

УДК 616.37-002:577.125

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СХЕМ
КОРРЕКЦИИ ЛИПИДНОГО МЕТАБОЛИЗМА
ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ**

**Власов А.П., Анашкин С.Г., Гуляева Л.Р., Рубцов О.Ю.,
Полозова Э.И., Кормишкин А.Е.**

ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск, e-mail: vap.61@yandex.ru

В работе представлены результаты экспериментального исследования влияния эмоксипина, верапамила и реамберина на изменения качественного и количественного состава липидов тканевых структур поджелудочной железы, интенсивность процессов перекисного окисления липидов, антиоксидантный потенциал, активность фосфолипазы А₂, явления гипоксии при остром панкреатите. Показано, что под действием этих препаратов в тканевых структурах воспаленной поджелудочной железы происходит снижение интенсивности свободно-радикальных процессов липопереокисления, активности фосфолипаз, гипоксических явлений. Повышается уровень антиоксидантной защиты ткани органа. В первые трое суток наблюдения выявлена четкая тенденция к нормализации трансформированного липидного состава тканевых структур поджелудочной железы. Сравнительный анализ исследуемых препаратов показал, что эмоксипин обнаружил способность увеличивать стабильность мембран панкреатоцитов к патологическому воздействию молекулярных продуктов перекисного окисления липидов, верапамил – к купированию активированных фосфолипаз. Реамберин значительно уменьшает гипоксические процессы в тканевых структурах поджелудочной железы. Положительное влияние на фосфолипидный состав тканевых структур органа первых двух препаратов было сравнительно выше.

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

**PATOGENETIC SUBSTANTIATION OF VARIOUS SCHEMES CORRECTION
LIPID METABOLISM IN ACUTE PANCREATITIS**

**Vlasov A.P., Anashkin S.G., Gulyaeva L.R., Rubtsov O.Y.,
Polozova E.I., Kormishkin A.E.**

Mordvinian State University, Saransk, e-mail: vap.61@yandex.ru

The paper presents the results of an experimental study of the effect emoxipine, verapamil and reamberin on changes in the qualitative and quantitative composition of the lipid tissue structures of the pancreas, the intensity of lipid peroxidation, antioxidant capacity, the activity of phospholipase A₂, hypoxia in acute pancreatitis. It is shown that under the action of these drugs in the tissue structures of the inflamed pancreas is a decrease of the intensity of free-radical processes of lipid peroxidation, phospholipase activity, hypoxic events. The level of antioxidant defense organ tissue. In the first three days of observation, a clear tendency towards normalization of the lipid composition of the transformed tissue structures of the pancreas. Comparative analysis of the studied drugs showed that emoxipin discovered the ability to increase the stability of membranes pankreatotsitov to the pathological effects of molecular products of lipid peroxidation, verapamil – to the relief of activated phospholipases. Reamberin significantly reduces the processes in hypoxic tissue structures pancreas. Positive effect on the phospholipid composition of body tissue structures of the first two drugs was relatively higher.

Keywords: pancreatitis, lipids, emoxipin, verapamil, reamberin

Проблема острого панкреатита остается одной из актуальных в современной медицине. В настоящее время по частоте встречаемости острый панкреатит занимает лидирующее место среди острых заболеваний органов брюшной полости [2]. При этом у 15–20% больных воспалительные изменения поджелудочной железы носят тяжелый деструктивный характер [1]. Актуальность данной проблемы обусловлена значительной продолжительностью лечения, высоким уровнем послеоперационной летальности при деструктивных формах панкреатита [3, 4].

Значительные трудности в выборе оптимальной лечебной тактики создает многообразие тактических подходов в лечении острого панкреатита. В последние годы

большинство хирургов сходятся во мнении, что большинству пациентов с острым воспалением поджелудочной железы показано проведение консервативной терапии [5]. Поэтому в настоящее время оптимизация существующих схем терапевтического воздействия при остром панкреатите представляет важную задачу.

Цель работы – изучить влияние эмоксипина, реамберина и верапамила на функционально-метаболическое состояние тканевых структур поджелудочной железы и мембранодестабилизирующий процесс панкреатоцитов в условиях острого воспаления.

Материалы и методы исследования

Основой работы явились экспериментальные исследования на 40 взрослых беспородных собаках

обоего пола массой от 7,3 до 12,8 кг, разделенных на следующие группы: первая ($n = 8$) – контрольная; вторая ($n = 8$) – опытная (с эмоксипином), третья ($n = 8$) – опытная (с реамберином), четвертая ($n = 8$) – опытная (с верапамилом). 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 на модели острого панкреатита оценивали ряд фармакодинамических эффектов эмоксипина (ежедневные внутривенные введения 1% раствора (10 мг/кг)) реамберины (ежедневные внутривенные введения в дозе 15 мл/кг), верапамила (ежедневные внутривенные введения 0,25% раствора препарата (0,2 мкг/кг)).

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.

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 – 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 A_2 исследовали в среде, содержащей 10 ммоль трис-НСL-буфер (рН 8,0), 150 ммоль тритон X-100, 10 ммоль $CaCl_2$ и 1,2 ммоль субстрата, в качестве которого использовали фосфатидилхолина 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 за-

кономерности и связи изучаемых параметров между группами и признаками были значимыми при вероятности безошибочного прогноза $p = 95\%$ и более.

Результаты исследования и их обсуждение

Опыты показали, что выбранная модель панкреатита оказалась вполне адекватной для решения цели и задач исследования. Во всех случаях у животных возникал острый билиарный панкреатит деструктивной формы, что подтверждалось макро- и микроскопически.

Полученные в контрольной группе опытных животных данные свидетельствуют о том, что при остром экспериментальном панкреатите имеет место 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 1–3 сутки исследования.

Качественные и количественные изменения состава липидов тканей поджелудочной железы характеризовались снижением уровня суммарных фосфолипидов, холестерина при увеличении количества моноацилглицеролов (МАГ), диацилглицеролов (ДАГ) и свободных жирных кислот (СЖК). Содержание триацилглицеролов (ТАГ) изменялось неоднозначно: в первые сутки имел место рост показателя, к третьим суткам – достоверное его снижение. Количество эфиров холестерина изменялось противоположным образом (табл. 1).

Состав фосфолипидов при моделировании острого панкреатита отличался более высокими показателями лизофосфолипидов (ЛФЛ), сфингомиелина (СМ), фосфатидилхолина (ФХ) и меньшими значениями фосфатидилсерина (ФС), фосфатидилинозита (ФИ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭА) в сравнении с нормой (табл. 2).

Дестабилизация липидного состава поджелудочной железы сочеталась с развитием гипоксических явлений в ней, что проявлялось ростом уровня МК, ПВК и коэффициента гипоксии в контрольной группе.

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

Таблица 1

Влияние некоторых препаратов на состав липидов (% от общего содержания липидов) в ткани поджелудочной железы при остром 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	20,79 ± 0,52* $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$	24,85 ± 0,57* $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$
		III	18,42 ± 0,38* $P_3 < 0,05$	21,46 ± 0,21* $P_3 > 0,05$
		IV	19,69 ± 0,34*	22,34 ± 0,69*
Холестерол	28,41 ± 1,09	I	27,16 ± 0,77	13,29* ± 0,43*
		II	28,94 ± 0,74 $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$	17,09 ± 0,64* $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$
		III	26,27 ± 0,59 $P_3 > 0,05$	15,07 ± 0,31* $P_3 > 0,05$
		IV	27,19 ± 0,80	15,58 ± 0,58*
Свободные жирные кислоты	5,97 ± 0,44	I	14,27 ± 0,45*	16,38 ± 0,54*
		II	11,43 ± 0,36* $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$	12,44 ± 0,42* $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$
		III	13,62 ± 0,22* $P_3 < 0,05$	14,57 ± 0,25* $P_3 > 0,05$
		IV	12,58 ± 0,31*	13,75 ± 0,31*
Триацилглицеролы	18,34 ± 0,78	I	28,06 ± 0,76*	10,07 ± 0,47*
		II	24,42 ± 0,62* $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$	13,35 ± 0,19* $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$
		III	26,49 ± 0,77* $P_3 > 0,05$	11,62 ± 0,63* $P_3 > 0,05$
		IV	25,15 ± 0,47*	12,84 ± 0,26*
Эфиры холестерина	14,31 ± 0,89	I	7,43 ± 0,38*	18,91 ± 0,41*
		II	9,62 ± 0,36* $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$	16,26 ± 0,13 $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$
		III	8,47 ± 0,20* $P_3 > 0,05$	17,37 ± 0,34* $P_3 > 0,05$
		IV	8,97 ± 0,30*	16,79 ± 0,35*

Примечания: здесь и далее: I – контрольная группа, 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.

Принимая во внимание факт важнейшей роли расстройств липидного обмена в патогенезе острого панкреатита, целесообразным представляется исследование фармакодинамики препаратов метаболического типа действия, одним из объектов воздействия которых являются липиды или процессы, регулирующие их обмен. Из их многочисленного количества нами выбраны эмоксипин – пре-

парат антиоксидантного типа действия, реамберин – антигипоксикант и верапамил – ингибитор кальциевых каналов.

Исследования показали, что применение изучаемых препаратов позволило терапевтически влиять на интенсивность ПОЛ в тканях поджелудочной железы при экспериментальном панкреатите. Под действием исследуемых препаратов количество

ДК и ТБК-активных продуктов в 1-е и 3 сутки после моделирования билиарного панкреатита в ткани поджелудочной железы было достоверно меньше относительно контроля.

При сравнительном анализе опытных групп оказалось, что наибольшим влиянием на интенсивность ПОЛ в ткани поджелудочной железы обладают эмоксипин и верапамил, меньшим эффектом – реамберин.

Исследование влияния изучаемых препаратов на активность фосфолипазы А₂ в тканевых структурах поджелудочной железы при ее остром воспалении показало,

что под влиянием эмоксипина активность фермента на первые – третьи сутки эксперимента достоверно уменьшалась по сравнению с контролем на 21,41–28,58%, верапамила – на 37,34–37,48%, реамберина – на 18,07–19,59% ($p < 0,05$).

Сравнительный анализ воздействия изучаемых препаратов на фосфолипазную активность в тканевых структурах поджелудочной железы при билиарном панкреатите показал, что наибольшим эффектом обладает верапамил, меньшим – эмоксипин и наименьшим – реамберин.

Таблица 2

Влияние некоторых препаратов на состав фосфолипидов (% от общего содержания липидов) в ткани поджелудочной железы при остром 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	4,97 ± 0,22* $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$	11,91 ± 0,30* $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$
		III	5,42 ± 0,13* $P_3 < 0,05$	12,73 ± 0,40* $P_3 > 0,05$
		IV	5,83 ± 0,10*	13,02 ± 0,30*
Сфингомиелин	4,84 ± 0,17	I	8,51 ± 0,18*	7,46 ± 0,08*
		II	6,83 ± 0,22* $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$	5,74 ± 0,25* $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$
		III	7,57 ± 0,22* $P_3 > 0,05$	6,38 ± 0,18* $P_3 < 0,05$
		IV	7,82 ± 0,23*	7,05 ± 0,21*
Фосфатидилинозит	19,06 ± 0,52	I	16,55 ± 0,30*	18,06 ± 0,52
		II	17,92 ± 0,21 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,05$	18,96 ± 0,45 $P_1 > 0,05$ $P_2 > 0,05$
		III	17,42 ± 0,22* $P_3 > 0,05$	18,63 ± 0,77 $P_3 > 0,05$
		IV	16,99 ± 0,27*	18,27 ± 0,35
Фосфатидилэтаноламин	41,73 ± 1,03	I	33,88 ± 0,78*	29,12 ± 1,08*
		II	36,07 ± 0,44* $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$	33,90 ± 0,68* $P_1 < 0,05$ $P_2 > 0,05$
		III	34,66 ± 0,64* $P_3 > 0,05$	34,11 ± 0,47* $P_3 < 0,05$
		IV	34,85 ± 0,79*	32,65 ± 0,42*

Активность СОД в тканевых структурах воспаленного экспериментальным путем органа под действием эмоксипина на первые и третьи сутки повышалась относительно контроля соответственно на 15,31 и 40,92% ($p < 0,05$). Достоверные различия показателей активности СОД в ткани поджелудочной железы в опытных группах с использованием верапамила и реамберина по сравнению с контрольной группой появлялись только на

3 сутки экспериментального исследования – активность фермента была выше соответственно на 25,25 и 22,17% ($p < 0,05$).

Исследуемые препараты влияли и на изменение состава липидов в ткани поджелудочной железы. Так количество суммарных фосфолипидов через сутки эксперимента достоверно увеличивалось по сравнению с контролем при включении в схему лечения всех апробируемых препаратов. На третьи сутки эксперимен-

та подобная динамика сохранялась. При этом наблюдалось уменьшение уровня МАГ, ДАГ и СЖК. Динамика остальных показателей была менее выраженной (табл. 1).

Влияние изучаемых препаратов отмечено и на состав фосфолипидов в ткани поджелудочной железы при билиарном панкреатите. Как показали результаты исследования наиболее существенные изменения наблюдались в отношении показателей ЛФЛ и СМ, уровень которых снижался с первых суток эксперимента по сравнению с контрольными данными. Достоверная динамика показателей ФХ, ФС и ФЭА отмечена преимущественно только на третьи сутки исследования, а ФИ – на первые сутки эксперимента (табл. 2).

При изучении значений показателей, позволяющих судить о липидном составе ткани поджелудочной железы при панкреатите в сравнительном аспекте, установлено, что подключение эмоксипина в терапию данного заболевания оказывало наибольший эффект для нормализации патологически измененного состава липидов и фосфолипидов в тканевых структурах органа. Меньший эффект получен при использовании верапамила и реамберина.

Экспериментальные исследования выявили воздействие изучаемых препаратов на возникающие гипоксические процессы в ткани поджелудочной железы при экспериментальном панкреатите, что проявлялось снижением уровня МК, ПВК и коэффициента гипоксии уже с первых суток эксперимента.

Сравнительный анализ показателей явлений гипоксии в тканевых структурах поджелудочной железы при остром панкреатите показал, что в наибольшей степени на гипоксические процессы в тканях воспаленного органа влиял антигипоксикант реамберин, в меньшей степени – эмоксипин и верапамил.

Заключение

Подводя итог экспериментального исследования по изучению влияния эмоксипина, верапамила и реамберина при остром панкреатите можно говорить о том, что под действием этих препаратов в тканевых структурах воспаленной поджелудочной железы происходит снижение интенсивности свободно-радикальных процессов липопереокисления, активности фосфолипаз, явлений гипоксии. Повышается уровень антиоксидантной защиты ткани органа. В первые трое суток наблюдения выявлена четкая тенденция к нормализации трансформированного липидного состава тканевых структур поджелудочной железы. При этом данные положительные эффекты отмечены во всех опытных группах. Это свидетельствует о том, что хотя использованы разнонаправленного действия фармакологические препараты (антигипоксикант эмоксипин, антигипоксикант реамберин, ингибитор кальциевых каналов верапамил), они в той

или иной степени влияют на изученные патологические (мембранодеструктивные, гипоксические) процессы, приводя в конечном итоге к уменьшению их выраженности. Так, эмоксипин обнаружил большую способность увеличивать стабильность мембран панкреатоцитов к патологическому воздействию молекулярных продуктов ПОЛ, верапамил – к купированию активированных фосфолипаз, реамберин – к гипоксии.

Какой же механизм является ключевым (превалирующим) в триггерных процессах острого панкреатита – на этот вопрос пока утвердительно ответить не представляется возможным. Несомненно только то, что эффективность антиоксиданта и ингибитора кальциевых каналов была сравнительно выше. Это дает основание полагать, что именно свободно-радикальные процессы липопереокисления и активность фосфолипазных систем предопределяют уровень и характер поражения клеточной биомембраны панкреатоцитов уже на самых ранних сроках воспалительного процесса.

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

Список литературы

1. Бериашвили З.А., Парсаданян А.М., Амирагян Д.М. Опыт лечения деструктивных форм панкреатита // Материалы Третьего конгресса Ассоциации хирургов имени Н.И. Пирогова. – М., 15–17 октября 2001. – С. 103–104.
2. Власов А.П., Трофимов В.А., Крылов В.Г. Системный липидный дистресс-синдром в хирургии. – М.: Наука, 2009. – 224 с.
3. Губергриц Н.Б., Христинич Т.Н. Клиническая панкреатология. – Донецк: Лебедь, 2000. – 416 с.
4. Beger H. G., Rau B. Acute pancreatitis // Ann. Ital. Chir. – 1995. – Vol. 66. – P. 209–215.
5. 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.

References

1. Beriashvili Z.A., Parsadanjan A.M., Amiragjan D.M. *Opyt lechenija destruktivnyh form pankreatitita*. Materialy Tret'ego kongressa Assotsiacii hirurogov imeni N.I. Pirogova. Moskva, 15–17 oktjabrja 2001 g. pp. 103–104.
2. Vlasov A.P., Trofimov V.A., Krylov V.G. *Sistemnyj lipidnyj distress-sindrom v hirurgii*. M.: Nauka. 2009. 224 p.
3. Gubergric N.B., Hristich T.N. *Klinicheskaja pankreatologija*. Doneck: Lebed', 2000. 416 p.
4. Beger H. G., Rau B. *Acute pancreatitis*. Ann. Ital. Chir. 1995. Vol. 66. pp. 209–215.
5. Benchimol D., Firtion O., Bereder J.M. *Acute pancreatitis treated in a surgery ward*. Apropos of 57 cases. J. Chir. 1996. Vol. 133. no. 5. pp. 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.

Работа поступила в редакцию 11.09.2014.