

ПАНКРЕАТОПРОТЕКЦИЯ МАЛАТСОДЕРЖАЩИМИ ИНФУЗИОННЫМИ РАСТВОРАМИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕМОМРАГИЧЕСКОМ ШОКЕ

УДК 616.001.6–005.1–001.36:616.37–002
Поступила 2.05.012 г.



А.Ю. Яковлев, д.м.н., доцент, куратор отделений реанимации и интенсивной терапии¹;
Л.Б. Снопина, д.б.н., доцент, зав. отделом морфологии ЦНИЛ НИИ ПФМ²;
Т.А. Галанина, зав. отделением реанимации и интенсивной терапии Нижегородского областного травматологического центра¹;
Д.В. Рябиков, врач-травматолог¹;
Д.М. Протасов, врач-реаниматолог¹

¹Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко, Н. Новгород, 603126, ул. Родионова, 190;

²Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Цель исследования — изучение в эксперименте влияния Стерофундина изотонического на развитие постгеморрагических повреждений поджелудочной железы.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 36 крысах-самцах линии Wistar массой 230–250 г. Геморрагический шок моделировали посредством острой массивной кровопотери в объеме 2,5 мл/100 г со скоростью 2 мл/мин. Через 1 ч после кровопотери следовало восполнение гиповолемии в течение 60 мин в объеме 200% от потерянной массы: в контрольной группе — раствором Рингера, в опытной группе — Стерофундином изотоническим. Затем проводилась реинфузия крови в объеме 70% от кровопотери. На 1-е и 3-и сутки после геморрагического шока оценивались лабораторные показатели и морфологические изменения поджелудочной железы.

Результаты. Установлено панкреатопротективное действие малатсодержащего кровезаменителя Стерофундина изотонического при инфузионной терапии экспериментального геморрагического шока.

Ключевые слова: геморрагический шок; малат; Стерофундин изотонический; поджелудочная железа.

English

Pancreatoprotection of Malate-Containing Infusion Solutions in Experimental Hemorrhagic Shock

A.Y. Yakovlev, D.Med.Sc., Associate Professor, Curator of the Intensive Care Unit¹;
L.B. Snopova, D.Bio.Sc., Associate Professor, Head of the Morphology Department, Central Scientific Research Laboratory of Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine²;
T.A. Galanina, Head of the Intensive Care Unit, Nizhny Novgorod Regional Traumatology Centre¹;
D.V. Ryabikov, Traumatologist¹;
D.M. Protasov, Emergency Physician¹

¹N.A. Semashko Nizhny Novgorod Regional Clinical Hospital, Rodionova St., 190, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603126;

²Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603005

The aim of the investigation was to study in experiment the effect of isotonic Sterofundin on the development of post-hemorrhagic damage of the pancreas.

Materials and Methods. The experiments were carried out on 36 male Wistar rats weighing 230–250 g. Hemorrhagic shock was stimulated by acute massive hemorrhage to the extent of 2.5 mL/100 g at rate of 2 mL/min. The blood loss an hour later was followed by the replacement of hypovolemia within 60 min by 200% of the lost volume: in control group — by Ringer's solution, in test group — by isotonic Sterofundin. Then there was performed reinfusion in the volume of 70% of blood loss. On day 1 and 3 after hemorrhagic shock we assessed the laboratory findings and morphological changes of the pancreas.

Для контактов: Яковлев Алексей Юрьевич, тел. раб. 8(831)438-93-33, тел. моб. +7 903-608-57-37, +7 951-910-57-31; e-mail: aritnru@list.ru

Results. There was found pancreatoprotective action of isotonic Sterofundin, a malate-containing blood substitute in infusion therapy of experimental hemorrhagic shock.

Key words: hemorrhagic shock; malate; isotonic Sterofundin; pancreas.

Ввиду неизменно высокой летальности, связанной с развитием постгеморрагической полиорганной недостаточности, продолжается активный поиск мероприятий интенсивной терапии, способствующих повышению адаптации внутренних органов к ишемии и последующей за ней реперфузии [1–4]. Поджелудочная железа является одним из органов-мишеней для данного механизма повреждения, так как всегда при тяжелом шоке выключается из кровообращения вследствие его централизации. Последующее развитие острого панкреатита, особенно его деструктивных форм, значительно увеличивает риск летального исхода [5]. Это обуславливает поиск новых направлений терапии [6]. В арсенале современных средств кровезамещения в последние годы появились препараты, содержащие субстратные антигипоксанта, влияние которых на постгеморрагические повреждения поджелудочной железы не изучено. В качестве субстратных антигипоксантов в кровезаменители добавляют фумарат (Мафусол), сукцинат (Реамберин и Ремаксол) и малат (Стерофундин изотонический и Стерофундин Г-5). Стерофундин изотонический является осмолярным сбалансированным полиионным раствором, который можно безопасно вводить струйно при критических состояниях, сопровождающихся гиповолемией, что определило выбор данного препарата.

Цель исследования — изучение в эксперименте влияния Стерофундина изотонического на развитие постгеморрагических повреждений поджелудочной железы.

Методы исследования. Эксперименты проведены на 36 крысах-самцах линии Wistar массой 230–250 г. Работа выполнена в полном соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.). Геморрагический шок моделировали под легким нембуталовым (25 мг/кг) наркозом посредством острой массивной кровопотери (ОМК) в объеме 2,5 мл/100 г со скоростью 2 мл/мин (30% от объема циркулирующей крови) из хвостовой артерии, в которую был установлен катетер для прямого измерения артериального давления (АД). После кровопускания АД ср без фармакологической поддержки находилось в пределах 40–50 мм рт. ст. Через 1 ч после ОМК следовало восполнение гиповолемии выбранным препаратом в объеме 200% от кровопотери: в контрольной серии (n=18) — раствором Рингера, в опытной серии (n=18) — Стерофундином изотоническим (В. Braun, Германия). Время введения препаратов — 60 мин. В последующие 60 мин реинфузировалась кровь в объеме 70% от кровопотери. Животные выводились из эксперимента через 24 и 72 ч после

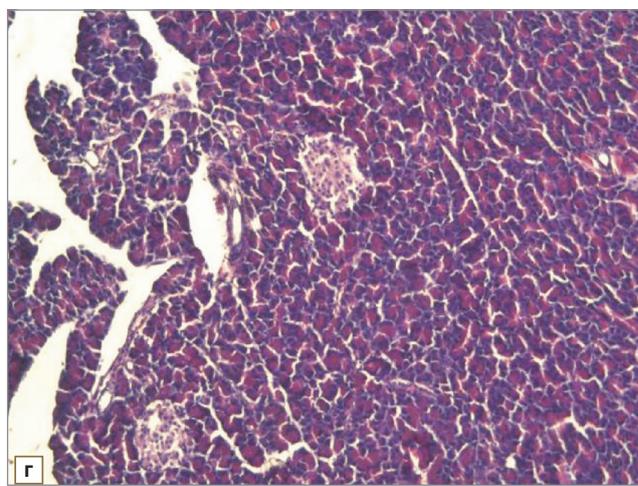
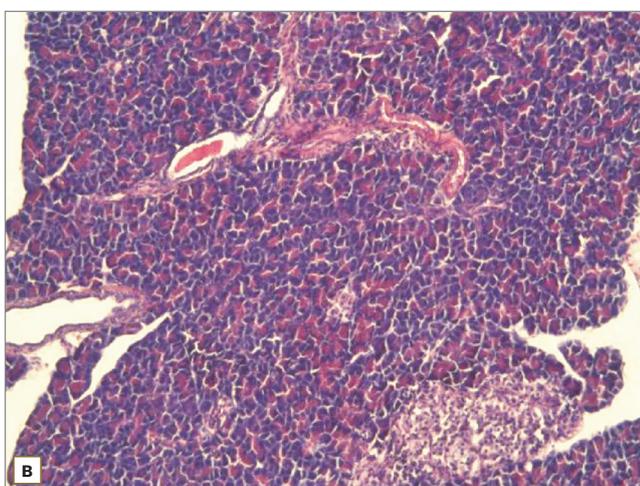
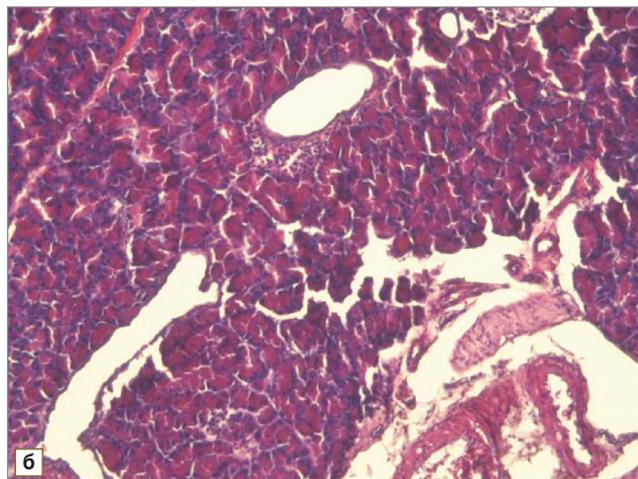
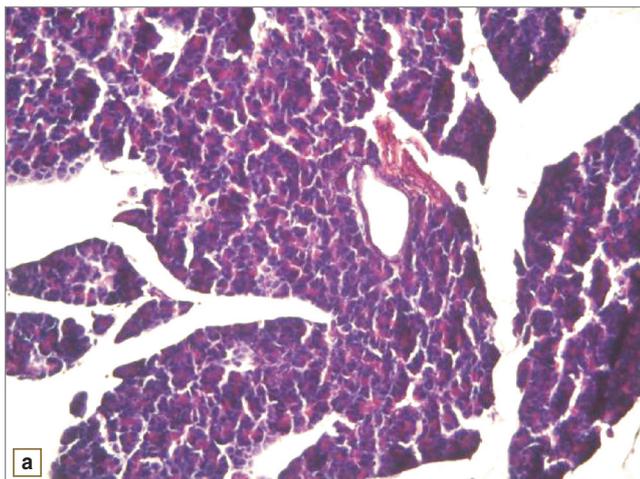
кровопотери. Перед светооптической микроскопией гистологические препараты тканей фиксировали 72–96 ч в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Срезы толщиной 7 мкм изготавливали на микротоме Leica SM 2000R (Германия) и окрашивали гематоксилином и эозином. Просмотр гистологических препаратов осуществляли на микроскопе Leica DMLS (Германия). Микрофотографии получали с помощью видеосистемы на базе компьютера Pentium III с CCD-видеокамерой. Оценку исследуемых биохимических параметров (глюкоза, лактат, лактатдегидрогеназа (ЛДГ), амилаза) проводили на биохимическом анализаторе Konelab 60i (Финляндия) набором реактивов Thermo scientific (Финляндия).

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 6.0 по критериям непараметрической статистики, используя критерий межгруппового сравнения Крускала–Уоллиса ANOVA.

Результаты и обсуждение. Морфологические исследования поджелудочной железы, проведенные через сутки после выведения крыс из геморрагического шока, показали наличие отека стромы, перипанкреатического отека в островках Лангерганса, расширение выводных протоков внешнесекреторной части железы у животных, получавших раствор Рингера (см. рисунок, а). Использование малатсодержащего раствора Стерофундина изотонического в качестве монопрепарата инфузионной терапии позволило значительно снизить выраженность отека стромы поджелудочной железы при полном отсутствии перипанкреатического отека в островках Лангерганса и периваскулярного отека (см. рисунок, б). Следовательно, малатсодержащие кровезаменители способствовали предупреждению ранних реперфузионных повреждений поджелудочной железы.

На третьи сутки постгеморрагического периода у животных контрольной серии морфологические изменения поджелудочной железы прогрессивно нарастали (см. рисунок, в). Определялись выраженный отек стромы и капсулы, периваскулярный отек, перипанкреатический отек в островках Лангерганса, расширение выводных протоков внешнесекреторной части железы. Большинство сосудов содержало только плазматический компонент, что свидетельствовало о микроциркуляторных нарушениях в поджелудочной железе.

В опытной серии наблюдали увеличение отека стромы поджелудочной железы, периваскулярный отек, перипанкреатический отек в островках Лангерганса (см. рисунок, г). В сосудистом русле отмечались явления застоя крови. Нарастание выраженности морфологических изменений в опытной и в значительно большей степени в контрольной серии в первую очередь обус-



Структура поджелудочной железы: а — раствор Рингера, 1-е сутки; б — раствор Рингера, 3-и сутки; в — раствор Стерофундина изотонического, 1-е сутки; г — раствор Стерофундина изотонического, 3-и сутки. Окраска гематоксилином и эозином; а, в, г — $\times 100$; б — $\times 40$

Изменение биохимических параметров в сыворотке крови крыс после острой массивной кровопотери (M \pm SD)

Период наблюдения	Глюкоза	Лактат	Глюкоза/лактат	ЛДГ	Амилаза	Ca ²⁺
Раствор Рингера						
1-е сутки	8,47 \pm 1,53	3,92 \pm 0,52	2,18 \pm 0,32	752,1 \pm 128,8	1378,1 \pm 262,5	1,10 \pm 0,05
3-и сутки	7,83 \pm 1,01	3,10 \pm 0,38	2,48 \pm 0,20	792,2 \pm 156,8	885,0 \pm 240,5*	0,56 \pm 0,10
Стерофундин изотонический						
1-е сутки	7,34 \pm 1,89	3,39 \pm 0,48	2,16 \pm 0,40	484,7 \pm 95,4**	804,0 \pm 149,7**	1,22 \pm 0,02
3-и сутки	6,35 \pm 0,73**	2,31 \pm 0,35***	2,82 \pm 0,28*#	580,2 \pm 104,0#	508,5 \pm 151,1***	0,82 \pm 0,08

Примечание: статистически значимая разница значений в сравнении с 1-ми сутками: * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$; # — $p < 0,05$, ## — $p < 0,01$ — в сравнении с контрольной группой.

ловлено поздними реперфузионными изменениями. Но это не исключает влияния на поджелудочную железу других органов желудочно-кишечного тракта, вовлекаемых в полиорганную дисфункцию, в том числе кишечника и печени [7].

Анализ результатов исследования основных лабораторных показателей, характеризующих ишемические

и последующие реперфузионные повреждения поджелудочной железы [8, 9] (см. таблицу), показал, что в раннем постгеморрагическом периоде у всех животных отмечались выраженные изменения углеводного обмена: гипергликемия, гиперлактатемия, снижение индекса «глюкоза/лактат». Они регрессировали статистически значимо более быстрыми темпами у животных

опытной серии, что подтверждает антигипоксическую активность малата, входящего в состав Стерофундина изотонического. Темпы снижения гиперлактатемии были выше, чем у других метаболических показателей. Сохраняющаяся у животных контрольной серии гипергликемия на 3-и сутки являлась отражением не только постагрессивной инсулинорезистентности, но и нарушения эндокринной функции поджелудочной железы, подтверждаемого морфологической картиной островков Лангерганса.

Высокие значения ферментемии у животных контрольной группы в постгеморрагическом периоде свидетельствовали о степени некротических повреждений клеток внутренних органов. Гиперамилаземия наряду с гипокальциемией подтверждали особую уязвимость поджелудочной железы к ишемическим повреждениям, а сохраняющиеся на протяжении трех суток значения лактатдегидрогеназы, превышающие 750 ЕД, дополнительно свидетельствовали о высокой вероятности развития деструктивной формы острого панкреатита.

Постишемическая гиперферментемия у животных опытной группы была значительно ниже, что объясняется цитопротекторными и мембранопротекторными свойствами экзогенно вводимого малата за счет поддержания энергопродукции в цикле трикарбоновых кислот и малат-аспаратном шунте. Известная взаимосвязь метаболизма малата и сукцината не исключает коррекции энергодефицита за счет повышения биодоступности сукцината клетками [10–12]. Снижение выраженности цитолитического синдрома подтверждает важность субстратного поддержания малатзависимых механизмов органопротекции Стерофундином изотоническим.

Уменьшение выраженности морфологических и лабораторных проявлений острого панкреатита при использовании Стерофундина изотонического мы связываем с восстановлением кислородозависимых биоэнергетических процессов в клетке наряду с отсроченным комплексным протективным действием малата на адаптационные механизмы после ОМК [13–14].

Заключение. Малатсодержащий кровезаменитель Стерофундин изотонический, применяемый на ранних этапах лечения экспериментальной острой массивной кровопотери, оказывает профилактическое действие на развитие повреждений поджелудочной железы в раннем и отсроченном постгеморрагических периодах.

Литература

1. Alam H.B., Rhee P. New development in fluid resuscitation. *Surg Clin North Am* 2007; 87(1): 55–72.
2. Donat R. Spahn, Vladimir Cerny, Timothy J. Coats, Jacques Duranteau, Enrique Fernández-Mondéjar, Giovanni Gordini, et al. Management of bleeding following major trauma: a European guideline. *Crit Care* 2007 April 24; 11(2): 414.
3. Schmid-Schonbein G.V., Delano F.A., Penn A.N., Kistler E. An elementary analysis of physiologic shock and multi-organ failure: the autodigestion hypothesis. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2012 Aug; 2012: 3114–3115.

4. Yang J.F., Sun L.M., Wang X.F., Dai N. Massive gastrointestinal bleeding from Meckel diverticulum with ectopic pancreatic tissue. *Chin Med J (Engl)* 2011 Feb; 124(4): 631–633.

5. Kovacs J., Gursu S., Jung J., Szederesi J., Copotoiu R., Azamfieri L. Clinico-pathological particularities of the shock-related pancreatitis. *Pathol Oncol Res* 2012 Oct; 18(4): 977–981.

6. Мороз В.В. Стратегия и тактика применения антигипоксантов при критических состояниях. В кн.: *Фундаментальные проблемы реаниматологии (избранные лекции и обзоры). Труды института общей реаниматологии РАМН. Том IV. М; 2005; с. 210–220.*

7. Ермолов А.С., Попова Т.С., Пахомова Г.В., Утешев Н.С. Синдром кишечной недостаточности в неотложной абдоминальной хирургии (от теории к практике). М: Медэкспертпресс; 2005; 460 с.

8. Долгих В.Т., Ершов А.В., Шикунова Л.Г. К патогенезу сердечной недостаточности при панкреонекрозе (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология* 2009; 3: 39–44.

9. Egea-Guerrero J.J., Revuelto-Rev J., Martin-Bermudes R., Domingues-Roldan J.M. Elevated serum pancreatic enzyme levels after hemorrhagic shock, every variable under control? *J Trauma* 2010 Apr; 68(4): 1016.

10. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 2011; 1: 3–19.

11. Маевский Е.И., Гришина Е.В., Розенфельд А.С. и др. Анаэробное образование сукцината и облегчение его окисления — возможные механизмы адаптации клетки к кислородному голоданию. *Биофизика* 2000; 45(3): 509–513.

12. Hamada T., Yamamoto M., Naramaru K., et al. The farmakokinetics of D-lactate, L-lactate, malate and acetate in humans. *Masui* 1997; 46: 229–236.

13. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 2004; 2: 2–11.

14. Lukyanova L.D., Germanova E.L., Kirova Ya.I. In: *Adaptation Biology and Medicine. Vol. VI. New Delhi: Narosa Publishing House; 2011; p. 251–277.*

References

1. Alam H.B., Rhee P. New development in fluid resuscitation. *Surg Clin North Am* 2007; 87(1): 55–72.

2. Donat R. Spahn, Vladimir Cerny, Timothy J. Coats, Jacques Duranteau, Enrique Fernández-Mondéjar, Giovanni Gordini, et al. Management of bleeding following major trauma: a European guideline. *Crit Care* 2007 April 24; 11(2): 414.

3. Schmid-Schonbein G.V., Delano F.A., Penn A.N., Kistler E. An elementary analysis of physiologic shock and multi-organ failure: the autodigestion hypothesis. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2012 Aug; 2012: 3114–3115.

4. Yang J.F., Sun L.M., Wang X.F., Dai N. Massive gastrointestinal bleeding from Meckel diverticulum with ectopic pancreatic tissue. *Chin Med J (Engl)* 2011 Feb; 124(4): 631–633.

5. Kovacs J., Gursu S., Jung J., Szederesi J., Copotoiu R., Azamfieri L. Clinico-pathological particularities of the shock-related pancreatitis. *Pathol Oncol Res* 2012 Oct; 18(4): 977–981.

6. Moroz V.V. Strategiya i taktika primeneniya antigipoksantov pri kriticheskikh sostoyaniyakh. V kn.: *Fundamental'nye problemy reanimatologii (izbrannye leksii i obzory). Trudy instituta obshchey reanimatologii RAMN* [Strategy and tactics of using antihypoxic agents in critical conditions. In: *Fundamental problems of emergency medicine (selective lectures and reviews). Proceedings of Research Institute of General Reanimatology of RAMS]. Vol. IV. Moscow; 2005; p. 210–220.*

7. Ermolov A.S., Popova T.S., Pakhomova G.V., Uteshev N.S. *Sindrom kishhechnoy nedostatochnosti v неотложной абдоминальной хирургии (от теории к практике)* [Malabsorption syndrome in emergency abdominal surgery (from theory to practice)]. Moscow: Medekspertpress; 2005; 460 p.

8. Dolgikh V.T., Ershov A.V., Shikunova L.G. K patogenezu

serdechnoy nedostatochnosti pri pankreonekroze (eksperimental'noe issledovanie) [About the pathogenesis of cardiac failure in pancreatonecrosis (experimental study)]. *Obshchaya reanimatologiya — General Reanimatology* 2009; 3: 39–44.

9. Egea-Guerrero J.J., Revuelto-Rev J., Martin-Bermudes R., Domingues-Roldan J.M. Elevated serum pancreatic enzyme levels after hemorrhagic shock, every variable under control? *J Trauma* 2010 Apr; 68(4): 1016.

10. Luk'yanova L.D. Sovremennye problemy adaptatsii k gipoksii. Signal'nye mekhanizmy i ikh rol' v sistemnoy regulyatsii. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya* [Modern problems of adaptation to hypoxia. Signal mechanisms and their role in systemic regulation]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya — Pathological Physiology and Experimental Therapy* 2011; 1: 3–19.

11. Maevskiy E.I., Grishina E.V., Rozenfel'd A.S., et al. Anaerobnoe

obrazovanie suksinata i oblegchenie ego okisleniya — vozmozhnye mekhanizmy adaptatsii kletki k kislородному golodaniyu [Anaerobic succinate formation and of easing of its oxidation — possible mechanisms of cell adaptation to hypoxia]. *Biophysics* 2000; 45(3): 509–513.

12. Hamada T., Yamamoto M., Naramaru K., et al. *The farmakokinetics of D-lactate, L-lactate, malate and acetate in humans*. *Masui* 1997; 46: 229–236.

13. Luk'yanova L.D. Rol' bioenergeticheskikh narusheniy v patogeneze gipoksii [The role of bioenergetic disorders in hypoxia pathogenesis]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya — Pathological Physiology and Experimental Therapy* 2004; 2: 2–11.

14. Lukyanova L.D., Germanova E.L., Kirova Ya.I. In: *Adaptation Biology and Medicine*. Vol. VI. New Delhi: Narosa Publishing House; 2011; p. 251–277.