

ФАРМАКОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К ОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТУ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Д. А. Ключко¹, В. Е. Корик¹, С. А. Жидков²

Цель исследования — в эксперименте на животных с помощью метода прямой оксиметрии выявить эффективность применения различных антиоксидантных препаратов в комплексной терапии острого панкреатита, определить диагностическую значимость метода прямой оксиметрии для оценки эффективности проводимого медикаментозного лечения. В статье приводятся данные, полученные на 75 нелинейных морских свинках с моделированным острым панкреатитом, которым проводилось комплексное лечение мексibelом (группа 1), эмоксипином (группа 2) и цитофлавином (группа 3), с последующим исследованием ткани поджелудочной железы методом прямой оксиметрии. Данные, полученные в результате исследования, свидетельствуют о том, что интраперитонеальное введение цитофлавина экспериментальным животным стимулирует тканевое дыхание, улучшает метаболизм, способствует восстановлению поджелудочной железы, а также улучшает прогноз заболевания и значительно снижает летальность. Эффективность цитофлавина в составе комплексной терапии превосходит антигипоксикантный эффект эмоксипина, мексibelы, применяемых при равных условиях.

Ключевые слова: антигипоксикант, антиоксидант, цитофлавин, прямая оксиметрия, панкреатит

ВВЕДЕНИЕ

Острый панкреатит — тяжелое заболевание с высокой общей летальностью, варьирующей от 5 до 21 %, а при деструктивных формах от 50 до 85 % [6, 14, 16, 18, 20]. Высокая заболеваемость острым панкреатитом среди населения Республики Беларусь свидетельствует о том, что в настоящее время данная патология является серьезной медико-биологической, социально-экономической проблемой, а также недостаточно изученной патологией неотложной хирургии. У больных, перенесших тяжелый панкреатит, в подавляющем большинстве случаев возникает стойкая утрата трудоспособности. Отсутствие единых подходов к диагностике, классификации и лечению острого панкреатита свидетельствует о злободневности данной проблемы и необходимости поиска наиболее рациональных методов диагностики и лечения [1, 4, 15, 17].

Ранняя диагностика формы острого панкреатита способствует снижению тяжести течения заболевания и летальности [23].

Ведение пациентов с деструктивными формами острого панкреатита и его осложнениями требует значительных экономических затрат. Пребывание в стационаре Республики Беларусь одного больного тяже-

лым панкреатитом оценивается в 1000 – 1500 долларов США и более [21]. При своевременно диагностированном легком панкреатите нет необходимости в назначении дорогостоящих медикаментов, что в разы сокращает затраты на лечение.

Повышение давления в протоке поджелудочной железы связано с повышением секреции панкреатического сока и нарушением оттока секрета. Это, как известно, сопровождается выраженными микроциркуляторными нарушениями, приводящими к гипоксии паренхимы поджелудочной железы, которая ведет к накоплению продуктов неполного окисления, многие из которых являются высокотоксичными и способствуют развитию метаболического ацидоза, значительно увеличивая тяжесть воспалительного процесса [11].

По мнению ряда авторов, применение антигипоксикантов в комплексной терапии острого панкреатита способствует положительной динамике заболевания, особенно коррекции липидного дистресс-синдрома, что приводит к существенному снижению случаев развития панкреонекроза [3, 5].

В предложенную нами схему лечения острого панкреатита включен комплексный препарат цитофлавин, обладающий выраженными антигипоксическим и антиоксидантным эффектами. В спектр действия цитофлавина входят: улучшение процессов утилизации кислорода в клетке, стимуляция дыхания посредством усиления транспорта электронов в митохондриях, восстановления протонного градиента на клеточных мембранах, усиление энергообразования в клетках, а так-

¹ Кафедра военно-полевой хирургии военно-медицинского факультета УО “Белорусский государственный медицинский университет”, 220116, Республика Беларусь, Минск, просп. Дзержинского, 83.

² Военно-медицинское управление Министерства обороны Республики Беларусь.

же восстановление активности ферментов антиоксидантной защиты. Препарат активирует внутриклеточный синтез белка, способствует утилизации глюкозы, жирных кислот и ресинтезу γ -аминоасляной кислоты.

В процессе развития острого панкреатита патологические изменения в поджелудочной железе тесно связаны с уровнем парциального давления кислорода в ткани железы. Это является дополнительным фактором для определения степени поражения ткани, прогнозирования дальнейшего течения патологического процесса и своевременной коррекции проводимого медикаментозного лечения.

По сравнению с другими диагностическими методами исследования метод прямой оксиметрии обладает рядом преимуществ: малая инвазивность, высокая точность, возможность интраоперационного исследования, легкость применения, отсутствие рентгеновского излучения и прочих вредных воздействий, отсутствие необходимости в дополнительном обучении врачей, высокая скорость проведения, низкая стоимость исследования.

Цель исследования: с помощью метода прямой оксиметрии в экспериментальных условиях определить эффективность применения различных препаратов, обладающих антигопоксантной и антиоксидантной активностью в комплексной терапии острого панкреатита, а также определить диагностическую значимость метода прямой оксиметрии для оценки эффективности проводимого медикаментозного лечения.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования проведены на 75 нелинейных морских свинок обоего пола массой 640 – 955 г. Эксперимент осуществлен в соответствии с требованиями “Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей” (Страсбург, 1986). Все инвазивные вмешательства проводили под внутривенной общей анестезией с использованием 1 % раствора тиопентал-натрия из расчета 70 мг/кг. Всех животных содержали в одинаковых условиях на стандартном рационе вивария.

В случайном порядке 15 экспериментальных животных были разделены на 3 опытные группы. Базисное лечение, включающее терапию лидокаином в расчете 5 мг/кг, диклофенак-натрием — 1 мг/кг и омоминном (ингибитор протеолиза) — 3500 АТрЕ, в трех группах было одинаковым. Применяли двукратное введение препаратов в свободную брюшную полость с интервалом в 12 ч. Помимо базисной терапии животные в первой группе получали мексibel (2 мг/кг), во второй — эмоксипин (2 мг/кг), в третьей — цитофлавин (0,3 мл раствора в разведении 1:10). Расчет доз проводили по формуле 1 [19].

Доза = доза для человека · коэффициент пересчета для человека/коэффициент пересчета для морской свинки [1].

В контрольной группе с помощью прямой оксиметрии были исследованы 30 морских свинок, которым предварительно проводили лапаротомию с целью определения влияния оперативного вмешательства на оксиметрическую картину, а также для определения видовой нормы скоростных показателей поглощения кислорода. Под тиопенталовым наркозом животное фиксировали на операционном столе, после предварительного выбривания кожи в условиях асептики и антисептики проводили лапаротомию с последующим ушиванием передней брюшной стенки однорядными узловыми швами без воздействия на внутренние органы.

Для сравнения показателей оксиметрии у животных с проведенным медикаментозным лечением и без него была сформирована группа, в которой лечение острого моделированного панкреатита не проводили (30 морских свинок).

Острый панкреатит моделировали по усовершенствованной нами методике Э. С. Гульянц [7], (удостоверение на рационализаторское предложение № 1715 от 1.07.2010 г.). Фиксированной на операционном столе морской свинке вскрывали брюшную полость по средней линии, извлекали хвост поджелудочной железы. Острый панкреатит моделировали путем последовательного подкапсульного введения 10 % неионного детергента тритон Х-100 в объеме 0,3 мл. Переднюю брюшную стенку ушивали наглухо однорядными узловыми швами.

Изучение дыхательной активности тканей проводили с помощью кислородного сенсора типа Clark. Измерения выполняли контактным способом, приводя в соприкосновение кислород-проницаемую полипропиленовую пленку сенсора с участком исследуемой ткани, тем самым добиваясь герметизации исследуемого контура от проникновения атмосферного воздуха. Диаметр исследуемого участка ткани равен диаметру платинового катода и составляет 20 мкм, что предполагает высокую дифференциацию и точность измерения на поверхности. В результате измерения получали кинетическую кривую поглощения (массопереноса¹) кислорода, которая содержит информацию о процессах тканевого дыхания и кислородного транспорта исследуемой ткани. Подробное описание методики прямой оксиметрии представлено в предыдущих публикациях [8 – 10].

Расчет скоростей массопереноса кислорода через биологические мембраны производили в программе TableCurve 2D. Рассчитывали скорость поглощения кислорода в диапазоне от 145 до 155 мм рт. ст. и от 30 до 35 мм рт. ст., а также парциальное давление кислорода в ткани. Интервал 145 – 155 мм рт. ст. характери-

¹ Процесс перемещения веществ через биологическую мембрану.

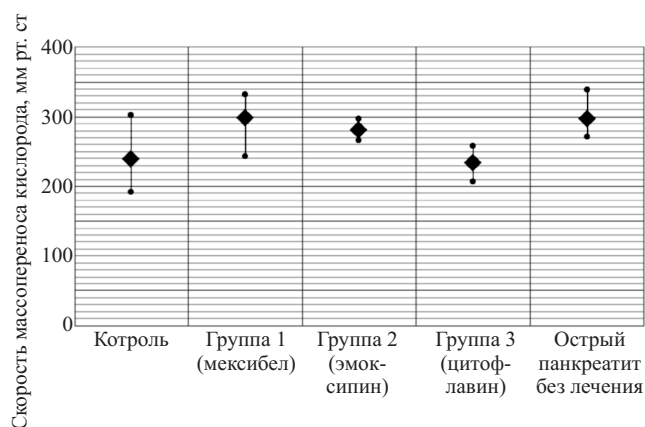


Рис. 1. Скорости массопереноса кислорода в диапазоне 145 – 155 мм рт. ст.

зует максимальную дыхательную активность исследуемой ткани. Второй интервал 30 – 35 мм рт. ст. являлся уровнем, где скорость потребления уравнивалась со скоростью выброса кислорода из тканей, т.е. минимальную дыхательную активность исследуемой ткани. Стационарный уровень характеризует величину парциального давления в исследуемой ткани.

Учитывая, что непараметрические методы статистического анализа применяются к количественным признакам независимо от их распределения [13], для сравнения значений прямой оксиметрии, полученных в группах животных, использовали метод Mann-Whitney U-test. С помощью программы Statistica 6.0 в этих группах были рассчитана медиана, нижний и верхний квартили.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные оксиметрии, полученные в группах с проведенным комплексным лечением острого панкреатита, последовательно сравнивали между собой, а также с данными, полученными в группе, где лечение острого моделированного панкреатита не проводилось, и контрольной группой. Сравнение проводили на 4-е сутки, в период наиболее выраженных воспалительных изменений в поджелудочной железе животного. Графики зависимости скорости массопереноса кислорода и парциального давления кислорода в ткани поджелудочной железы от времени представлены на рис. 1, 2 и 3.

Скорость массопереноса кислорода в диапазоне 145 – 155 мм рт. ст. характеризует максимальную скорость поглощения кислорода тканью и указывает на степень поражения ткани. В диапазоне 145 – 155 мм рт. ст. медиана скорости массопереноса кислорода выше в группе 1 (мексибел) на 25 % по сравнению с контрольной группой ($p = 0,011$). В группе 2 (эмоксипин) соответственно выше на 17 % по сравнению с контрольной группой ($p = 0,0082$).

В отличие от предыдущих групп, в группе 3 (цитофлавин) скорость поглощения кислорода достоверно ниже по сравнению с контрольной группой ($p = 0,44$).

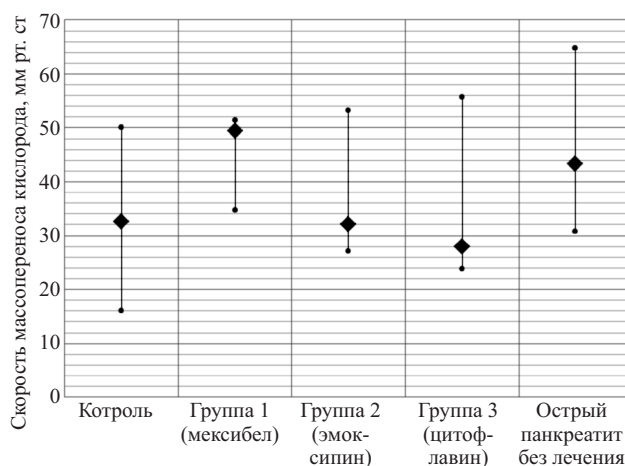


Рис. 2. Скорости массопереноса кислорода в диапазоне 30 – 35 мм рт. ст.

При сравнении групп с примененным медикаментозным лечением между собой в диапазоне 145 – 155 мм рт. ст. выяснилось, что имеются существенные различия между медианами скоростей массопереноса кислорода в группе с применением цитофлавина от групп, где применяли мексибел и эмоксипин (цитофлавин — эмоксипин $p = 0,000001$; цитофлавин — мексибел $p = 0,00008$). Вместе с тем группы, где применяли мексибел и эмоксипин, существенного отличия по значениям медиан скоростей массопереноса не имеют (мексибел — эмоксипин $p = 0,34$).

Наименее значительное воздействие произвел мексибел (группа 1). Данные оксиметрии в этой группе практически не отличаются от данных, полученных в группе, где лечение острого панкреатита не проводилось ($p = 0,39$).

Приведенные данные свидетельствуют о высокой эффективности комплексной терапии с применением цитофлавина. Следует признать, что полученные результаты указывают лишь на тенденцию к выздоровлению, а не об излечении острого панкреатита посредством

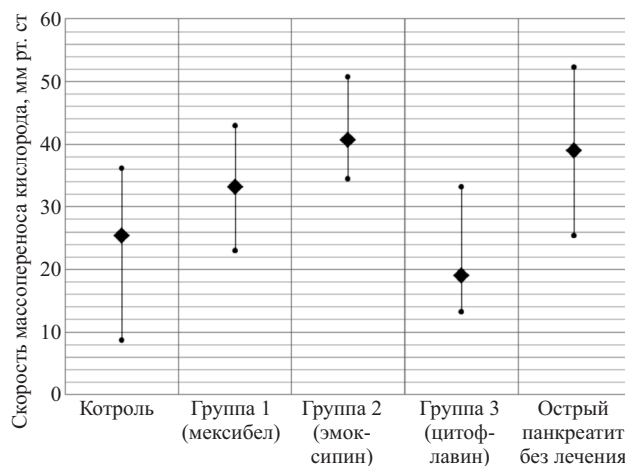


Рис. 3. Уровни парциального давления кислорода в поджелудочной железе (в мм рт. ст.).

вом краткосрочного применения комплексной терапии, включающей цитофлавин.

Медиана скорости массопереноса кислорода в диапазоне 30 – 35 мм рт. ст. характеризует равновесное состояние, при котором скорость движения кислорода из ткани приближается к скорости поглощения кислорода тканью.

В диапазоне 30 – 35 мм рт. ст. медиана скорости массопереноса кислорода увеличивается в группе 1 (мексibel) по сравнению с контрольной группой ($p = 0,04$), в группе 2 (эмоксипин) — уменьшается по сравнению с контрольной группой ($p = 0,72$). В группе 3 (цитофлавин) отличий от контрольной группы не выявляется ($p = 0,41$).

Последовательно сравнивая группы с примененным медикаментозным лечением между собой, в диапазоне 30 – 35 мм рт. ст. наблюдали отличия между медианами скоростей в группе с применением цитофлавина от групп, в которых применяли мексibel (цитофлавин — мексibel, $p = 0,076$), при других сочетаниях различий выявлено не было (цитофлавин — эмоксипин, $p = 0,57$; мексibel — эмоксипин, $p = 0,16$).

Стационарный уровень (минимальное значение) характеризует парциальное давление кислорода в ткани и является мерой насыщения исследуемой ткани кислородом. Медиана парциального давления кислорода в исследуемой ткани увеличивается в группе 1 (мексibel) по сравнению с контрольной группой ($p = 0,025$).

В группе 2 (эмоксипин) скорость массопереноса кислорода увеличивается по сравнению с контрольной группой ($p = 0,0000$). В группе 3 (цитофлавин) по сравнению с контрольной группой парциальное давление уменьшается ($p = 0,79$).

Парциальное давление кислорода в группе животных, где применялся цитофлавин, отличается значительным сходством с парциальным давлением в контрольной группе ($p = 0,79$) и существенно различается с парциальным давлением в группе без применения медикаментозного лечения ($p = 0,00028$).

Сравнивая медианы парциального давления кислорода в группах с примененным медикаментозным лечением между собой, наблюдали отличия между медианами во всех группах (цитофлавин — мексibel $p = 0,02$; цитофлавин — эмоксипин $p = 0,000000$; мексibel — эмоксипин $p = 0,003$).

Для достоверного определения различий показателей оксиметрии в группах с проводимым медикаментозным лечением было проведено сравнение значений медиан во всех экспериментальных группах со значениями медиан в группе животных с моделированным острым панкреатитом без лечения.

В диапазоне 145 – 155 мм рт. ст. наиболее значительно от группы с нелеченным острым панкреатитом отличалась группа 3 (цитофлавин) $p = 0,000001$, наименьшие отличия выявлены в группе 1 (мексibel) $p = 0,39$, среднее значение $p = 0,029$ было определено в группе 2 (эмоксипин).

Парциальное давление кислорода в ткани поджелудочной железы в группе с применением цитофлавина существенно отличается от группы, где медикаментозная терапия не проводилась ($p = 0,00028$), что свидетельствует о высокой эффективности препарата. В других группах статистически достоверных отличий не выявлено: группа 1 (мексibel) $p = 0,07$, группа 2 (эмоксипин) $p = 0,026$.

Следует отметить, что преимущества метода прямой оксиметрии состоят в возможности числового описания динамических и статических параметров поглощения и утилизации кислорода в различные фазы протекания воспалительных заболеваний поджелудочной железы. Прямая оксиметрия позволяет объективизировать результаты проводимого лечения, а также выявить степень поражения паренхимы поджелудочной железы, открывая дополнительные возможности для улучшения результатов лечения острого панкреатита.

ВЫВОДЫ

1. Эффективность цитофлавина в составе комплексной терапии превосходит эффект от прочих антигипоксикантных и антиоксидантных средств (эмоксипин, мексibel), применяемых при равных условиях.

2. Интраперитонеальное введение цитофлавина экспериментальным животным стимулирует тканевое дыхание, улучшает метаболизм, способствует восстановлению поджелудочной железы, что улучшает прогноз заболевания и значительно снижает летальность.

3. Метод прямой оксиметрии, применяемый перкутанно или интраоперационно, имеет существенное значение в мониторинге течения острого панкреатита, позволяя оценить эффективность применяемого лечения, а также с высокой точностью дает представление о степени поражения паренхимы поджелудочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. Ф. Багненко, С. Ф. Багненко, В. Р. Гольцов, *Альманах Института хирургии им. А. В. Вишневского*, 3(3), 104 – 112 (2008).
2. С. Ф. Багненко, А. Д. Толстой, Н. В. Рухляда и др., *Вестн. хирургии*, № 6, 30 – 34 (2002).
3. Д. А. Благовестов, Д. А. Благовестов, В. Б. Хватов и др., *Хирургия*, № 5, 68 – 75 (2004).
4. Б. С. Брискин, Г. С. Рыбаков, О. Х. Халидов и др., *Вестн. хирургии*, № 6, 53 – 57 (2002).
5. А. П. Власов, В. А. Трофимов, И. В. Мишарин и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, № 3, 25 – 28 (2007).
6. Э. И. Гальперин, и др., *Хирургия*, № 3, 55 – 59 (2003).
7. Э. С. Гульянц, Патент № 1327152, СССР, SU 4026653 / 28-14 МПК G 09 В 23 / 28, 1986. — Ростовский медицинский институт; Оpubл. 17.02.86.
8. С. А. Жидков, Э. П. Титовец, Д. А. Ключко, В. Е. Корик, *Новости хирургии: рецензируемый научно-практический журнал*, 18(3), 9 – 19 (2010).
9. С. А. Жидков, Э. П. Титовец, Д. А. Ключко, В. Е. Корик, *Воен. мед.*, № 1, 70 – 72 (2010).
10. С. А. Жидков, Э. П. Титовец, Д. А. Ключко, В. Е. Корик, *Мед. новости*, № 5 / 6, 106 – 109 (2010).

11. Н. Н. Зайко, *Патологическая физиология*, МЕДпресс-информ, Москва, 346 – 347 (2007).
12. А. В. Пугаев, Е. Е. Ачкасов, *Острый панкреатит*, Профиль, Москва (2007), с. 336, 8.
13. О. Ю. Реброва, *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA*, МедиаСфера, Москва (2002), с. 312, 109 – 111.
14. Е. А. Решетников, А. С. Миронов, Ю. А. Малов, *Хирургия*, № 11, 25 – 27 (2005).
15. А. Ф. Романчишен, В. В. Чаленко, С. Г. Дубченко, *Вестн. хирургии*, № 4, 70 – 73 (2000).
16. В. С. Савельев, С. И. Филимонов, Б. Р. Гельфанд и др., *Материалы городской научно-практической конференции НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского*, Москва (2001), сс. 153 – 159.
17. И. Ф. Сирбу, А. В. Капшитар, В. А. Могильный, *Хирургия*, № 1, 47 – 51 (1993).
18. А. Д. Толстой, *Хирургия*, № 7, 19 – 24 (2005).
19. Р. У. Хабриев, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. ОАО “Издательство “Медицина” 2-е издание. Москва (2005)*, с. 832, 48 – 50.
20. Ю. Л. Шевченко, *Хирургия*, № 6, 4 – 9 (2009).
21. А. И. Шугаев, И. Н. Гера, А. Л. Андреев, *Вестн. хирургии*, № 5, 85 – 87 (1999).
22. В. J. Ammori, *Pancreas*, **26**(2), 122 – 129 (2003).
23. J. L. Frossard, J. Robert, C. Soravia, et al., *JOP*, № 1(2), 36 – 45 (2000).

Поступила 04.04.11

COMPARATIVE EXPERIMENTAL STUDY OF ANTIOXIDANT EFFICIENCY IN TREATMENT OF ACUTE PANCREATITIS

D. A. Klyuiko¹, V. E. Korik¹, and S. A. Zhidkov²

¹ Department of Military Surgery, Belarusian State Medical University, ul. Dzerzhinskogo 83, Minsk, 220016 Belarus

² Military Medicine Administration, Ministry of Defense, Belarus

The aims of our experiments on animals were (i) to evaluate by direct oximetry the efficiency of various antioxidant drugs in a complex treatment of acute pancreatitis and (ii) to determine the diagnostic value of the direct oximetry method for estimation of the efficiency of medical treatment. The article presents data obtained in a group 75 outbred Guinea with a model acute pancreatitis, which were treated with mexibel (group 1), emoxipin (group 2), and cytoflavin (group 3), with subsequent investigation of the pancreatic tissues by the direct oximetry method. The obtained results confirmed that the intraperitoneal injection of cytoflavin to animals stimulates tissue respiration, improves metabolism, promotes pancreas recovery, and also improves the prognosis and reduces the lethal outcome. The efficiency of cytoflavin within the complex therapy exceeds the effect of other antioxidants (mexibel and emoxipin) under otherwise equal conditions.

Key words: Antioxidant, antihypoxant, cytoflavin, direct oximetry, pancreatitis