

УДК 616.37-002:616-089

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ НОВЫХ ПОДХОДОВ
В ПОВЫШЕНИИ ЭНТЕРОГЕМАТИЧЕСКОГО БАРЬЕРА
ПРИ ПАНКРЕОНЕКРОЗЕ**

**Власов А.П., Логинов М.А., Власова Т.И., Полозова Э.И., Власов П.А.,
Муратова Т.А., Алькубайси Ш.С.**

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

В работе представлены результаты экспериментального исследования по определению эффективности комбинированной лазерной и антиоксидантной терапии в повышении энтерогематического барьера при панкреонекрозе. Проведена оценка показателей эндогенной интоксикации в притекающей и оттекающей от кишечника крови, а также маркеров процесса перекисного окисления липидов, фосфолипазной активности, супероксиддисмутазы в тканях кишечника. Показано, что применение комбинированной (лазерной и антиоксидантной) терапии при очаговом панкреонекрозе приводит к заметному улучшению барьерной функции кишечника, о чем свидетельствует существенное уменьшение поступления в мезентериальный кровоток токсических продуктов гидрофильной и гидрофобной природы. В основе положительного действия такого рода терапии лежит ее способность существенно уменьшать метаболические нарушения, в первую очередь липидного метаболизма, вероятно, за счет потенцирования эффектов лазерной и антиоксидантной терапии. Использование только лазерной терапии не сопровождается таким выраженным действием, что обусловлено ее незначительной способностью регулировать липидный обмен.

Ключевые слова: панкреатит, эндогенная интоксикация, перекисное окисление липидов, лазерная терапия, антиоксидантная терапия, ремаксол

**PATHOGENETIC SUBSTANTIATION OF NEW APPROACHES IN IMPROVING
INTEROPERATIONAL BARRIER WHEN PANCREONECROSIS**

**Vlasov A.P., Loginov M.A., Vlasova T.I., Polozova E.I.,
Vlasov P.A., Muratova T.A., Alkubaysi S.S.**

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

The paper presents the results of an experimental study to determine the efficacy of combined laser and antioxidant therapy in improving enterogemathicheskogo barrier in necrotizing pancreatitis. The estimation of endogenous intoxication in the influent and the blood flowing from the intestine, as well as markers of lipid peroxidation, phospholipase activity of superoxide dismutase in the tissues of the intestine. It is shown that the combined use of (a laser and antioxidant) in focal necrotizing pancreatitis therapy leads to a marked improvement of the barrier function of the intestine, as evidenced by a significant decrease in mesenteric blood flow entering the toxic products of hydrophilic and hydrophobic nature. The basis of the positive effect of this kind of therapy is based on its ability to significantly reduce metabolic disorders, especially lipid metabolism, probably due to the potentiation of the antioxidant effect and laser therapy. Using only the laser therapy is not accompanied by such a pronounced effect, due to its low ability to regulate lipid metabolism.

Keywords: pancreatitis, endogenous intoxication, lipid peroxidation, laser therapy, antioxidant therapy, remaxol

Неуклонный рост количества пациентов, страдающих острым некротическим панкреатитом, отмечается в последние годы во всем мире, что делает проблему его лечения крайне актуальной [2, 6]. Затраты на лечение данного контингента больных представляют собой серьезную экономическую проблему, так как сохраняется высокая летальность, достигающая даже в специализированных клиниках 11–25% [3].

На современном этапе традиционная схема лечения пациентов с панкреонекрозом включает применение ингибиторов протеолитических ферментов, в частности гордокса, контрикала, трасилола. Используют как монотерапию ферментами, так и в сочетании с оперативным лечением – некрэктомией, резекцией поджелудочной

железы. Для такой схемы лечения характерна большая продолжительность курса, наличие большого числа осложнений, нередки летальные исходы [4, 5].

Значительные трудности в выборе оптимальной лечебной тактики создает многообразие тактических подходов в лечении острого панкреатита. В последние годы большинство хирургов сходятся во мнении, что многим пациентам с острым воспалением поджелудочной железы необходимо предупредить прогрессирование заболевания на самых начальных этапах путем проведения комплексной консервативной терапии и при необходимости – миниинвазивных вмешательств. Поэтому в настоящее время оптимизация существующих схем терапевтического воздействия при

остром панкреатите представляет важную задачу. Одним из важных направлений такого рода терапии является повышение энтерогематического барьера, поскольку от него во многом зависит выраженность синдрома эндогенной интоксикации [1].

Цель работы. При экспериментальном панкреонекрозе определить эффективность комбинированной лазерной и антиоксидантной терапии в повышении энтерогематического барьера.

Материалы и методы исследования

Основой работы явились экспериментальные исследования на 46 взрослых беспородных собаках обоего пола массой от 7,3 до 12,8 кг, разделенных на следующие группы: первая ($n = 12$) – контрольная; вторая ($n = 12$) – опытная (гелий-неоновый лазер), третья ($n = 12$) – опытная (гелий-неоновый лазер + ремаксол). Для получения данных, принятых за норму, произведены исследования у 10 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 показателей при проведении низкоэнергетического гелий-неонового лазерного внутривенного облучения крови с помощью терапевтического лазерного аппарата ЛГ-75 при мощности излучения на выходе световода 5 мВт и времени воздействия 15 мин (доза 0,1 Дж/см²) (вторая группа) и при сочетанном с внутривенным облучением введением ремаксолола (15 мл/кг) (третья группа).

В контрольные сроки исследования (1, 3, 5-е сутки) животным производили релапаротомию, оценивали состояние поджелудочной железы, определяли характер ее повреждений, а также производили биопсию ее тканей, забор венозной крови.

Для решения цели нами исследован ряд показателей гомеостаза в притекающей и оттекающей от кишечника крови (общая концентрация альбумина (ОКА), эффективная концентрация альбумина (ЭКА), резерв связывания альбумина (РСА), индекс токсичности (ИТ), молекулы средней массы (МСМ)). В тканях кишечника изучали показатели перекисного окисления липидов (ПОЛ) ((диеновые конъюгаты (ДК), малоновый диальдегид (МДА)), активность фосфолипазы А₂ (ФЛА₂), супероксиддисмутазы (СОД)).

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.

Показатели интенсивности ПОЛ: ДК определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 232–233 нм (Ф.Д. Ганстон, 1986); уровень малонового диальдегида – спектрофотометрическим методом в реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК)

(Sigma), активность СОД – в реакции с нитросиним тетразолием (В.С. Гуревич и др., 1990). Активность фосфолипазы А₂ исследовали в среде, содержащей 10 ммоль трис-НСL-буфер (рН 8,0), 150 ммоль тритон X-100, 10 ммоль СаСl₂ и 1,2 ммоль субстрата, в качестве которого использовали фосфатидилхолины яичного желтка (В.А. Трофимов, 1999).

Определение молекул средней массы. Сыворотку крови смешивают с 10% раствором трихлоруксусной кислоты в соотношении 1:2, центрифугируют 30 мин при скорости 3000 g. Затем 0,5 мл супернатанта смешивают с 4,5 мл дистиллированной воды и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 254 и 280 нм. Результат выражают в условных единицах (О.И. Пикиза, Л.З. Шакирова, 1994).

Определение общей и эффективной концентрации альбумина проводили по методике Ю.А. Грызунова и Г.Е. Добрецова (1994) на специализированном анализаторе АКЛ-01 «Зонд». Использовали набор реактивов «Зонд-Альбумин» (г. Москва) в соответствии с прилагаемыми инструкциями. Рассчитывали: резерв связывания альбумина по формуле $РСА = ЭКА/ОКА$; индекс токсичности плазмы, отражающий степень заполнения тканевых центров различными токсическими веществами, по формуле $ИТ = ОКА/ЭКА - 1$.

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 закономерности 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 очаговый панкреонекроз, что подтверждалось макро- и микроскопически.

В динамике развития патологического процесса наблюдалось существенное увеличение в плазме крови, притекающей и оттекающей от кишечника, содержания токсических продуктов как гидрофильной, так и гидрофобной природы, что представлено в табл. 1. Как видно из данных таблицы, при очаговом панкреонекрозе имеет место развитие синдрома эндогенной интоксикации, наиболее выраженного на третьей – пятые сутки эксперимента, что подтверждается ростом в притекающей к кишечнику крови уровня МСМ (254 нм) и МСМ (280 нм) на 69–74 и 131–138% ($p < 0,05$) соответственно, снижением уровня общей и эффективной концентрации альбумина на 18–20 и 43–47% ($p < 0,05$) соответственно, резерва связывания альбумина на 27–35% ($p < 0,05$) и существенным увеличением индекса токсичности плазмы в 2,5–3,0 раза по сравнению с нормой. В оттекающей от кишечника крови наблюдалась аналогичная динамика, недостоверно более выраженная

по сравнению с данными по притекающей к кишечнику крови.

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 кишечника уровня ДК и ТБК-активных продуктов, а также фосфолипазной активности в 2,3–3,2 раза. При этом антиоксидантный потенциал исследуемых тканей значительно снижался, что выражалось падением активности СОД по сравнению с исходом на 20–60% ($p < 0,05$) в 1–5-е сутки исследования.

Таким образом, по результатам исследования можно отметить, что при остром очаговом панкреонекрозе происходит формирование синдрома эндогенной инток-

сикации, сопровождающегося активацией процессов ПОЛ, фосфолипазы A_2 и снижением антиоксидантного потенциала тканей кишечника, что свидетельствует о развитии мембранодеструктивных явлений в нем и нарушении энтерогематического барьера, что определяет необходимость поиска эффективных способов их коррекции.

Во второй опытной группе исследование влияния кишечника на выраженность эндогенной интоксикации при очаговом панкреонекрозе осуществлялось на фоне проведения низкоэнергетического гелий-неонового лазерного внутривенного облучения крови и показало следующие результаты. Динамика показателей эндогенной интоксикации в притекающей и оттекающей от кишечника крови характеризовалась незначительным снижением уровня МСМ, ИТ и ростом РСА и ЭКА.

Таблица 1

Показатели эндогенной интоксикации в плазме крови, притекающей и оттекающей от кишечника, при очаговом панкреонекрозе на фоне применения лазерной и антиоксидантной терапии, $M \pm m$

Показатель	Группа	Норма	Этапы наблюдения		
			1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
Приток					
ОКА, г/л	I	41,68 ± 0,92	38,30 ± 0,46*	34,15 ± 0,37*	33,36 ± 0,24*
	III		38,43 ± 2,18	33,84 ± 1,15*	35,19 ± 1,94*
ЭКА, г/л	I	31,20 ± 1,09	22,53 ± 2,12*	16,51 ± 0,37*	17,91 ± 1,92*
	III		24,43 ± 0,42*	19,54 ± 1,09*	23,32 ± 0,65*
РСА, усл. ед.	I	0,77 ± 0,03	0,61 ± 0,02*	0,50 ± 0,01*	0,56 ± 0,01*
	III		0,66 ± 0,03*	0,60 ± 0,02*	0,68 ± 0,02*
ИТ, усл. ед.	I	0,37 ± 0,02	0,73 ± 0,05*	1,11 ± 0,07*	0,89 ± 0,04*
	III		0,59 ± 0,02*	0,76 ± 0,03*	0,53 ± 0,01*
МСМ, усл. ед. (254 нм)	I	0,42 ± 0,01	0,55 ± 0,020*	0,73 ± 0,04*	0,71 ± 0,020*
	III		0,46 ± 0,01	0,50 ± 0,01*	0,44 ± 0,02
МСМ, усл. ед. (280 нм)	I	0,32 ± 0,02	0,67 ± 0,035*	0,76 ± 0,05*	0,74 ± 0,09*
	III		0,54 ± 0,018*	0,61 ± 0,02*	0,56 ± 0,056*
Отток					
ОКА, г/л	I	39,78 ± 0,96	38,13 ± 0,46*	33,40 ± 0,37*	33,24 ± 0,24*
	III		37,59 ± 2,18	34,15 ± 1,15*	35,38 ± 1,94*
ЭКА, г/л	I	30,65 ± 1,13	22,01 ± 1,30*	15,64 ± 0,36*	20,61 ± 1,09*
	III		24,55 ± 0,64*	22,32 ± 0,91*	25,64 ± 0,46*
РСА, усл. ед.	I	0,77 ± 0,03	0,60 ± 0,02*	0,49 ± 0,01*	0,64 ± 0,03*
	III		0,68 ± 0,03*	0,68 ± 0,02*	0,75 ± 0,04
ИТ, усл. ед.	I	0,37 ± 0,02	0,76 ± 0,03	1,19 ± 0,05*	0,63 ± 0,02*
	III		0,55 ± 0,01	0,55 ± 0,02	0,39 ± 0,01
МСМ, усл. ед. (254 нм)	I	0,438 ± 0,015	0,64 ± 0,02*	0,78 ± 0,04*	0,79 ± 0,02*
	III		0,49 ± 0,01	0,61 ± 0,04*	0,51 ± 0,02
МСМ, усл. ед. (280 нм)	I	0,347 ± 0,026	0,76 ± 0,05*	0,80 ± 0,06*	0,78 ± 0,08*
	III		0,594 ± 0,01*	0,66 ± 0,02*	0,70 ± 0,05*

Примечание. Здесь и далее: I – контрольная, III – опытная группа (лазерная и антиоксидантная терапия); * – достоверность изменений показателей по отношению к норме при $p < 0,05$; жирный шрифт – достоверность разницы между данными контрольной и опытной группы при $p < 0,05$.

Таблица 2

Продукты перекисного окисления липидов, активность ФЛА₂ и СОД в тканях кишечника при очаговом панкреонекрозе на фоне применения лазерной и антиоксидантной терапии, М ± m

Показатель	Группа	Исходные данные	Этапы наблюдения		
			1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
ДК, усл. ед./мг липидов	I	0,234 ± 0,008	1,034 ± 0,024*	1,07±0,026*	0,93±0,030*
	III		0,657 ± 0,018*	0,70±0,023*	0,60±0,013*
МДА (нМоль/г белка)	I	4,91 ± 0,12	6,64 ± 0,25*	7,54 ± 0,36*	5,90 ± 0,21*
	III		5,12 ± 0,20	6,13 ± 0,24*	4,70 ± 0,23
Активность ФЛА ₂ (мкмоль/с/г белка)	I	0,85 ± 0,03	2,31 ± 0,12*	2,72 ± 0,14*	1,95 ± 0,06*
	III		1,61 ± 0,09*	1,83 ± 0,07*	1,33 ± 0,05*
СОД, усл. ед.	I	10,92 ± 0,54	6,12 ± 0,24*	4,33 ± 0,19*	8,72 ± 0,30*
	III		7,55 ± 0,34*	6,88±0,34*	11,58±0,57

Более значимые изменения зарегистрированы в оттекающей от кишечника крови. Так, на первые сутки терапии в оттекающей от кишечника крови общая, эффективная концентрация и резерв связывания альбумина достоверно не отличались от контроля. ИТ также был сопоставим с контролем и превышал исход на 270 % ($p < 0,05$).

Показатели гидрофильного компонента эндогенной интоксикации, МСМ ($\lambda = 254$ и 280 нм), возрастали, но были ниже контроля на 27 и 22 % ($p < 0,05$) соответственно.

На третьи сутки динамического наблюдения ОКА и ЭКА были ниже нормы, но выше контроля на 18 и 21 % ($p < 0,05$) соответственно. ИТ был выше нормы на 250 % ($p < 0,05$), но снижался по сравнению с контролем на 32 % ($p < 0,05$). Содержание средномолекулярных пептидов ($\lambda = 254$ и 280 нм) в плазме крови, оттекающей от кишечника, на третьи сутки очагового панкреонекроза было ниже контрольного уровня на 30 и 17 % ($p < 0,05$), оставаясь выше нормы.

Пятые сутки эксперимента характеризовались сходной динамикой анализируемых показателей, которые изменялись по отношению к данным контроля, но существенно отличались от исходного уровня. Подобная динамика имела место как в притекающей, так и в оттекающей от кишечника крови.

В тканях кишечника при этом отмечалось снижение уровня МДА на 17 % ($p < 0,05$), ДК – на 21 % ($p < 0,05$), фосфолипазной активности – на 24 % ($p < 0,05$) и увеличение уровня СОД на 19 % ($p < 0,05$).

Комбинированное применение лазерного облучения крови и ремаксолотерапии при очаговом панкреонекрозе характери-

зовалось более существенной коррекцией эндотоксикоза и процессов ПОЛ, что представлено в табл. 1 и 2. По сравнению со второй группой в притекающей и оттекающей от кишечника крови наблюдалось достоверно более значимое снижение уровня МСМ, ИТ и рост РСА и ЭКА. Подобная динамика имела место и при исследовании тканей кишечника, где наблюдалось достоверно более значимое по сравнению со второй группой снижение уровня МДА, ДК, фосфолипазной активности и увеличение уровня СОД.

Заключение

Подводя итог экспериментального исследования по изучению эффективности комбинированной лазерной и антиоксидантной терапии в повышении энтерогематического барьера при очаговом панкреонекрозе, можно говорить о том, что применение комбинированной (лазерной и антиоксидантной) терапии при очаговом панкреонекрозе приводит к заметному улучшению барьерной функции кишечника, о чем свидетельствует существенное уменьшение поступления в мезентериальный кровоток токсических продуктов гидрофильной и гидрофобной природы. В основе положительного действия такого рода терапии лежит ее возможность существенно уменьшать метаболические нарушения, в первую очередь липидного метаболизма, вероятно, за счет потенцирования эффектов лазерной и антиоксидантной терапии. Использование только лазерной терапии не сопровождается таким выраженным эффектом, что обусловлено ее ограниченной способностью регулировать липидный метаболизм.

Список литературы

1. Власов А.П., Трофимов В.А., Крылов В.Г. Системный липидный дистресс-синдром в хирургии. – М.: Наука, 2009. – 224 с.
2. Савельев В.С., Филимонов М., Гельфанд Б.Р., Бурневич С.З. Деструктивный панкреатит: алгоритм диагностики и лечения (проект) // *Consilium medicum*. – 2000. – № 6. – С. 273–278.
3. Скляр В.Ф. Лазерная биофотометрия в диагностике и выборе тактики лечения панкреонекроза: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2010. – 100 с.
4. Тимошин А.Д. Малоинвазивные вмешательства в абдоминальной хирургии. – М., 2003. – С. 20–88.
5. Толстой А.Д. Парапанкреатит. Этиология, патогенез, клиника, лечение. – СПб., 2003. – С. 170–184.
6. Braganza J.M. Towards a novel treatment strategy for acute pancreatitis // *Digestion*. 2001. – Vol. 63. – № 2. – P. 69–91.

References

1. Vlasov A.P., Trofimov V.A., Krylov V.G. *Sistemnyj lipidnyj distress-sindrom v hirurgii*. M.: Nauka. 2009. 224 p.
2. Savel'ev V.S., Filimonov M., Gel'fand B.R., Burnevich S.Z. *Destruktivnyj pankreatit: algoritm diagnos-*

tiki i lechenija (proekt) // *Consilium medicum*. 2000. no. 6. pp. 273–278.

3. Skljар V.F. *Lazernaja biofotometrija v diagnostike i vybore taktiki lechenija pankreonekroza*. Diss. kand. ... med. nauk. M., 2010. 100 p.
4. Timoshin A.D. *Maloinvazivnye vmeshatel'stva v abdominal'noj hirurgii*. M., 2003. pp. 20–88.
5. Tolstoj A.D. *Parapankreatit. Jetiologija, patogenez, klinika, lechenie*. SPb., 2003. pp. 170–184.
6. Braganza J.M. Towards a novel treatment strategy for acute pancreatitis // *Digestion*. 2001. Vol. 63. no. 2. pp. 69–91.

Рецензенты:

Смолькина А.В., д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии медицинского факультета им. Т.З. Биктимирова, ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск;

Рубцов О.Ю., д.м.н., профессор кафедры факультетской хирургии, ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск.

Работа поступила в редакцию 19.02.2015.