

РАБОТЫ ЛАУРЕАТОВ КОНКУРСА МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ В РАМКАХ КОНГРЕССА «ЧЕЛОВЕК И ЛЕКАРСТВО»

3-е МЕСТО

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ФАРМАКОПРОФИЛАКТИКИ УЛЬЦЕРОГЕНЕЗА ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Григорьева Т. И.

ГОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева»

Григорьева Татьяна Ивановна

430000 г. Саранск, Б. Хмельницкого, д. 42-54

Телефон: 8 (8342) 246672

E-mail: grita@hotmail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на значительные достижения современной медицинской науки, одной из актуальных проблем абдоминальной хирургии в настоящее время является проблема острого панкреатита. В структуре ургентной хирургической патологии острый панкреатит занимает одно из ведущих мест. Социальную значимость проблемы определяет то обстоятельство, что около 70% больных острым панкреатитом составляют люди трудоспособного возраста. Патогенез острого панкреатита нельзя рассматривать лишь как изолированное поражение поджелудочной железы, тесно не увязав характер местных изменений с общими нарушениями, возникающими при этом в организме. В первую очередь патологические изменения затрагивают органы гепатопанкреатодуоденальной зоны. К осложнениям острого панкреатита относятся острые язвы и эрозии желудочно-кишечного тракта и желудочно-кишечные кровотечения, аррозивные кровотечения, поздние тромбозы сосудов органов брюшной полости и другие. В доступных для изучения литературных источниках нами не были обнаружены сведения, полностью раскрывающие патофизиологические механизмы повреждения органов желудочно-кишечного тракта при остром панкреатите. Соответственно на современном этапе не определены возможности фармакологической коррекции данных нарушений с учетом механизмов их развития, что послужило основой для проведения исследования.

Цель исследования — изучение патофизиологических механизмов влияния препаратов метаболического типа действия из различных

фармакологических групп в предупреждении ulcerogenesis при остром панкреатите.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. В динамике острого экспериментального билиарного панкреатита на основе макро-микроскопической картины, показателей микроциркуляции, трофики, метаболизма тканевых структур изучить морфофункциональные изменения со стороны желудка и тонкой кишки. На основе полученных сведений сформировать новые представления о патогенезе язвообразования при остром панкреатите с акцентом на определение роли в этом процессе нарушений липидного метаболизма и трофики тканей.
2. Изучить влияние препаратов метаболического типа действия из различных фармакологических групп (реамберин, винпоцетин) на процессы ulcerogenesis желудка и тонкой кишки при остром панкреатите; на основе изучения состава фосфолипидного бислоя мембран клеточных структур, а также показателей микроциркуляции и трофики тканей определить ведущие механизмы антиulcerogenic действия исследованных препаратов.
3. При комплексной терапии больных острым отечным панкреатитом на основе особенностей клинической картины и изменений лабораторно-инструментальных показателей выявить эффективность реамберина в коррекции гастроинтестинальных нарушений и профилактике ulcerogenesis.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В основу работы положены материалы экспериментальных и клинических исследований. Экспериментальные исследования проводились на 36 взрослых беспородных половозрелых собаках обоего пола массой от 7,9 до 12,6 кг, разделенных на 3 группы. В первой (контрольной) группе ($n=12$) моделировали отечную форму острого панкреатита по способу В. М. Буянова (1989) путем введения желчи в паренхиму поджелудочной железы. В контрольные сроки исследования (1-е, 3-и и 5-е сутки) животным производили релапаротомию, оценивали состояние слизистой оболочки желудка и тонкой кишки, определяли характер ее повреждений, производили биопсию изучаемых органов и тканей, забирали венозную кровь для дальнейшего исследования, изучали биоэнергетику, микроциркуляцию желудка и тонкой кишки. В послеоперационном периоде проводилась инфузионная терапия (внутривенные введения 5%-го раствора глюкозы и 0,89% раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного). В опытных группах животным в терапию включали лекарственные средства метаболического типа действия: во второй ($n=12$) ежедневно выполняли внутривенные инъекции раствора реамберина (10 мл/кг массы); в третьей ($n=12$) — внутривенные инъекции раствора винпоцетина (1 мг/кг массы).

Клиническая часть работы состояла из 40 клинических исследований больных острым панкреатитом отечной формы. В первой (I) группе больные острым отечным панкреатитом получали стандартизированную терапию (контрольная группа), во второй (II) — терапия включала реамберин (основная группа). Подбор больных в группы осуществлялся по возрасту, полу, давности заболевания, причинам возникновения, сопутствующим заболеваниям, общему состоянию, клинической картине, данным инструментального (УЗИ, ФГДС) исследования, биохимическим показателям и специфическим показателям различных компонентов гомеостаза (эндотоксикоз, ПОЛ, активность фосфолипазы A_2 и некоторым другим). С целью определения прогностической тяжести состояния больных в момент поступления оценивали по балльной шкале, предложенной Р. В. Вашетко и соавт. (2000).

В работе применялись следующие методы исследования: макроскопическая оценка органов и тканей при проведении лапаротомии и релапаротомии, для каждого вида повреждений слизистой оболочки желудка и тощей кишки рассчитывали «язвенный индекс» Паулса; определение вено-венозного градиента по методу Лендиса; определение окислительно-восстановительного потенциала (редокс-потенциала, ОВП) для изучения электрогенеза тканей; установление коэффициента

диффузии кислорода (КДК) в тканях; исследование кровенаполнения тканей кишечника; хроматографические методы анализа с использованием тонкослойной хроматографии для определения липидного спектра; количественное определение липидов денситометрическим методом; определение диеновых конъюгатов спектрофотометрическим методом при длине волны 232–233 нм; изучение содержания ТБК-активных продуктов по накоплению малонового диальдегида в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК); исследование активности фосфолипазы A_2 титрометрическим методом; определение активности каталазы фотометрическим методом; определение содержания пировиноградной и молочной кислот; определение содержания молекул средней массы в сыворотке крови; определяли эффективную и общую концентрацию альбумина в сыворотке крови флуоресцентным методом на специализированном анализаторе АКЛ-01 «Зонд»; рассчитывали резерв связывания альбумина и индекс токсичности плазмы.

Больным острым панкреатитом выполняли общепринятые исследования крови и мочи. В динамике заболевания наряду с традиционными показателями изучали маркеры эндогенной интоксикации, перекисное окисление липидов, активность фосфолипазы A_2 и каталазы в плазме крови.

Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием t -критерия Стьюдента. В каждой серии определяли достоверность различия по отношению к исходному или контрольному значению (p).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментальные исследования показали, что при введении желчи в паренхиму поджелудочной железы в пяти точках уже на первые сутки наблюдения развивалась картина отечной формы острого панкреатита. Интраоперационно наблюдали отечность и гиперемию паренхимы поджелудочной железы, а также гиперемию окружающих тканей; регистрировались небольшие участки кровоизлияний (рис. 1)*.

Полученные в контрольной группе животных результаты свидетельствуют о том, что при остром экспериментальном панкреатите нарушаются функционально-метаболические параметры желудка и тонкой кишки, что обуславливает инициацию процесса ulcerогенеза и развитие гастроинтестинальных нарушений.

Интраоперационно при релапаротомии петли кишечника были вздуты, их серозная оболочка бледно-синюшного цвета, сосуды расширены.

* Эти и последующие рисунки к статье см. на цветной вклейке в журнал.

При макроскопическом исследовании определялась бледность слизистой оболочки желудка с участками кровоизлияний в количестве до $3,95 \pm 0,56$. При макроскопическом исследовании слизистой оболочки кишечника выявлялась ее сглаженность, атрофия, бледность, местами с наличием структурных дефектов в виде кровоизлияний в количестве $7,17 \pm 0,31$ – $12,33 \pm 0,33$, эрозий — $7,50 \pm 0,50$ – $13,83 \pm 0,48$ и язв — $4,83 \pm 0,31$ – $7,33 \pm 0,33$ в расчете на одно животное, что является подтверждением активизации и прогрессирования деструктивных процессов в тканевых структурах кишечника при выбранной модели острого панкреатита. При микроскопическом исследовании ткани желудка и тощей кишки были обнаружены выраженные изменения в виде атрофии слизистой оболочки, обширных кровоизлияний в строму, очаговой воспалительной инфильтрации стромы ворсин, стазов и микротромбов в кровеносных сосудах стромы ворсин кишки (рис. 2).

На основании полученных результатов в контрольной серии эксперимента следует отметить, что при остром панкреатите патологические явления затрагивают не только орган поражения — поджелудочную железу, но и кишечник, приводя к развитию воспалительных изменений, обуславливающих в конечном итоге формирование язв.

Изучение функционального статуса желудка и тонкой кишки показало, что при остром панкреатите в их стенках возникают нарушения трофики и электрогенеза тканей. Так, нами было зафиксировано достоверное падение окислительно-восстановительного потенциала тканевых структур желудка на $20,3$ – $33,8\%$, тонкой кишки — на $24,4$ – $45,8\%$ ($p < 0,05$); снижение (на $15,3$ – $58,6\%$) коэффициента диффузии кислорода на фоне повышения (на $26,3$ – $49,5\%$) проницаемости ткани желудка и тонкой кишки для белка и воды. Указанные расстройства функционального статуса желудка и тонкой кишки развивались уже на первые сутки течения патологического процесса, причем в желудке патологический процесс был менее выраженным, чем в тонкой кишке. Положительная динамика исследуемых показателей начинала отмечаться на пятые сутки эксперимента. Таким образом, развитие острого панкреатита, как показано выше, приводит к нарушению микроциркуляции и биоэнергетики тканей желудка и тонкой кишки, инициируя развитие патофизиологических явлений в исследуемых органах.

При исследовании состояния трофических процессов в тканях желудка и тонкой кишки было установлено, что содержание молочной и пириновинной кислот в динамике патологического процесса в них существенно возрастало, что свидетельствовало о прогрессировании гипоксии. Это, несомненно, приводит к течению метаболических процессов по анаэробному пути, являясь

фактором повреждения клеточных структур и, как следствие, одной из причин ulcerogenesis и формирования гастроинтестинальных нарушений.

В условиях гипоксии в биомембранах клеточных структур развивалась резкая интенсификация процессов перекисного окисления липидов, активизация фосфолипазы A_2 , что приводило к значительным количественным и качественным изменениям состава липидов. Анализ липидного состава показал, что в тканевых структурах желудка наблюдалось повышение незэтерифицированного холестерина, моноацилглицеролов, диацилглицеролов, триацилглицеролов, свободных жирных кислот на $22,3$ – $33,4\%$ ($p < 0,05$), лизофосфолипидов — на $20,1$ – $54,3\%$ ($p < 0,05$). Возрастало содержание фосфатидилсерина, фосфатидилинозита и фосфатидилэтаноламина. Отмечалось снижение суммарных фосфолипидов, эфиров холестерина, сфингомиелина и фосфатидилхолина. В тканевых структурах тонкой кишки дислипидные явления были более выражены, чем в желудке. Таким образом, нами показано, что при остром панкреатите липидный метаболизм тканей желудка и тонкой кишки подвергался значительным модификациям. Сопряженность липидных дестабилизаций с динамикой макроскопических и функциональных изменений тканевых структур кишечника в очередной раз подтверждает патогенетическую важность мембранодеструктивных процессов в данных органах при остром панкреатите и раскрывает некоторые механизмы формирования гастроинтестинальных нарушений. На основании полученных результатов в контрольной серии эксперимента следует отметить, что при остром панкреатите патологические явления затрагивают не только орган поражения — поджелудочную железу, но и желудок, и кишечник, способствуя развитию воспалительных изменений, приводящих, в конечном итоге, к формированию язв.

Отсюда важным представляется изучение анти-ульцерогенного эффекта препаратов метаболического типа действия из различных фармакологических групп с акцентом на углубленное исследование молекулярных патофизиологических механизмов их лечебного действия.

Экспериментальные исследования показали, что к концу комплексной терапии с применением реамберина при релапаротомии и макроскопии выявлено, что патоморфологические явления в стенке желудка и тонкой кишки по сравнению с контролем были выражены в значительно меньшей степени (рис. 3).

Таблица 1

ХАРАКТЕР ПОВРЕЖДЕНИЙ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ РЕАМБЕРИНА					
Показатели	Группа	Виды изменений	1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
Среднее число изменений на одно животное, $M \pm m$	I	Кровоизлияния	7,17±0,31	9,67±0,33*	12,33±0,33*
	II	Кровоизлияния	7,02±0,30	8,27±0,41*	9,58±0,47*
	I	Эрозии	7,50±0,50	8,50±0,22	13,83±0,48*
	II	Эрозии	6,95±0,25	7,88±0,39	10,41±0,52*
	I	Язвы	4,83±0,31	5,83±0,31*	7,33±0,33*
	II	Язвы	2,13±0,11	4,65±0,23*	4,72±0,24
Индекс Паулса	I	Кровоизлияния	7,17	9,67	12,33
	II	Кровоизлияния	7,02	8,27	9,58
	I	Эрозии	7,14	8,76	13,83
	II	Эрозии	6,95	7,88	10,41
	I	Язвы	4,83	5,83	7,33
	II	Язвы	2,13	4,65	4,72

Примечание: * — значения показателей, достоверно отличающиеся от предыдущего этапа наблюдения $p < 0,05$; жирный шрифт — значения показателей, достоверно отличающиеся от контроля $p < 0,05$; I — контрольная группа, II — опытная группа.

Так, при статистическом анализе в кишечнике на фоне реамберинотерапии выявлено достоверное уменьшение количества точечных кровоизлияний, эрозий и язв на 37,3–56,2%. Применение винпоцетина в терапии острого панкреатита также способствовало быстрой коррекции морфологических изменений слизистой оболочки желудка и кишечника. Полученные данные свидетельствовали о предупреждении прогрессирования деструктивных процессов в тканевых структурах желудка и тонкой кишки при остром панкреатите, выявляя существенное гастро- и энтеропротекторное действие реамберина и винпоцетина (табл. 1).

Исследование влияния метаболической терапии на микроциркуляцию, трофику и биоэнергетику в тканях желудка и кишечника при остром панкреатите выявило способность исследуемых препаратов корректировать нарушения данных параметров. Установлено, что уже на первые сутки комплексной терапии с винпоцетином коэффициент диффузии кислорода достоверно превосходил контроль на 21,70% ($p < 0,05$) и был сопоставим с нормой. Окислительно-восстановительный потенциал увеличивался по сравнению с контролем на 19,89% ($p < 0,05$) и достоверных отличий от нормы не имел. На фоне терапии винпоцетином регистрировалось быстрое восстановление указанных показателей и в ткани желудка. Применение реамберина в коррекции трофических нарушений ткани кишечника было несколько менее эффективно, хотя ряд показателей начинал восстанавливаться уже с первых суток терапии.

Исследование влияния реамберина на выраженность липоперекисления и активность фосфолипазы A_2 в тканях желудка и тонкой кишки показало, что использование препарата в терапии острого панкреатита способствовало по сравнению с контролем, уменьшению в исследуемых тканях интенсивности процессов перекисного окисления липидов на 12,3–31,8% ($p < 0,05$), 12,7–29,6% ($p < 0,05$) и фосфолипазной активности на 18,7–19,9% ($p < 0,05$), 15,6–19,1% ($p < 0,05$) соответственно. Следует отметить также антигипоксическое действие реамберина по снижению содержания маркеров кислородной недостаточности в тканях желудка и тонкой кишки, которое проявлялось уже с третьих суток терапии острого панкреатита, когда содержание лактата и пирувата снижалось на 19,6% и 27,1% ($p < 0,05$). Применение винпоцетина в терапии острого панкреатита показало менее выраженный антиоксидантный эффект по сравнению с реамберинем, способность корректировать выраженность гипоксии у данных препаратов была сопоставима.

Экспериментальные исследования показали эффективность препаратов метаболического типа действия в коррекции липидного состава биомембран гастро- и энтероцитов. Так, на фоне применения реамберина при остром панкреатите в тканевых структурах желудка по сравнению с контролем происходило снижение количества холестерина, диацилглицеролов, свободных жирных, триацилглицеролов. Восстанавливался

качественный и количественный состав фосфолипидов. В тканевых структурах тонкой кишки отмечалось по сравнению с контролем снижение содержания свободных жирных кислот на 14,3–22,2% ($p < 0,05$), моноацилглицеролов, триацилглицеролов, лизофосфолипидов — на 19,7% и фосфатидилэтаноламина — на 11,9–14,1% ($p < 0,05$). Аналогичные данные были получены и при использовании винпоцетина в терапии острого панкреатита.

Следует отметить, что коррекция показателей липидного спектра тканевых структур желудка и тонкой кишки относительно данных контрольной группы приводила к восстановлению фосфолипидного бислоя мембран энтероцитов и коррелировала с выраженностью повреждений слизистой оболочки кишки в виде уменьшения количества кровоизлияний, эрозий и язв, что подчеркивает значимость дислипидных явлений в ткани кишечника как патогенетического компонента ulcerogenezа, а также дает основание для включения данных препаратов (винпоцетина и реамберина) в терапию острого панкреатита с целью предупреждения ulcerogenezа и реализации энтеропротекторного эффекта.

Клинико-лабораторное изучение эффектов реамберина при остром панкреатите, проведенное на основании 40 клинических исследований у больных отечной формой изучаемого заболевания, показало хороший терапевтический эффект данного препарата. Так, на фоне базисной терапии в группе сравнения больные отмечали купирование болевого синдрома на $6,5 \pm 0,34$ сутки терапии. Тошнота, рвота переставали беспокоить через $2,9 \pm 0,14$ суток, бледность кожных покровов сохранялась до $5,1 \pm 0,33$ суток. Купирование пареза кишечника наблюдалось на $4,6 \pm 0,32$ суток, а перитонеального синдрома — на $4,8 \pm 0,53$ суток терапии. У больных основной группы отмечалось более быстрое стихание воспалительных изменений в поджелудочной железе, в более короткие сроки было зафиксировано купирование клинических симптомов — как субъективных, так и объективных. Так, болевой синдром купировался на $4,5 \pm 0,26$ суток терапии, тошнота, рвота — через $1,6 \pm 0,17$ суток, физиологическая окраска кожных покровов восстанавливалась на $4,1 \pm 0,22$ суток терапии. Купирование пареза кишечника происходило на $3,1 \pm 0,17$ суток, перитонеального синдрома — на $3,5 \pm 0,26$ суток терапии.

На фоне применения реамберина при остром панкреатите быстрее протекало восстановление показателей лейкоцитарной формулы общего анализа крови и СОЭ. Происходило существенное сокращение сроков пребывания больного в стационаре на 3,04 дня (24,5%) ($p < 0,05$).

Применение реамберина в комплексной терапии острого панкреатита способствовало более

раннему снижению выраженности эндогенной интоксикации. Уже после однократного введения препарата отмечено повышение эффективной концентрации альбумина на 25,8% ($p < 0,05$), индекса токсичности плазмы и уровня молекул средней массы — на 19,2 и 14,4% ($p < 0,05$) соответственно.

Включение мембранопротектора реамберина в комплексное лечение острого панкреатита позволило (уменьшить) интенсивность свободнорадикальных процессов перекисного окисления липидов, а также активность (на 20,3–55,5%) фосфолипазы A_2 .

Особую значимость представляет тот факт, что эффективность реамберинотерапии была отмечена и по данным фиброгастроуденоскопии. Оказалось, что на фоне комплексной терапии патологические явления со стороны желудка и двенадцатиперстной кишки к концу периода лечения по результатам контрольного ФГДС-исследования корригировались быстрее. Так, явления гастрита и дуоденита, которые были выраженными у 29 (60,5%) больных основной группы, существенно уменьшились у 21 пациента, тогда как в контрольной группе из 27 больных явления гастрита и дуоденита уменьшились у 11 пациентов. Эффективность реамберинотерапии составила 32,3% ($p < 0,05$). При этом отметим, что пребывание больных основной группы в стационаре было меньше на 3,04 койко-дня. По другим показателям морфофункционального состояния желудка и двенадцатиперстной кишки на фоне использования реамберина также отмечена более выраженная положительная динамика. Однако в силу незначительного количества наблюдений достоверных различий не выявлено.

Таким образом, клинико-лабораторные показатели больных острым панкреатитом отечной формы доказывают достаточно высокую эффективность реамберина в коррекции гастроинтестинальных нарушений и профилактики ulcerogenezа при этой грозной патологии, что вносит определенный вклад в лечение заболевания в целом.

ВЫВОДЫ

1. Препараты метаболического типа действия (реамберин, винпоцетин) при эфферентном воздействии панкреатогенного агента оказывают цитопротекторный эффект по отношению слизистой оболочки желудка и тонкой кишки, проявляющийся в существенном уменьшении в ней повреждений различного характера (кровоизлияний, эрозий, язв).

2. На фоне применения винпоцетина антиульцерогенный эффект при остром панкреатите сопровождается быстрым (после первого введения) восстановлением микроциркуляции и трофики тканей, а в последующем (через 3 суток) — уменьшением интенсивности процессов липопероксидации и повышением антирадикальной защиты клеток слизистой оболочки кишечника.

3. При использовании реамберина уменьшение образования морфологических повреждений в слизистой оболочке кишечника при остром панкреатите в начале сопровождается уменьшением активности процессов ПОЛ, а затем восстановлением микроциркуляции и трофики тканей кишечной стенки.

4. Вне зависимости от пути реализации положительного эффекта у исследованных

фармакологических препаратов, их антиульцерогенная активность при остром панкреатите проявляется в предупреждении быстрых нарушений состава фосфолипидного бислоя мембран энтероцитов.

5. Клиническими исследованиями подтверждена эффективность мембранопротектора реамберина в коррекции гастроинтестинальных нарушений и профилактике ulcerогенеза у больных острым панкреатитом отечной формы: по сравнению с контрольной группой отмечено существенное уменьшение морфологических изменений со стороны слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки, быстрое восстановление перистальтики кишечника, уменьшение выраженности токсического и оксидативного синдромов.