том числе и при остром панкреатите. Мембрана эритроцита играет ключевую роль в детерминации гомеостаза и функ-

циональной способности клетки. От физико-химического состояния эритроцитарной мембраны зависят процесс активного транспорта ионов, особенности функционирования мембранассоциированных ферментов, характер взаимодействия клетки со средой, что, в свою очередь, непосредственно влияет на патогенез заболевания [2, 4].

**Цель исследования** – определение эффективности использования лонгидазы, гипоксена и эссенциале Н в коррекции структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов у больных острым панкреатитом различной этиологии.

### Материал и методы исследования

Под постоянным наблюдением на основании информированного согласия находилось 82 пациента с острым билиарным панкреатитом (40 пациентов с билиарным и 42 больных с небилиарным острым панкреатитом), проходивших стационарное лечение в МУЗ «Городская клиническая больница №4» г. Курска с 2008 по 2011 г. В качестве контроля исследовали периферическую кровь 14 здоровых доноров добровольцев.

Постановку диагноза осуществляли на основании жалоб, анамнеза заболевания, объективного

и лабораторного обследования, инструментальных данных: УЗИ, ФГДС и рентгенографии. Из исследования исключались пациенты, у которых происходило нагноение очагов панкреатической деструкции. Среди методов декомпрессии желчных путей при билиарном остром панкреатите предпочтение отдавали транспилюлярным вмешательствам, выполняемым в кратчайшие сроки от момента госпитализации.

Все обследованные получали традиционное лечение (инфузионная терапия со спазмолитиками и анальгетиками; антиферментные препараты – гордокс, контрикал; антибактериальная терапия, препаратами широкого спектра действия, антисекреторная терапия). При этом 20 больных ОБП и 19 пациентов с ОНБП дополнительно получали лонгидазу (по 3000 МЕ внутримышечно через 72 часа №5), гипоксен (по 2,0 в 5% – 400,0 раствора глюкозы внутривенно капельно через 24 часа №7) и эссенциале Н (по 5,0 внутривенно медленно через 24 часа №10).

Лабораторные методы исследования крови проводились по общепринятым методикам при поступлении больных в стационар и на 15-е сутки. При оценке гемограмм за основу брались физиологические нормы, соответствующие международной системе единиц (СИ) в клинических исследованиях.

Эритроциты получали из 5 мл гепаринизированной крови по методу E. Beutler [11]. Определяли сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) [8]

и сорбционную емкость их гликокаликса (СЕГ) [7]. О функциональном состоянии эритроцитов судили также по накоплению малонового диальдегида (МДА) [10].

Мембраны эритроцитов получали методом G.T. Dodge [12]. Электрофорез проводили в присутствии додецилсульфата натрия в вертикальных пластинах полиакриламидного геля по методу U.K. Laemmli [14]. Белки окрашивали кусами голубым R-250 по модифицированной методике G. Fairbanks [13]. Липиды выделяли методом тонкослойной хроматографии [5].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя непараметрические методы [6].

### Результаты исследования и их обсуждение

При поступлении в стационар у больных ОБП выявлено снижение представительности в мембране красных клеток крови подфракций спектрина ( $\alpha$  и  $\beta$ ), анкирина, анионтранспортного белка (АТБ), белка полосы 4.5 и повышение – белка полосы 4.1, паллидина, дематина, актина, тропомиозина, СЕГ, ССЭ и концентрации внутри клеток МДА (табл. 1).

Таблица 1

Структурно-функциональные свойства мембраны эритроцитов у больных ОП на фоне традиционного лечения ( $M \pm m$ )

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5
		Больные ОП				
		Здоровые	ОБП	ОНБП	ОБП после ТЛ	ОНБП после ТЛ
$\alpha$ -спектрин	мг%	114,3 ± 8,01	98,4 ± 5,1 <sup>*1</sup>	83,1 ± 3,6 <sup>*1,2</sup>	122,8 ± 5,3 <sup>*2</sup>	99,6 ± 7,8 <sup>*1,3</sup>
$\beta$ -спектрин	мг%	106,6 ± 7,62	81,9 ± 4,8 <sup>*1</sup>	68,8 ± 3,6 <sup>*1,2</sup>	92,3 ± 6,9 <sup>*1,2</sup>	70,6 ± 12,7 <sup>*1</sup>
Анкирин	мг%	113,3 ± 8,92	92,7 ± 3,8 <sup>*1</sup>	30,6 ± 5,5 <sup>*1,2</sup>	113,3 ± 3,7 <sup>*2</sup>	39,9 ± 5,1 <sup>*1</sup>
Анионтранспортный белок	мг%	189,6 ± 9,4	166,9 ± 8,8 <sup>*1</sup>	138,7 ± 3,9 <sup>*1,2</sup>	178,2 ± 2,8 <sup>*1,2</sup>	159,7 ± 9,5 <sup>*1,3</sup>
4.1	мг%	43,3 ± 4,12	56,6 ± 2,7 <sup>*1</sup>	75,5 ± 4,1 <sup>*1,2</sup>	46,8 ± 8,7 <sup>*2</sup>	68,1 ± 8,9 <sup>*1</sup>
Паллидин	мг%	56,6 ± 3,91	70,6 ± 4,2 <sup>*1</sup>	92,8 ± 5,8 <sup>*1,2</sup>	71,9 ± 5,8 <sup>*1</sup>	68,4 ± 7,1 <sup>*1,3</sup>
4.5	мг%	98,2 ± 7,45	73,6 ± 5,7 <sup>*1</sup>	71,9 ± 2,5 <sup>*1</sup>	92,9 ± 7,2 <sup>*2</sup>	64,6 ± 9,2 <sup>*1</sup>
Дематин	мг%	20,1 ± 2,12	45,6 ± 2,1 <sup>*1</sup>	64,9 ± 3,1 <sup>*1,2</sup>	35,8 ± 3,7 <sup>*1,2</sup>	72,9 ± 7,3 <sup>*1</sup>
Актин	мг%	102,1 ± 8,94	124,5 ± 7,8 <sup>*1</sup>	168,2 ± 6,1 <sup>*1,2</sup>	129,1 ± 10,4 <sup>*1</sup>	159,0 ± 17,1 <sup>*1</sup>
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа	мг%	37,8 ± 2,61	36,1 ± 2,8	22,6 ± 1,1 <sup>*1,2</sup>	34,9 ± 7,3	27,8 ± 3,2 <sup>*1</sup>
Тропомиозин	мг%	68,8 ± 4,63	88,9 ± 4,1 <sup>*1</sup>	92,7 ± 5,1 <sup>*1</sup>	78,1 ± 5,9 <sup>*1,2</sup>	73,8 ± 12,5 <sup>*2</sup>
Глутатион-S-трансфераза	мг%	49,3 ± 4,12	50,5 ± 2,9	41,5 ± 1,8 <sup>*1,2</sup>	59,1 ± 6,3	42,6 ± 3,0 <sup>*1</sup>
СЕГ	10 <sup>-12</sup> г/эр.	1,42 ± 0,11	1,57 ± 0,11 <sup>*1</sup>	1,25 ± 0,05 <sup>*1,2</sup>	1,38 ± 0,15 <sup>*2</sup>	1,44 ± 0,13 <sup>*3</sup>
ССЭ	%	32,8 ± 1,23	48,4 ± 3,89 <sup>*1</sup>	20,5 ± 1,01 <sup>*1,2</sup>	39,9 ± 2,7 <sup>*1,2</sup>	19,7 ± 1,9 <sup>*1</sup>
МДА	нмоль · 10 <sup>6</sup> эр.	3,54 ± 0,15	5,2 ± 0,28 <sup>*1</sup>	6,5 ± 0,38 <sup>*1,2</sup>	3,35 ± 0,44 <sup>*2</sup>	5,67 ± 0,48 <sup>*1</sup>

У пациентов с ОНБП в отличие от предыдущей группы в большей степени снижена представительность  $\alpha$ - и  $\beta$ -спектрина, анкирина, АТБ, достоверно выше уровень белка полосы 4.1, паллидина, дематина, актина и концентрация внутриклеточного МДА (см. табл. 1). При этом у паци-

ентов с ОНБП по сравнению с пациентами с ОНБП и со здоровыми донорами снижен уровень глутатион-S-трансферазы (Г-S-T), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, ССЭ и СЕГ (см. табл. 1).

У пациентов с ОБП при госпитализации выявлено повышение в эритроцитарной

мембране уровня свободного холестерина, свободных жирных кислот, триглицеридов, фосфатидилэтаноламина, лизофосфатидилхолина, фосфатидилинозитола и снижена концентрация сфингомиелина и фосфатидилхолина, тогда как у пациентов с ОНБП снижен уровень моно- и диглицеридов,

эфиров холестерина, в то время как уровень фосфатидилэтаноламина, лизофосфатидилхолина, фосфатидилинозитола в отличие от предыдущей группы остается на уровне нормы, так же как концентрация свободного холестерина, при этом уровень сфингомиелинов достоверно ниже (табл. 2).

Таблица 2

Липидный спектр мембран эритроцитов у больных ОП на фоне традиционного лечения (M ± m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5
		Больные ОП				
		Здоровые	ОБП	ОНБП	ОБП после ТЛ	ОНБП после ТЛ
Холестерин	мг%	47,8 ± 1,4	58,2 ± 1,1 <sup>*1</sup>	50,9 ± 0,33 <sup>*1,2</sup>	49,8 ± 0,35 <sup>*1,2</sup>	48,7 ± 0,15 <sup>*3</sup>
Эфиры холестерина	мг%	46,2 ± 1,62	47,0 ± 0,4	35,4 ± 0,63 <sup>*1,2</sup>	47,6 ± 0,31	34,7 ± 0,38 <sup>*1</sup>
Свободные жирные кислоты	мг%	2,98 ± 0,17	3,46 ± 0,17 <sup>*1</sup>	3,44 ± 0,19 <sup>*1</sup>	2,28 ± 0,19 <sup>*1,2</sup>	2,86 ± 0,2 <sup>*3</sup>
Моно и диглицериды	мг%	9,6 ± 0,49	9,04 ± 0,2	7,64 ± 0,42 <sup>*1,2</sup>	10,3 ± 0,51 <sup>*2</sup>	8,83 ± 0,4 <sup>*3</sup>
Триглицериды	мг%	14,5 ± 0,67	16,9 ± 0,23 <sup>*1</sup>	15,1 ± 0,43 <sup>*2</sup>	16,7 ± 0,32 <sup>*1</sup>	15,5 ± 0,49
Фосфатидилхолин	мг%	23,0 ± 0,7	12,4 ± 0,1 <sup>*1</sup>	11,5 ± 0,23 <sup>*1,2</sup>	16,7 ± 0,52 <sup>*1,2</sup>	11,4 ± 0,36 <sup>*1</sup>
Фосфатидилэтаноламин	мг%	23,5 ± 0,67	26,0 ± 0,17 <sup>*1</sup>	24,6 ± 0,13 <sup>*1,2</sup>	24,0 ± 0,6 <sup>*2</sup>	23,8 ± 0,2 <sup>*3</sup>
Лизофосфатидилхолин	мг%	5,4 ± 0,17	8,6 ± 0,48 <sup>*1</sup>	5,57 ± 0,12 <sup>*2</sup>	9,28 ± 0,46 <sup>*1</sup>	4,73 ± 0,18 <sup>*1,3</sup>
Фосфатидилинозитол	мг%	19,7 ± 0,69	22,0 ± 0,38 <sup>*1</sup>	19,8 ± 0,1 <sup>*2</sup>	24,2 ± 0,37 <sup>*1,2</sup>	22,0 ± 0,2 <sup>*1,3</sup>
Сфингомиелин	мг%	11,0 ± 0,52	9,6 ± 0,22 <sup>*1</sup>	8,97 ± 0,1 <sup>*1,2</sup>	10,6 ± 0,11 <sup>*2</sup>	9,1 ± 0,46 <sup>*1</sup>

Проведенное традиционное лечение у данной категории пациентов с ОП выявило следующие изменения в содержании белков и липидов мембран эритроцитов. У пациентов с ОБП использование комплексного лечения позволило нормализовать в мембране эритроцитов уровень анкирина, белка полосы 4.1, 4.5, СЕГ и концентрацию внутри клеток МДА, тогда как у пациентов с ОНБП нормализует достоверно меньшее количество показателей белкового спектра – уровень тропомиозина и СЕГ (см. табл. 1).

Использование комплексного лечения у пациентов с ОБП нормализует в мембране красных клеток крови количество фосфатидилэтаноламина и сфингомиелина и корригирует уровень холестерина, свободных жирных кислот и изученных фосфолипидов (см. табл. 2).

У больных с ОНБП после проведенного лечения в мембране красных клеток крови нормализовался уровень свободных жирных кислот, моно- и диглицеридов (см. табл. 1, 2).

Исходя из этого, в условиях ОБП и ОНБП показано использование препаратов, корригирующих метаболические процессы в эритроцитах и клетках поврежденных тканей и, таким образом, препятствующих накоплению в крови «агрес-

сивных» соединений – антиоксидантов и мембранопротекторов, при этом нельзя забывать о необходимости использования при данной патологии препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием.

В связи с этим нами в качестве схемы коррекции были выбраны следующие препараты – лонгидаза, гипоксен и эссенциале (рисунок).

Использование данной комбинации дополнительно к традиционной фармакотерапии позволило у больных ОБП нормализовать представительность в мембране эритроцитов анионтранспортного белка, дематина, актина и тропомиозина, что тем самым нормализовало общую сорбционную их способность, кроме этого у данной категории больных при использовании схемы «лонгидаза + гипоксен + эссенциале Н» нормализуется уровень холестерина, свободных жирных кислот и фосфатидилхолина (см. рисунок).

У пациентов с ОНБП применение лонгидазы, гипоксена и эссенциале Н позволило нормализовать в мембране красных клеток крови количество подфракций спектрлина, моно- и диглицеридов, фосфатидилинозитола, корригировать уровень белка полосы 4.5, дематина, малонового диальдегида, эфиров холестерина, свободных жирных кислот, что также нормализовало ССЭ (см. рисунок).



Влияние традиционного лечения и комплекса препаратов «лонгидаза + гипоксен + эссенциале Н» на структурно-функциональные свойства эритроцитарной мембраны у больных ОБП и ОНБП:

Примечания:

1 – радиус окружности – значение показателей у больных ОБП и ОНБ после ТЛ (1 группа);

2 – ———— – значения показателей у больных ОБП после

ТЛ + «лонгидаза + гипоксен + эссенциале Н» (2 группа); 3 – — — — – значения показателей у больных ОНБП после ТЛ + «лонгидаза + гипоксен + эссенциале Н» (3 группа);

4 – ○ –  $p < 0,05$  по отношению к 1 группе; 5 – □ –  $p > 0,05$  по отношению к группе здоровых

доноров; X – холестерин, ЭХ – эфиры холестерина, СЖК – свободные жирные кислоты,

МДГ – моно- и диглицериды, ТГ – триглицериды, ФХ – фосфатидилхолин,

ФЭ – фосфатидилэтаноламин, ЛФХ – лизофосфатидилхолин,

ФИ – фосфатидилинозитол, СМ – сфингомиелин

### Заключение

Исходя из функций интегральных и периферических белков мембраны эритроцитов, можно заключить, что выявленные изменения у больных ОБП направлены на уменьшение прочности и деформируемости эритроцитарной мембраны, повышение общей сорбционной способности эритроцитов и их гликолизиса и снижение их метаболической активности, что ускоряет процессы старения красных клеток крови, тогда как у пациентов с ОНБП данные изменения более выражены, но при этом снижены сорбционные свойства мембраны эритроцитов [9, 10].

Кроме этого, у больных ОБП и ОНБП в мембране эритроцитов выявлены различные изменения в липидном спектре, что, в свою очередь, сказывается и на организации мембраны в целом. Так, повышенный уровень холестерина уменьшает подвижность жирных кислот, снижает латеральную диффузию липидов и белков, изменяет функцию последних. Снижение сфингомиелина обуславливает снижение микровязкости липидной фазы мембраны, тогда как низкий уровень фосфатидилхолина снижает проницаемость мембраны и уменьшает метаболизм холестерина [1, 4, 9].

Острый панкреатит сопровождается повышенным «уклонением» ферментов из поджелудочной железы в кровь и снижени-

ем активности основного ингибитора сериновых протеиназ  $\alpha 1$ -антитрипсина. Вследствие этого сыворотка крови становится токсичной для форменных элементов крови, в том числе эритроцитов. Другой возможной причиной повреждения эритроцитов может быть интенсификация свободнорадикальных процессов, связанная с генерацией нейтрофильными лейкоцитами в очагах воспаления активных форм кислорода и со снижением активности антиоксидантной защиты эритроцитов, результатом чего является возрастание их чувствительности к перекисным процессам [2]. Все это вызывает перестройку мембран красных клеток крови за счет изменения представительности белков и липидов, что, в свою очередь, влияет на сорбционные и иммуотропные свойства эритроцитов в условиях системной воспалительной реакции, играющей первостепенную роль в патогенезе острого панкреатита.

Использование иммуномодулятора – лонгидазы, антиоксиданта – гипоксена и мембранопротектора – эссенциале Н у больных ОП оказывает выраженной корригирующей влияние на белковый и липидный спектр в эритроцитарной мембране, по сравнению с традиционной комплексной фармакотерапией, что необходимо использовать в работе профильных лечебно-профилактических учреждений.

## Список литературы

1. Гаврилюк В.П. Иммунометаболические нарушения у детей с разлитым аппендикулярным перитонитом с различной степенью тяжести / В.П. Гаврилюк, А.И. Конопля, С.В. Костин // Человек и его здоровье. – Курск, 2010. – № 4. – С. 38–42.
2. Григорьева Т.И. Роль липидмодифицирующегося компонента биомембран в противопанкреатическом эффекте препаратов метаболического типа действия // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2008. – №4. – С. 103–107.
3. Дифференциальная диагностика и принципы терапии различных форм панкреатита и панкреонекроза / Ю.В. Лузганов, Н.Е. Островская, К.С. Шкиря, В.А. Ягубова // Русский медицинский журнал. – 2005. – Т. 13, № 27. – С. 1842–1846.
4. Конопля А.И. Взаимосвязь структуры и функции эритроцитов с иммунным гомеостазом. – Курск: КГМУ, 2008. – 40 с.
5. Крылов В.И. Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов / В.И. Крылов, А.Ф. Виноградов, С.И. Ефремова // Лаб. дело. – 1984. – № 4. – С. 205–206.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 243 с.
7. Семко Г.А. Структурно-функциональные изменения мембран и внешних примембранных слоев эритроцитов при гиперэпидермопозе // Украинский биохимический журнал. – 1998. – Т. 70, № 3. – С. 113–118.
8. Тогайбаев А.А. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А.А. Тогайбаев, А.В. Кургузкин, И.В. Рикун // Лабораторное дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
9. Шишкина Л.Н. Липиды эритроцитов крови и их функциональная активность / Л.Н. Шишкина, О.Г. Шевчен-

ко // Успехи современной биологии. – 2010. – Т. 130, №6. – С. 587–602.

10. Эритроцитзависимые эффекты лекарственных и физиотерапевтических средств / Л.Г. Прокопенко, А.И. Лазарев, А.И. Конопля и др. – Курск: КГМУ, 2008. – 328 с.
11. Beutler E. How do red cell enzymes age a new perspective // Brit. J. Haemat. – 1985. – Vol. 61. – P. 377–384.
12. Dodge G.T. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes / G.T. Dodge, C. Mitchell, D.J. Hanahan // Arch. Biochem. Biophys. – 1963. – Vol. 100. – P. 119–130.
13. Fairbanks G. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane / G. Fairbanks, T. Steck // Biochemistry. – 1971. – Vol. 10. – P. 2606–2616.
14. Laemli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – Vol. 227. – P. 680.

## Рецензенты:

Снимщикова И.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой иммунологии и специализированных клинических дисциплин ГОУ ВПО «Орловский государственный университет», г. Орел;

Афанасьев Ю.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой внутренних болезней №1. ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород.

Работа поступила в редакцию 30.09.2011.