

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ НА СИСТЕМУ АНТИПЕРЕКИСНОЙ ЗАЩИТЫ И МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ ПРИ РЕЗЕКЦИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

СТЕНЬКО А.А., ЖУК И.Г., ЗИНЧУК В.В., БРАГОВ М.Ю.

*УО «Гродненский государственный медицинский университет»;
кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии*

Резюме. Целью работы было изучение состояния ПОЛ-антиоксидантной защиты и системы микроциркуляции при резекции поджелудочной железы и исследование влияния низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) и фотодинамической терапии (ФДТ) на эти системы.

Установлено, что одновременно со снижением показателей ПОЛ наблюдалась активация антиоксидантной защиты в ткани поджелудочной железы начиная с 3 суток эксперимента. В крови к 7 суткам, параллельно с нарастанием окислительной деструкции липидов снижалась активность антиоксидантной системы. К 14 суткам прослеживалась обратная связь в динамике показателей ПОЛ и антиоксидантной системы. При этом применение НИЛИ и ФДТ ведет к меньшему дисбалансу в прооксидантно-антиоксидантной системе и тем самым корригирует микроциркуляторные нарушения при резекции поджелудочной железы.

Ключевые слова: резекция поджелудочной железы, ПОЛ, НИЛИ, ФДТ.

Abstract. The purpose of investigation was to study lipid peroxidation-antioxidant and microcirculation system at pancreas resection and research influence of low level laser therapy (LLLТ) and photodynamic therapy (PDT) on these systems.

Was established, that simultaneously with reduction of lipid peroxidation parameters activation of antioxidant activity was observed in pancreas tissue since 3 day of experiment. In blood by 7 day, in parallel with increasing of oxidizing lipid destruction, the activity of antioxidant system was reduced. By 14 day the feedback in dynamics of LP-antioxidant system parameters was traced. Thus application of LLLT and PDT conducts to smaller imbalance in prooxidant-antioxidant system and by that prevent microcirculatory disorders at pancreas resection.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 230025, г. Гродно, ул. Свердлова, 3; р. тел. (80152) 72-11-72, моб. тел. 7809021, e-mail: www.profstenko@yandex.ru.
– Стенько А.А.

Ведение послеоперационного периода у больных, перенесших оперативные вмешательства на поджелудочной железе, является, по мнению большинства авторов, наиболее проблемным разделом абдоминальной хирургии, что связано с одной стороны с высокими показателями летальности и частотой фатальных осложнений, с другой стороны с неуклонным ежегодным ростом числа случаев хронического панкреатита [6, 8]. Благодаря проведенным научным изысканиям последних лет были получены новые сведения о патогенетических механизмах неблагоприятного течения послеоперационного периода при операциях на этом органе.

Одним из звеньев патогенеза в развитии деструктивно-дегенеративных изменений, а также осложнений при резекции поджелудочной железы являются мембранные нарушения [3, 4, 5, 7]. Следствием дестабилизации клеточных мембран является продолжающийся аутолиз железы и системные органые нарушения. Доказано, что значительная роль в патологии клеточных мембран при резекции органа принадлежит процессам перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1]. Увеличение количества продуктов ПОЛ приводит к развитию необратимых изменений, являющихся основой фрагментации и разрушения мембран, гибели клеток.

В ряде экспериментальных и клинических исследований была установлена прямая зависимость между активностью свободнорадикального окисления и степенью системных микроциркуляторных нарушений. Процессы ПОЛ имеют универсальный характер, и один из уровней реализации патологических эффектов – это система микроциркуляции [2].

Статистический анализ проведен процедурами пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Параметры подсчитаны с помощью описательной статистики (среднее значение, стандартная ошибка среднего). При определении значимости различий между средними величинами признаков использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок.

Методы

Мы попытались изучить состояние микроциркуляции и ПОЛ-антиоксидантной защиты при резекции поджелудочной железы и исследовать влияние низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) и фотодинамической терапии (ФДТ) на эти системы. Исследования проводились на 60 белых беспородных крысах самцах массой 200-250 г. с чистой и гладкой шерстью и нормальной поведенческой активностью, находившихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к пище и воде, с естественным световым режимом. Под внутримышечным калипсоловым наркозом выполняли срединную лапаротомию. Производили мобилизацию поджелудочной железы с сохранением кровоснабжения селезенки, выполняли дистальную резекцию органа. Культю железы ушивали П-образными швами (полипропилен 5/0). Животные были разделены на три группы (по 20 в каждой): контрольная и две опытные. У животных первой опытной группы после выполнения резекции производили однократное интраоперационное облучение культи поджелудочной железы гелий-неоновым лазером (продолжительность облучения 5 мин), после чего передняя брюшная стенка ушивалась наглухо. В послеоперационном периоде этим жи-

вотным выполняли чрезкожное в зоне проекции культи органа облучение лазером в течение 6 дней 1 раз в сутки. Во второй серии эксперимента (у крыс второй опытной группы) после оперативного вмешательства в брюшную полость вводился 1 мл раствора фотосенсибилизатора нильский синий концентрацией 10^{-6} моль/л и через 3 минуты интраоперационно активизировался низкоинтенсивным лазерным излучением в течение 5 минут. Ведение послеоперационного периода не отличалось от предыдущей серии эксперимента. Лазеротерапию в опытных группах осуществляли аппаратом "Родник 1" с длиной волны 0,637 мкм, мощностью датчика излучения 20 Вт.

Животных выводили из опыта на 3, 7, 14, 30 сутки после операции. Состояние прооксидантно-антиоксидантной системы оценивали с помощью определения концентрации диеновых конъюгатов, оснований Шиффа, токоферола и каталазы в крови и ткани поджелудочной железы по стандартным методикам. Оценку изменений в системе микроциркуляции железы при ее резекции проводили, выполняя наливку сосудистого русла через сердце черной тушью, по методу Н. А. Джавахишвили и М. Э. Комахидзе. Плотность сосудистого русла определяли по отношению количества проконтрастированных сосудов к площади кадра.

Результаты и обсуждение.

Изучение показателей прооксидантной системы показало, что в послеоперационном периоде после резекции поджелудочной железы вслед за первоначальной активацией их значений к 3 суткам заболевания, имеется тенденция к снижению в ткани органа. При этом к 14 суткам наблюдения значения показателей диеновых конъюгатов (ДК) и оснований Шиффа (ОШ) достоверно были ниже уровня, наблюдавшегося в 3 сутки на 5,5% ($p < 0,001$) и 7% ($p < 0,05$) (контроль), на 6,25% ($p < 0,01$) и 16% ($p < 0,001$) (опытная группа), на 9,6% ($p < 0,05$) и 18% ($p < 0,001$) (опытная группа 2) соответственно. Одновременно со снижением показателей перекисного окисления липидов наблюдалось повышение показателей антиоксидантной защиты. На 14 сутки по сравнению с 3 прирост значений каталазы и токоферола составил 38% ($p < 0,001$) и 11,4% ($p < 0,001$) (контроль), 25,6% ($p < 0,01$) и 14,1% ($p < 0,001$) (опытная группа), 38% ($p < 0,001$) и 14,5% ($p < 0,001$) (опытная группа 2) соответственно.

В послеоперационном периоде на 7-е сутки по сравнению 3-ми отмечалось некоторое прогрессирование липопероксидации в гемолизатах эритроцитов во всех сериях эксперимента. Так в контрольной группе наблюдалось достоверное увеличение показателей ДК на 15,5% ($p < 0,05$) и ОШ на 17,6% ($p < 0,001$), в первой опытной группе – 7,8% ($p < 0,05$) и 13% ($p < 0,01$) соответственно. Во второй – отмечали достоверное прогрессирование лишь ОШ на 7,9 % ($p < 0,05$), в показателях ДК наблюдался регресс вплоть до 14 суток на 5,9% ($p < 0,001$). Одновременно с увеличением показателей прооксидантной системы наблюдалось угнетение каталазы и токоферола во всех группах к 7-м суткам (контроль на 44,8% ($p < 0,01$) и 4,1% ($p < 0,001$), первая серия на 4,4% ($p < \text{нед}$) и 4,1% ($p < 0,001$), вторая серия на 4,7% ($p < 0,05$) и 3,4% ($p < 0,001$) соответственно), т.е. истощение антиоксидантной системы.

Таблица 1

Изменение показателей ПОЛ и АОС в поджелудочной железе крыс при ее резекции, дополнительном воздействии НИЛИ и ФДТ

Показатель	Группы животных								
	контроль			НИЛИ			ФДТ		
	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут
ДК, ЕД/мл	12,42± 0,45	14,7± 0,24	11,8± 0,16	12,42± 0,31	13,48± 0,12 *	11,2± 0,14 *	11,16± 0 * #	11,02± 0,34 *** ##	10,5± 0,03 ** ##
ОШ, ЕД/мл	949,5± 8,84	1153,3± 5,03	1111,8± 14,2	955,66± 10,64	1098,1± 18,33 *	944,4± 3,21 ***	741,6± 2,08 *** ###	804,9± 21,68 *** ###	773,1± 9,6 *** ###
Катал мкМ H ₂ O ₂ /с г Hb	5,67± 0,29	3,13± 0,28	4,915± 0,22	5,296± 0,27	5,065± 0,35 *	5,645± 0,002 *	7,705± 0,1 ** ##	7,345± 0,05 *** ##	7,405± 0,07 ** ###
Токоф мкМ	129,99± 0,29	124,68± 0,07	126,36± 0	133,14± 0,24 **	127,68± 0,28 ***	129,38± 0,12 ***	139,83± 0,16 *** ###	135,28± 0,3 *** ###	138,96± 0,16 *** ###

Примечание: * p<0,05 – достоверность при сравнении с контролем;
 ** p<0,01– достоверность при сравнении с контролем;
 *** p<0,001– достоверность при сравнении с контролем;
 # p<0,05– достоверность при сравнении с НИЛИ;
 ## p<0,01– достоверность при сравнении с НИЛИ;
 ### p<0,001– достоверность при сравнении с НИЛИ.

Таблица 2

Изменение показателей ПОЛ и АОС в гемолизатах эритроцитов крыс при ее резекции, дополнительном воздействии НИЛИ и ФДТ

Показатель	Группы животных								
	контроль			НИЛИ			ФДТ		
	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут
ДК, ЕД/мл	12,42± 0,45	14,7± 0,24	11,8± 0,16	12,42± 0,31	13,48± 0,12 *	11,2± 0,14 *	11,16± 0 * #	11,02± 0,34 *** ##	10,5± 0,03 ** ##
ОШ, ЕД/мл	949,5± 8,84	1153,3± 5,03	1111,8± 14,2	955,66± 10,64	1098,1± 18,33 *	944,4± 3,21 ***	741,6± 2,08 *** ###	804,9± 21,68 *** ###	773,1± 9,6 *** ###
Катал. мкМ H ₂ O ₂ /с г Hb	5,67± 0,29	3,13± 0,28	4,915± 0,22	5,296± 0,27	5,065± 0,35 *	5,645± 0,002 *	7,705± 0,1 ** ##	7,345± 0,05 *** ##	7,405± 0,07 ** ###

Показатель	Группы животных								
	контроль			НИЛИ			ФДТ		
	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут
Токоф. мкМ	129,99± 0,29	124,68± 0,07	126,36± 0	133,14± 0,24 **	127,68± 0,28 ***	129,38± 0,12 ***	139,83± 0,16 *** ###	135,28± 0,3 *** ###	138,96± 0,16 *** ###

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверность при сравнении с контролем;
 ** $p < 0,01$ – достоверность при сравнении с контролем;
 *** $p < 0,001$ – достоверность при сравнении с контролем;
 # $p < 0,05$ – достоверность при сравнении с НИЛИ;
 ## $p < 0,01$ – достоверность при сравнении с НИЛИ;
 ### $p < 0,001$ – достоверность при сравнении с НИЛИ.

К 14 суткам наблюдалось угнетение процессов ПОЛ и восстановление антиоксидантной системы во всех группах. Уменьшение в показателях ДК и ОШ в контрольной группе составило 19,7% ($p < 0,001$) и 3,6% ($p < \text{нед}$), в первой опытной группе 16,9% ($p < 0,001$) и 14% ($p < 0,001$) соответственно. Во второй опытной группе отмечали недостоверное убывание ОШ на 4%. Показатели каталазы и токоферола увеличивались к 14 суткам по сравнению с 7 на 36,3% ($p < 0,01$) и 1,3% ($p < 0,001$) в контрольной группе, 10,3% ($p < \text{нед}$) и 1,3% ($p < 0,01$) в первой серии, 0,8% ($p < \text{нед}$) и 2,7% ($p < 0,01$) во второй серии эксперимента. Причем самые низкие показатели прооксидантной и наиболее высокие антиоксидантной систем были во второй серии эксперимента и достоверно отличались от контроля и первой серии.

В плазме крови к 7 суткам по сравнению с третьими наблюдалась активация свободнорадикальных процессов. Показатели ДК и ОШ в контрольной группе увеличивались на 51,4% ($p < 0,001$) и 13,1% ($p < \text{нед}$), в группе с применением НИЛИ – на 26,7% ($p < 0,001$) и 8,8% ($p < 0,01$), с применением ФДТ – на 27,6% ($p < 0,05$) и 9,9% ($p < \text{нед}$) соответственно. К 14 суткам в показателях ПОЛ в плазме крови отмечалась обратная тенденция: свободнорадикальные процессы затухали. Убывание ДК и ОШ в контрольной группе составило 59,5% ($p < 0,001$) и 19,3% ($p < 0,01$), в первой серии 77,8% ($p < 0,001$) и 14,3% ($p < 0,05$), во второй серии 89,7% ($p < 0,001$) и 15,3% ($p < 0,01$) соответственно.

Таблица 3

Изменение показателей ПОЛ и АОС в плазме крови крыс при ее резекции, дополнительном воздействии НИЛИ и ФДТ

Показатель	Группы животных								
	контроль			НИЛИ			ФДТ		
	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут
ДК, ЕД/мл	0,36± 0	0,74± 0,01	0,3± 0,009	0,33± 0,006 ***	0,45± 0,006 ***	0,1± 0,009 ***	0,21± 0,006 *** ###	0,29± 0,02 *** ###	0,03± 0,004 *** ###
ОШ, ЕД/мл	203,05± 2,86	233,7± 11,27	188,6± 2,68	146,95± 1,47 ***	161,05± 1,53 **	137,95± 5,16 ***	141,6± 5,2 ***	157,15± 3,5 **	133,05± 1,81 ***

Показатель	Группы животных								
	контроль			НИЛИ			ФДТ		
	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут	3 сут	7 сут	14 сут
Токоф. мкМ	22,025± 0,25	20,685± 0,14	20,73± 0,01	21,025± 0,17	21,01± 0,15	21,375± 0,02 ***	23,715± 0,009 *** ###	23,41± 0,13 *** ###	23,595± 0,04 *** ###

Примечание: * p<0,05 – достоверность при сравнении с контролем;
 ** p<0,01– достоверность при сравнении с контролем;
 *** p<0,001– достоверность при сравнении с контролем;
 ### p<0,001– достоверность при сравнении с НИЛИ.

При резекции поджелудочной железы в плазме, как и в эритроцитах к 7 суткам, одновременно с нарастанием окислительной деструкции липидов снижается активность антиоксидантной системы (АОС). К 14 суткам также прослеживается обратная связь в динамике показателей ПОЛ и АОС: первые уменьшаются, вторые увеличиваются. Так значения токоферола в контрольной группе уменьшились на 6,1% (p<0,01), увеличение произошло на 0,2% (p<нед). В группах с применением НИЛИ и ФДТ колебания показателей Vit E были менее выражены по сравнению с контролем и недостоверны, составили 0,07% и 1,7% в первой, 1,3% и 0,8% во второй серии эксперимента.

Анализ морфометрических показателей, отражающих состояние микроциркуляторного русла при резекции поджелудочной железы, показал, что применение НИЛИ вызывало достоверное на 30 сутки, а ФДТ на 14 и 30 сутки повышение плотности сосудистого русла в паренхиме культы органа в сравнении с животными, по отношению к которым данные методы лечения не применяли.

Таблица 4

**Морфометрические показатели плотности сосудистого русла
 культы поджелудочной железы после резекции органа**

Сутки	Вид опыта	Плотность сосудистого русла
14	Контроль	4,52±0,23
	НИЛИ	4,75±0,11
	ФДТ	5,33±0,1*
30	Контроль	5,7±0,14
	НИЛИ	7,0±0,29*
	ФДТ	9,16±0,29** #

Примечание: * - p<0,05 по отношению к контролю данного срока;
 ** - p<0,001 по отношению к контролю данного срока;
 # - p<0,01 по отношению к НИЛИ данного срока.

Механизмы антиоксидантной протекции организма при резекции поджелудочной железы в силу определенной хрупкости не способны выполнять свою защитную функцию. Так к 7 суткам после резекции наблюдалось увеличение показателей липопероксидации и уменьшение АОС, которые были наиболее выражены в контрольной группе животных. Это объяснялось прогрессированием деструктивного процесса в ткани поджелудочной железы, переходом забо-

левания в фазу гнойно-некротических осложнений с активацией фагоцитоза, что стимулирует усиление процессов ПОЛ. Менее выраженные показатели прооксидантной и более значительные АОС систем, а также незначительные их колебания в крови в группе животных с применением ФДТ, обусловлены более благоприятным, без тяжелых осложнений, течением послеоперационного периода.

Также необходимо учесть, что обнаруженного накопления продуктов ПОЛ (ДК и ОШ) и депрессии антиоксидантных ферментов в периферической крови на 7 сутки в поджелудочной железе не происходило, то есть при резекции железа оказывалась длительно подвержена влиянию оксидантного стресса.

Таким образом, активация антиоксидантной системы и торможение перекисного окисления липидов при резекции поджелудочной железы происходит не сразу, а лишь после первоначальной стимуляции ПОЛ. Уровень продуктов перекисного окисления липидов возрастает, что в конечном итоге и приводит к активации АОС организма и торможению процессов ПОЛ. Воздействие НИЛИ и применение ФДТ способствуют повышению утилизации кислорода и снижению потребления его тканями, что ведет к меньшему дисбалансу в прооксидантно-антиоксидантной системе и тем самым предотвращает развитие мембранных нарушений при резекции поджелудочной железы.

Более выраженное снижение активности процессов ПОЛ и активизация АОС в результате применения НИЛИ и ФДТ обуславливает более значительное увеличение количества функционирующих сосудов по сравнению с контрольной группой. Механизм активации регионарных микроциркуляторных процессов заключается в увеличении количества функционирующих капилляров, ранее находившихся в резервном состоянии, а также в улучшении реологических свойств крови. При этом в результате действия НИЛИ и ФДТ не происходит слипания эритроцитов между собой, и последние способны проникать в капилляры, которые были закрыты для них в результате некроза, патологической закупорки сосудов, состояния ишемии.

Заключение

Воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения и применение фотодинамической терапии в послеоперационном периоде при резекции поджелудочной железы тормозит процессы перекисного окисления липидов и повышают уровень антиоксидантной защиты организма, способствуя тем самым ускорению восстановления структуры и функции микроциркуляторного русла, усилению образования новых микрососудов в культе поджелудочной железы.

Литература

1. Владимиров, В. Г. Острый панкреатит. Экспериментально-клиническое исследование / В. Г. Владимиров, В. И. Сергиенко. – М: Медицина, 1986. 240 с.
2. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на микроциркуляцию и систему антиперекисной защиты при экспериментальном панкреатите / Ю. С. Винник [и др.] // Методология флоуметрии. – 1999. – С. 69–79.

3. Волков, В. Е. Резекция поджелудочной железы / В. Е. Волков, Е. С. Катанов; под ред. В. В. Амосова. – Саранск: Изд-во Сарат. ун-та, 1990. – 132 с.

4. Нерешенные вопросы в лечении больных острым деструктивным панкреатитом / С. Р. Добровольский [и др.] // *Анналы хирургии*. – 2004. – № 1. – С. 15–20.

5. Ермолов, А. С. Комплексное лечение острого панкреатита с применением современных технологий / А. С. Ермолов, Д. А. Благовестнов, С. Н. Новосел // *Вестник новых медицинских технологий*. – 2003. – № 3. – С. 64–66.

6. Выбор рациональной тактики лечения острого панкреатита / П. А. Иванов [и др.] // *Хирургия*. – 1998. – № 9. – С. 50–53.

7. Шугаев, А. И. Малоинвазивные методики в комплексном лечении больных с острым панкреатитом и его осложнениями / А. И. Шугаев, А. Л. Андреев // *Вестник хирургии*. – 1999. – № 5. – С. 85–89.

8. Kloppel, G. Pathomorfology of acut pancreatitis / G. Kloppel // *Ann. Ital. Chir.* – 1995. – Vol. 66, N 2. – P. 149–154.