

Оксидантный статус ткани поджелудочной железы на фоне антиоксидантной и антигипоксантной терапии

А. В. СУСЛОВ

Пензенский государственный университет, ул. Красная, д. 40, Пенза, 440026, Российская Федерация

Цель исследования Анализируя антиокислительный и энергетический статус ткани поджелудочной железы изучить механизмы влияния антиоксидантной и антигипоксантной терапии при остром панкреатите.

Материалы и методы Проведены экспериментальные работы на 46 животных, которым моделировалась отечную форму острого панкреатита. В контрольные сроки исследования (1, 3 и 5-е сутки) животным производили релапаротомию, в ткани поджелудочной железы интраоперационно исследовали окислительно-восстановительный потенциал и коэффициент диффузии кислорода, оценивали микроциркуляцию и морфологическое состояние. Выполняли биопсию ткани поджелудочной железы с целью изучения процессов перекисного окисления липидов. Животным первой опытной серии (n=12) в послеоперационном периоде проводили антиоксидантную терапию этоксидол (10 мг/кг). Животным второй опытной серии (n=12) в послеоперационном периоде проводили антигипоксантную терапию ремаксола (15 мл/кг).

Результаты и их обсуждение Полученные в ходе выполнения исследования научные данные свидетельствуют об определенной «изолированности» формирования дефицита энергии и развития процессов перекисного окисления липидов. Восстановление тканевого дыхания в поджелудочной железе не снижает интенсивности процессов перекисного окисления липидов.

Выводы Интенсивность перекисного окисления липидов в ткани поджелудочной железы лимитируется другими, дополнительными механизмами, исключающими нарушение энергетического статуса ткани.

Ключевые слова Острый панкреатит, антиоксидант, антигипоксант, тканевое дыхание, перекисное окисление липидов, механизмы влияния

Oxidative status of pancreatic tissue on the background of the antioxidant and antihypoxic therapy

A. V. SUSLOV

Penza state University, Krasnaya str., 40, Penza, 440026, Russian Federation

The purpose of the study Analyzing the antioxidant and energy status of pancreatic tissue to study the mechanisms of influence of antioxidant and antihypoxic therapy in acute pancreatitis.

Materials and methods Experimental work 46 animals, which were modeled edematous form of acute pancreatitis. In the control and study periods (1, 3 and 5 days) animals relaparotomy was performed in pancreatic tissue intraoperatively examined the redox potential and diffusion coefficient of oxygen, microcirculation was evaluated and morphological conditions. Performed a biopsy of pancreatic tissue for the purpose of studying the processes of lipid peroxidation. Animals of the first experimental series (n=12) in the postoperative period was carried out antioxidant therapy toxicol (10 mg/kg). Animals of the second experimental series (n=12) in the postoperative period was antihypoxic therapy remaxol (15 ml/kg).

Results and their discussion Obtained during the execution of the research evidence shows that a certain "isolation" of the formation energy shortage and development of processes of lipid peroxidation. Recovery of tissue respiration in the pancreas does not reduce the intensity of the processes of lipid peroxidation.

Conclusions The intensity of lipid peroxidation in pancreatic tissue is limited by other, additional mechanisms, eliminating the violation of the energy status of the tissue.

Key words Acute pancreatitis, antioxidant, antihypoxic drug, tissue respiration, lipid peroxidation, mechanisms of influence

Острый панкреатит на сегодняшний день является основным ургентным хирургическим заболеванием, требующим внимание практических врачей и научных исследователей, так как летальность при остром панкреатите находится на стабильно высоких цифрах и достигает 60% [1,2,3].

Под влиянием факторов агрессии при остром панкреатите в ткани поджелудочной железы развивается «энергетический голод», побочным эффектом которого можно рассматривать активизацию процессов перекисного окисления липидов в биологических мем-

бранах клеток и внутриклеточных органелл. На сегодняшний день установлено, что перекисное окисление липидов можно рассматривать как один из ведущих механизмов развития и прогрессирования острого панкреатита [4,5]. В связи с этим, в практическую медицину активно внедряются препараты, обладающие антиоксидантным типом действия, основной точкой приложения которых является повышение антиокислительного статуса ткани поджелудочной железы. Однако учитывая, что первопричиной развития перекисного окисления липидов является нарушение процесса

энергосинтеза (появление активных форм кислорода), вполне обоснованно применение препаратов, которые нормализуют процессы тканевого дыхания – антигипоксантов [6,7]. Под влиянием этих препаратов будет восстанавливаться энергетический статус в ткани поджелудочной железы, что приведет к уменьшению пула активных форм кислорода и, как следствие, снижению активности процессов перекисного окисления липидов.

Таким образом, крайне актуальным становится изучение влияния антиоксидантной и антигипоксантной терапии на механизмы взаимосвязи энергетического статуса и процессов перекисного окисления липидов в ткани поджелудочной железы.

Цель исследования: анализируя антиокислительный и энергетический статус ткани поджелудочной железы, изучить механизмы влияния антиоксидантной и антигипоксантной терапии при остром панкреатите.

Материалы и методы

Проведены экспериментальные работы на 46 животных. Методика эксперимента: отечную форму острого панкреатита животным моделировали по способу В.М. Буянова с соавт. (1989). Взрослым беспородным собакам обоего пола массой от 11,2 до 15,9 кг под общим обезболиванием выполняли срединную лапаротомию, проводили пункцию желчного пузыря с забором желчи и последующим лигированием места пункции, затем желчь вводили в паренхиму вертикальной части поджелудочной железы по 0,5 мл в 5 точек. В контрольные сроки исследования (1, 3 и 5-е сутки) животным производили релапаротомию, в ткани поджелудочной железы интраоперационно исследовали окислительно-восстановительный потенциал и коэффициент диффузии кислорода, оценивали микроциркуляцию и морфологическое состояние. Выполняли биопсию ткани поджелудочной железы с целью изучения процессов перекисного окисления липидов.

Животные были разделены на три серии. Первая серия (n=12) контрольная, животным в послеоперационном периоде проводили инфузионную терапию (внутривенные введения 5 % раствора глюкозы и 0,89 % раствора хлорида натрия из расчета 60 мл/кг массы животного). Вторая серия (n=12) опытная, животным в послеоперационном периоде проводили инфузионную терапию (внутривенные введения 5 % раствора глюкозы и 0,89 % раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного) и дополнительно включали внутривенные инфузии этоксида (10 мг/кг). Третья серия (n=12) опытная, животным в послеоперационном периоде проводили инфузионную терапию (внутривенные введения 5 % раствора глюкозы и 0,89 % раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного) и дополнительно включали внутривенные инфузии ремаксоло (15 мл/кг). Нормальные значения

показателей изучаемых процессов были получены у 10 здоровых животных.

Опыты проводились в соответствии с нравственными требованиями к работе с экспериментальными животными («Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1987 г.), Федеральный закон «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г., приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики»), одобрены локальным этическим комитетом. Все действия, приносящие животным боль, выполнялись под внутривенным наркозом (тиопентал-натрия из расчета 0,04 г/кг массы тела животного).

Тканевое дыхание исследовали с помощью окислительно-восстановительного потенциала (ОВП). Регистрацию ОВП осуществляли на универсальном иономере ЭВ-74 по методике, изложенной в аннотации к прибору. Свободно-радикальные процессы изучали по содержанию продуктов перекисного окисления липидов и состоянию антиоксидантной системы защиты: уровень малонового диальдегида (МДА) – спектрофотометрическим методом по реакции с тиобарбитуровой кислотой. антиокислительную активность липидов оценивали в модельных условиях (Егоров Д. Ю., Козлов А. В., 1988); активность супероксиддисмутазы (СОД) – в реакции с нитросиним тетразолием (Гуревич В. С. и др., 1990).

Работа выполнена в научно-исследовательской лаборатории кафедры хирургии Медицинского института ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарева». Протокол этического комитета № 21 от 16.03.2015 г.

Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента (t). Вычисляли среднюю арифметическую (M), ошибку средней арифметической (m). В каждой серии определяли достоверность различия по отношению к нормальному или контрольному значению (P), с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

Модель острого панкреатита была выбрана адекватной для решения поставленной цели. У животных развивался панкреатит отечной формы. Ткань поджелудочной железы была гиперемирована, увеличена в размере за счет отека, пальпаторно в местах введения желчи определялся инфильтрат. Максимальные макроскопические изменения в органе установлены на третьи сутки эксперимента.

В ходе исследования установлено, что с первых суток исследования в ткани поджелудочной железы развивается энергодефицитное состояние (тканевая гипоксия), о чем свидетельствует изменение ОВП. Так, показатель был ниже нормы на первые сутки на 49 % (p<0,05), на третьи сутки – 23,6 % (p<0,05) и на пятые сутки – на 12,5 % (p<0,05).

Анализируя активность процессов перекисного окисления установлено, что происходит их интенсификация. На протяжении всего эксперимента содержание МДА было достоверно выше нормы на 90, 254 и 132 % ($p < 0,05$), соответственно, на первые, третьи и пятые сутки динамического наблюдения.

В ходе исследования установлено снижение активности антиоксидантного ферментного потенциала. Так, активность СОД была ниже нормы на первые, третьи и пятые сутки эксперимента, соответственно, на 32,8, 45,6 и 16,2 % ($p < 0,05$).

На фоне антиоксидантной терапии ОВП в ткани поджелудочной железы был подвержен следующей коррекции. Исследуемый показатель был ниже нормы на первые сутки на – 25 % ($p < 0,05$), на третьи сутки – на 15 % ($p < 0,05$) и на пятые сутки – на 9 % ($p < 0,05$). В группе с применением антигипоксанта были получены следующие результаты. Установлено, что на первые и третьи сутки ОВП был достоверно ниже нормы на 12 и 8,4 % ($p < 0,05$), а к пятым суткам исследуемый показатель от нормы не отличался.

В группе, где животные получали антиоксидантную терапию установлено снижение активности процессов перекисного окисления липидов. Содержание МДА в динамике эксперимента превышало норму в контрольные сроки наблюдения на 58–211% ($p < 0,05$). В группе с применением антигипоксанта терапия уровня МДА в ткани поджелудочной железы в динамике эксперимента превышала норму на 75–254 % ($p < 0,05$).

Экспериментально установлено, что активность СОД в группе с антиоксидантной терапией была ниже нормы на первые и третьи сутки эксперимента на 22,7 и 32,48% ($p < 0,05$), а на пятые сутки активность фермента приходила в норму. На фоне антигипоксанта терапия активность СОД в динамике всего эксперимента была достоверно ниже нормы на 8,5–36,1 % ($p < 0,05$).

Исследование показывает, что максимум энергодефицита в ткани поджелудочной железы приходится на первые сутки эксперимента, где ОВП ниже нормы на 49%, с последующей динамикой к восстановлению на пятые сутки. Анализируя динамику изменений процессов перекисного окисления липидов установлено, что на первые и третьи сутки приходится максималь-

ная активизация исследуемого процесса, и только к концу эксперимента формируется тенденция по снижению активности перекиса липидов. Динамика изменения антиоксидантного ферментного потенциала сходна с динамикой поведения перекисного окисления липидов, с максимальным угнетением ферментативной активности на третьи сутки, показатель был достоверно ниже нормы на 45,6 %.

В ходе исследования установлено, что несмотря на нормализацию тканевого дыхания в поджелудочной железе (под действием антигипоксанта), процессы перекисного окисления липидов были более выражены в динамике эксперимента. Уровень МДА в ткани поджелудочной железы превышал норму на 75–254% ($p < 0,05$), тогда как на фоне антиоксидантной терапии тканевое дыхание было менее подвержено нормализации, но интенсивность процессов перекисного окисления выражена слабее. Содержание МДА в динамике эксперимента превышало норму в контрольные сроки наблюдения на 58–211 % ($p < 0,05$). Применение антиоксидантной терапии позволило в большей степени повлиять на антиокислительный ферментный потенциал. Активность фермента была ниже нормы на первые и третьи сутки эксперимента на 22,7 и 32,48 % ($p < 0,05$), а на пятые сутки активность фермента приходила в норму. В свою очередь применение антигипоксанта не позволило простимулировать антиоксидантный потенциал, несмотря на восстановление процессов тканевого дыхания и активность энзима была достоверно ниже нормы на 8,5–36,1 % ($p < 0,05$) в динамике эксперимента.

Заключение

Полученные в ходе выполнения исследования, научные данные свидетельствуют об определенной «изолированности» формирования дефицита энергии и развития процессов перекисного окисления липидов. Восстановление тканевого дыхания в поджелудочной железе не снижает интенсивности процессов перекисного окисления липидов.

Интенсивность перекисного окисления липидов в ткани поджелудочной железы лимитируется другими, дополнительными механизмами, исключаящими нарушение энергетического статуса ткани.

Список литературы

1. Недашковский Э. В. Острый панкреатит: руководство для врачей. – М. : GEOTAR-Медиа, 2009. – 272 с.
2. Хрупкин В. И., Афанасьев А. Н., Шалыгин А. Б. и др. Дифференцированная лечебно-диагностическая тактика при остром деструктивном панкреатите // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2014. – Т. VII. – № 2. – С. 125–131.
3. Гусейнов А. З., Карапыш Д. В. Острый панкреатит как медико-социальная проблема в структуре ургентной абдоминальной хирургической патологии // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. XVII, № 3. – С. 198–200.

References

1. Nedashkovsky E.V. Acute pancreatitis: a guide for physicians. - M.: GEOTAR Media, 2009. - 272. : II. - (Library of the specialist physician.)
2. Hrupkin V.I., Afanasiev A.N., Shalygin A.B. et al. Differentiated treatment and diagnostic tactics at acute destructive pancreatitis // Bulletin of Experimental and Clinical Surgery. - 2014. - T. VII. - № 2. - P.125-131.
3. Huseynov A.Z, Karapysh D.V. Acute pancreatitis as a medical and social problem in the structure of urgent abdominal surgical pathology // Herald of new medical technologies. - 2010. - T.XVII, № 3. - S. 198-200.

4. Фирсова В. Г., Паршиков В. В. Деструктивный панкреатит: механизмы гибели клетки и их возможное клиническое значение // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2013. – Т. VI, № 1. – С. 100-106.
5. Власов А. П., Трофимов В. А., Крылов В. Г. Системный липидный дистресс-синдром в хирургии / А. П. Власов, В. А. Трофимов, В. Г. Крылов. – М.: Наука, 2009. – 224 с.
6. Катунина Н. П., Гнеушев И. М., Парфенов Э. А. Экспериментальное изучение антигипоксической активности новых физиологически совместимых антиоксидантов под шифром pqna модели острой гипоксии с гиперкапнией. Вестник брянского государственного университета 2012; 4 (2): 142-145.
7. Jezek P. Hlavatá L. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism // Int J Biochem Cell Biol. – 2005 Dec;37(12):2478-503.

Поступила 21.09.2015

Информация об авторе

1. Суслов Андрей Владимирович – ассистент кафедры хирургии Пензенского государственного университета. E-mail: dr.suslov@rambler.ru

Information about the Author

1. Suslov A. – assistant of the Department surgery Penza state University. E-mail: dr.suslov@rambler.ru

Recieved 21.09.2015