

УДК 616.37-002.2-08

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛЕЧЕНИЯ ПЕРВИЧНОГО ХРОНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИТА ЛИПОСОМАЛЬНЫМИ КОМПОЗИЦИЯМИ ПЕРФТОРАНА И ЭМОКСИПИНА

¹Мухамадияров Р.А., ²Радионов И.А., ²Разумов А.С.

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, Кемерово, e-mail: rem57@rambler.ru;

²ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздрава, Кемерово

С учетом патогенетических механизмов развития первичного хронического панкреатита была исследована эффективность липосомальной композиции, содержащей перфторан и эмоксипин. Перфторан в этой композиции выступал в роли антигипоксанта, эмоксипин – в качестве антиоксиданта. Включение этих веществ в состав липосом обеспечивало, с одной стороны, накопление в зоне воспаления по механизму «пассивного нацеливания», с другой, одновременную доставку обоих компонентов. В эксперименте на лабораторных крысах с моделированным первичным хроническим панкреатитом показана высокая эффективность такой липосомальной композиции. Вероятно, перфторан при такой схеме применения обеспечивал доставку кислорода к очагам воспаления, а липосомальный эмоксипин позволял снизить оксидативный стресс. Улучшение оксигенации пораженных тканей и снижение липопероксидации, по-видимому, способствовало улучшению клеточного метаболизма и восстановлению фосфолипидного состава клеточных мембран. Нормализация ПОЛ и активация клеточного метаболизма позволили в значительной степени компенсировать деструктивные процессы, обусловленные развитием этого заболевания.

Ключевые слова: хронический панкреатит, поджелудочная железа, липосомы, перфторан, эмоксипин

PATHOGENETIC ASPECTS OF PRIMARY CHRONIC PANCREATITIS TREATMENT WITH LIPOSOMAL PERFTORAN AND EMOXIPINE

¹Mukhamadiyarov R.A., ²Radionov I.A., ²Razumov A.S.

¹Federal State Budgetary Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases under the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Kemerovo, e-mail: rem57@rambler.ru;

²State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education Kemerovo State Medical Academy of the Russian Ministry of Health, Kemerovo

The efficacy of a liposomal composition containing perftoran and emoxipine was assessed in relation to pathogenetic mechanisms of primary chronic pancreatitis development. Perftoran acted as an anti-hypoxia agent and emoxipine as an antioxidant. Incorporating these substances into the liposomes ensured their build-up in the inflamed area («passive targeting»), on the one hand, and, on the other hand, simultaneous delivery of the both components. The experiment on laboratory rats with a model of primary chronic pancreatitis showed high efficacy of this liposomal composition. In such a model perftoran, most probably, ensured the oxygen delivery to the inflamed areas while liposomal emoxipine allowed to reduce oxidative stress. A better oxygenation of the affected tissues and reduced lipid peroxidation might have improved cell metabolism and restored the phospholipid content of cell membranes. Normalized lipid peroxidation and activated cell metabolism resulted in a better treatment of destructive processes induced by pancreatitis.

Keywords: chronic pancreatitis, pancreas, liposomes, perftoran, emoxipine

Комплексное лечение первичного хронического панкреатита (ПХП), несмотря на многочисленные исследования по разным аспектам этой проблемы, остается одной из актуальных задач хирургической панкреатологии и гастроэнтерологии [2, 4]. В первую очередь, это обусловлено широкой распространенностью ПХП, которая составляет в структуре патологии органов желудочно-кишечного тракта от 5 до 25%, и прогрессирующим течением с постепенным нарастанием внешнесекреторной недостаточности поджелудочной железы (ПЖ). Отсутствие однозначных представлений о подходах к современному лечению ПХП, возможному на основании последних достижений клинической фармакологии и хирургической панкреатологии, связано

с полиэтиологичностью и сложностью патогенеза ПХП. В связи с этим в арсенале практического врача отсутствуют алгоритмы патогенетически обоснованного применения современных медикаментозных средств, способных эффективно влиять на хронический воспалительный процесс в поджелудочной железе и восстанавливать ее функции [2, 8, 9, 12].

Стандартное лечение, включающее в себя купирование болевого синдрома, подавление секреции ПЖ, инфузионную детоксикационную терапию, блокирование H2-гистаминовых рецепторов, антацидные и обволакивающие средства, не удовлетворяет современным требованиям и принципам доказательной медицины и этиопатогенетической терапии. В результате

несмотря на достаточно дорогостоящее и, казалось бы, всеохватывающее лечение, эффективность его остается неоправданно низкой, а при хирургическом лечении ПХП сохраняется высокая частота послеоперационных осложнений [3, 11]. Анализ этих обстоятельств свидетельствует о необходимости разработки патогенетически обоснованных способов комплексного лечения ПХП, включая рассмотрение молекулярных механизмов развития заболевания, в частности неконтролируемую активацию свободнорадикальных процессов.

Выраженный оксидативный стресс, сопровождающий ПХП, сопряжен с нарушениями микроциркуляции в поджелудочной железе, а развивающаяся на этом фоне гипоксия индуцирует перекисное окисление липидов (ПОЛ), формируя порочные круги патогенеза, являющиеся основой прогрессирующего повреждения ткани поджелудочной железы [4, 8].

Вместе с тем вопрос об эффективности применения в терапии ПХП отдельных антиоксидантов, несмотря на проводимые экспериментальные и клинические исследования, и по сей день остается дискуссионным [6, 12].

Однако совокупный анализ литературных данных и собственных клинических исследований достаточно однозначно показывает, что по мере прогрессирования ПХП, когда лечебная тактика на основе применения массы препаратов без учета их патогенетической направленности не имеет эффекта, перспективным способом ограничения деструктивных процессов в ПЖ может быть коррекция баланса активности про- и антиоксидантных процессов с помощью комплексного многоцелевого применения антиоксидантных и антигипоксикантных препаратов. Представлялось целесообразным для проверки этой гипотезы проведение экспериментальных исследований, направленных на оптимизацию методов диагностики и медикаментозной коррекции про- и антиоксидативных процессов при ПХП.

Цель исследования – патогенетическое обоснование и экспериментальная апробация схемы консервативного лечения ПХП, включая оценку эффективности применения комплекса антиоксидантных и метаболических препаратов.

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено в Кузбасском областном гепатологическом центре на базе МБУЗ «Городская клиническая больница № 3 им. М.А. Подгорбунского» г. Кемерово, ФГБУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН, г. Кемерово.

Для обоснования комплексного применения антиоксидантных препаратов и антигипоксиканта перфторана выполнены эксперименты на 30 белых крысах-самцах линии Wistar весом 300–320 граммов в зимний период с использованием модифицированной модели дибутилтиндихлоридиндуцированного ПХП по G. Sparmann et al. (1997) [10]. Содержание животных и все экспериментальные исследования проводились в соответствии с требованиями приказов № 1179 МЗ СССР от 10.10. 1983 г., № 267 МЗ РФ от 19.06.2003 г., «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», «Правилами по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных, умерщвленных МЗ СССР (1977) и МЗ РСФСР (1977).

Модифицированная экспериментальная модель ПХП воспроизводилась путем введения в хвостовую вену 0,6% раствора дибутилтиндихлорида (DBTC) из расчета 6 мг/кг. В этой дозе DBTC вызывал в течение 28 дней токсический некроз билиопанкреатического эпителия с формированием конгломератов и обструкцию протоков ПЖ, прямое повреждение панкреатических клеток, интестиниальный отек, активный воспалительный процесс и выраженный перидуктальный интерстициальный фиброз. Развитие ПХП подтверждалось данными биохимических и морфологических исследований.

Для коррекции развиваемых при моделировании ПХП нарушений экспериментальным животным вводили липосомальную композицию, включающую в себя эмоксипин в качестве антиоксиданта и перфторан для усиления газотранспортной функции [5].

Липосомы готовили методом экструзии через поликарбонатные фильтры на экструдере фирмы Lipex Biomembraes Inc. (Канада). Липидная фаза липосом состояла из яичного лецитина и холестерина в молярном отношении 7:5. Антиоксиданты и перфторан вводили в липосомы на стадии получения мультиламелярных везикул. Все препараты вводили в хвостовую вену: липосомы из расчета 25 мг липида/кг массы животного, фридокс – 6 мг/кг, эмоксипин – 3 мг/кг, перфторан – 2 мл/кг. Всего выполнено 7 инъекций с интервалом 48 часов.

Через 24 часа после последней инъекции животных выводили из эксперимента. Кровь центрифугировали с соблюдением температурного режима и отбирали для исследования эритроциты и сыворотку, которые при необходимости хранили при температуре – 40°C.

Для оценки интенсивности оксидативных процессов определяли содержание продуктов ПОЛ в крови: малоновый диальдегид (МДА), по реакции с тиобарбитуровой кислотой, диеновые конъюгаты (ДК) в сыворотке определяли по оптической плотности гептанового слоя липидного экстракта при длине волны 232 нм. Активность антиоксидантных системы оценивали по общей антиоксидантной активности АОА, активности ферментов: церулоплазмينا (ЦП), супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ). АОА определяли по торможению образования МДА в суспензии арахидоновой кислоты, церулоплазмин (ЦП) по образованию продукта окисления п-фенилендиамина [1]. В эритроцитах после предварительного гемолиза клеток определяли активность СОД по скорости инактивации супероксидного радикала и КАТ по скорости разрушения пероксида водорода [1].

Различия между показателями оценивали с использованием критерия Т-Вилкоксона. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. В таблице приведены значения среднего и ошибки среднего значения выборки.

**Результаты исследования
и их обсуждение**

Полученные результаты показали, что развитие DBTC-индуцированного ПХП сопровождается активацией окислительного стресса у экспериментальных животных. В сыворотке крови наблюдали увеличение ($p \leq 0,05$) на 30% концентрации ДК и пятикратное увеличение ($p \leq 0,01$) МДА относительно значений в группе контроль (табл. 1). Показатели активности антиоксидантных систем изменялись разнонаправленно. Суммарная антиоксидантная активность и активность СОД были ниже на 60 и 44% соответственно ($p \leq 0,05$). Концентрация ЦП и активность КАТ выше ($p \leq 0,05$) контрольных показателей на 15 и 37% (таблица). По-видимому, активация липопероксидации при хроническом панкреатите приводила к компенсаторному увеличению в крови активности некоторых звеньев антиоксидантной системы. Однако,

судя по накоплению продуктов ПОЛ, этого увеличения активности было недостаточно для преодоления оксидативного стресса.

Сравнительный анализ биохимических показателей выявил, что одновременное использование антиоксидантной и метаболической терапии у животных с ПХП оказывало выраженный терапевтический эффект. Относительно группы ПХП отмечено снижение на 41% уровня МДА в крови ($p < 0,05$) при одновременном возрастании антиоксидантной активности крови на 36,4% ($p < 0,05$). Активность СОД увеличилась на 50% ($p < 0,05$), ЦП – на 12,8% ($p < 0,05$) при снижении активности КАТ на 20% ($p < 0,05$). Повышение концентрации ЦП в сыворотке после корректирующей терапии может рассматриваться как позитивный факт, так как, кроме роли «белка острой фазы», этот фермент является единственным ферментом сыворотки, обладающим антиоксидантной активностью.

Влияние введения липосом с эмоксипином и перфтораном на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности у животных с моделированным первичным хроническим панкреатитом (ПХП).

Группы животных	Сыворотка				Эритроциты	
	МДА, мкМ/л	ДК, E232/мл	ЦП, мг/100 мл	АОА, %	КАТ, мкМ/мл/мин	СОД, ед./мл
Контроль	6,1 ± 0,3	3,7 ± 0,1	28,7 ± 1,9	41,9 ± 2,1	13,5 ± 0,4	1533 ± 60
ПХП	33,5 ± 1,2	4,8 ± 0,2	32,9 ± 1,4	16,8 ± 0,8	18,5 ± 1,5	856 ± 32
ПХП + ЛП	19,7 ± 1,4*	6,1 ± 0,4*	37,1 ± 2,7	26,4 ± 1,9*	14,8 ± 1,3	1284 ± 64*

Условные обозначения: МДА – малоновый диальдегид, ДК – диеновые конъюгаты, ЦП – церулоплазмин, АОА – антиоксидантная активность, КАТ – каталаза, СОД – супероксиддисмутаза. Достоверность различий показателей между животными с ПХП и группой с липосомальной терапией выявлялась при * $p < 0,05$.

Проведенные исследования показали высокую эффективность одновременного использования перфторана в сочетании с эмоксипином в липосомальной форме для коррекции клеточных повреждений поджелудочной железы. Вероятно, перфторан при такой схеме применения обеспечивал доставку кислорода к очагам воспаления, а липосомальный эмоксипин позволял снизить оксидативный стресс. Улучшение оксигенации пораженных тканей и снижение липопероксидации, по-видимому, способствовали улучшению клеточного метаболизма и восстановлению фосфолипидного состава клеточных мембран.

Выводы

Таким образом, проведенные исследования позволили оценить выраженность оксидативного стресса у животных с ПХП,

выявить степень метаболических нарушений и оценить эффективность проводимого лечения.

Полученные результаты показали перспективность включения в комплекс лечебных мероприятий при ПХП антиоксидантов, воздействующих на процессы ПОЛ и обеспечивающих адекватную защиту мембранных структур клеток ПЖ с одновременным использованием антигипоксанта перфторана, способствующего восстановлению клеточного метаболизма. Нормализация ПОЛ и активация клеточного метаболизма позволили в значительной степени компенсировать деструктивные процессы, обусловленные развитием этого заболевания.

Список литературы

1. Воронцова Н.Л., Барбараш О.Л., Бернс С.А. Свободнорадикальное окисление и миокард. – Кемерово: Изд. объе-

динение «Российские университеты» – «Кузбассвузиздат», 2005. – 154 с.

2. Губергриц Н.Б. Новая международная классификация хронического панкреатита (2007) M-ANNHEIM // Вестник Клуба Панкреатологов. – 2009. – № 1. – С. 10–25.

3. Махов В.М. Этиологические аспекты диагностики и лечения хронического панкреатита // Рос. медицинский журн. – 2002. – № 2. – С. 3–8.

4. Охлобыстин А.В. Современная тактика лечения хронического панкреатита // *Cosilium medicum* // Журнал доказательной медицины для практических врачей. – 2002. – Т.4. – № 6. http://www.polysalov.vipvrach.ru/download/Sovremennaja_taktika_lechenija_hronicheskogo_pankreatita.pdf.

5. Софронов Г.А., Селиванов Е.А., Ханевич М.Д. Проблема кровезаменителей – переносчиков кислорода: достижения и перспективы // Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине: Всерос. науч. конф. – СПб., 2001. – С. 73–77.

6. The antioxidant profiles of patients with recurrent acute and chronic pancreatitis / Morris-Stiff G.J., Bowrey D.J., Oleesky D., Davies M., Clark G.W., Puntis M.C. // *Am. J. Gastroenterol.* – 1999. – V. 94, № 8. – P. 2135–2140.

7. Association of HLA-DRB1*0401 allele with chronic pancreatitis/ Cavestro G.M., Frulloni L., Neri T.M., Seghini P., Nouvenne A., Zanetti A., Bovo P., Di Mario F., Okolicsanyi L., Cavallini G. // *Pancreas*. – 2003. – Vol. 26(4). – P. 388–391.

8. Bowrey D.J., Morris-Stiff G.J., Puntis M.C. Selenium deficiency and chronic pancreatitis: disease mechanism and potential for therap // *HPB Surg.* – 1999. – Vol. 11, no. 4. – P. 207–215.

9. Duodenum-preserving pancreatic head resection--a randomized controlled trial comparing the original Beger procedure with the Berne modification (ISRCTN No. 50638764)/ Köninger J., Wente M.N., Müller-Stich B.P., di Mola F.F., Gutt C.N., Hinz U., Müller M.W., Friess H., Büchler M.W. // *Langenbecks Arch Surg.* – 2008. – Vol. 393, № 6. – P. 929–934.

10. Pancreatic fibrosis in experimental pancreatitis induced by dibutyltin dichloride/ Sparmann G., Merkord J., Jäschke A., Nizze H., Jonas L., Löhr M., Liebe S., Emmrich J. // *Gastroenterology*. – 1997. – Vol. 112, № 5. – P. 1664–1672.

11. Pandol S.J., Raraty M. Pathology of alcoholic pancreatitis // *Pancreatology*. – 2007. – Vol. 7, № 2–3. – P. 105–114.

12. Schneider A.M., Singer V. Alcoholic pancreatitis // *Dig. Dis.* – 2005. – Vol. 23. – P. 222–231.

13. Shrestha S., Rao A. The clinical study of chronic pancreatitis // *Nepal. Med. Coll. J.* – 2004. – Vol. 6 (1). – P. 32–35.

References

1. Vorontsova N.L., Barbarash O.L., Berns S.A. *Svobodno-radikalnoe okislenie i miokard*. Kemerovo: «Rossiiskie universiteti», 2005.

2. Gubergrints N.B. *Vestnik kluba pankreatologov*. 2009, no. 1, pp. 10–25.

3. Makhov V.M. *Rossiiskii meditsinskii zhurnal*, 2002, no. 2, pp. 3–8.

4. Okhlobistin A.V. *Cosilium medicum: Zhurnal dokazatel'noy medicine dlya prakticheskikh vrachev*. 2002, v. 7, no 6. http://www.polysalov.vipvrach.ru/download/Sovremennaja_taktika_lechenija_hronicheskogo_pankreatita.pdf.

5. Sofronov G.A., Selivanova E.A., Chanevich M.D. *Fiziologicheski aktivnie veschestva na osnove perftoruglerodov v eksperimental'noy i klinicheskoy meditsine: Vserossiyskaya nauchnaya konferentsiya*. St.Petersburg, 2001, pp. 73–77.

6. Morris-Stiff G.J., Bowrey D.J., Oleesky D., Davies M., Clark G.W., Puntis M.C. *Am. J. Gastroenterol.*, 1999, v. 94, no. 8, pp. 2135–2140.

7. Cavestro G.M., Frulloni L., Neri T.M., Seghini P., Nouvenne A., Zanetti A., Bovo P., Di Mario F., Okolicsanyi L., Cavallini G. *Pancreas*, 2003, v. 26(4), pp. 388–391.

8. Bowrey D. J., Morris-Stiff G. J., Puntis M. C. *HPB Surg*, 1999, v. 11, no. 4, pp. 207–215.

9. Köninger J., Wente M.N., Müller-Stich B.P., di Mola F.F., Gutt C.N., Hinz U., Müller M.W., Friess H., Büchler M.W. *Langenbecks Arch Surg*. 2008, v. 393, no. 6, pp. 929–934.

10. Sparmann G., Merkord J., Jäschke A., Nizze H., Jonas L., Löhr M., Liebe S., Emmrich J. *Gastroenterology*. 1997, v. 112, no. 5, pp. 1664–1672.

11. Pandol S. J., Raraty M. Pathology of alcoholic pancreatitis. *Pancreatology*. 2007, v. 7, no. 2–3, pp. 105–114.

12. Schneider A. M., Singer V. *Dig. Dis*. 2005, v. 23, pp. 222–231.

13. Shrestha S., Rao A. *Nepal. Med. Coll. J.* 2004, v. 6 (1), pp. 32–35.

Рецензенты:

Подолужный В.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии, ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия», г. Кемерово;

Глушков А.Н., д.м.н., профессор, директор ФГУБН «НИИ экологии человека СО РАН», г. Кемерово.

Работа поступила в редакцию 19.12.2013.