

*Ранцев М.А.<sup>1</sup>, Сарapultsev П.А.<sup>2</sup>, Кузнецов Н.Н.<sup>1</sup>, Чупахин О.Н.<sup>3</sup>, Сарapultsev А.П.<sup>2</sup>, Ходаков В.В.<sup>1</sup>, Сидорова Л.П.<sup>3</sup>*

## Способ снижения эндотоксикоза при панкреонекрозе в эксперименте

1 - ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург; 2 - Учреждение РАН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург; 3 - Учреждение РАН Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, г. Екатеринбург

*Rantsev M.A., Sarapultsev P.A., Kuznetsov N.N., Chupakhin O.N., Sarapultsev A.P., Chodakov V.V., Plaksin K.V., Sidorova L.P.*

## Way of decreasing the level of endogenous intoxication syndrome in experimental pancreatonecrosis

### Резюме

Цель работы заключалась в оценке возможности воздействия соединением «L-17» из группы замещённых 5R1, 6H2-1,3,4-тиадиазин-2-аминов на выраженность синдрома эндогенной интоксикации при экспериментальном панкреонекрозе, воспроизведенном на крысах. Оценку уровня выраженности синдрома эндогенной интоксикации проводили на основе определения связывающей способности альбумина и концентрации веществ низкой и средней молекулярной массы в динамике эксперимента. Полученные в эксперименте результаты позволяют судить о высокой эффективности воздействия соединением «L-17» на снижение уровня эндогенной интоксикации.

**Ключевые слова:** эксперимент, панкреонекроз, эндогенная интоксикация

### Summary

The goal of the study lies in researching the possibility of influence of compound "L-17", from the group of substituted 5R1, 6H2-1,3,4-thiadiazine-2-amines, on the process of acute inflammation reaction in experimental pancreatic necrosis on the intensity of endogenous intoxication syndrome. An experimental model of pancreatic necrosis has been reproduced on rats. The results let us assert that the compound "L-17" has high efficiency when curing an experimental pancreatic necrosis. It has been proved by reduction of endointoxication.

**Key words:** experimental, endointoxication, pancreatonecrosis

### Введение

Одной из причин летальности при панкреонекрозе, помимо прогрессирующей полиорганной недостаточности и гнойно-септических осложнений, является эндотоксический шок [1,2]. Согласно сложившемуся представлению, под эндотоксикозом понимается отравление организма, возникающее вследствие избыточного накопления промежуточных и конечных продуктов ферментного протеолиза белков, в том числе и белков крови, в первую очередь, имеющих низкую и среднюю молекулярную массу, и обусловленное активацией катаболических процессов при снижении возможностей эндогенной детоксикации. [3,4].

Значимость веществ с низкой и средней молекулярной масс (ВНСММ) в усугублении течения патологического процесса заключается в том, что они обладают нейротоксической активностью, угнетают процессы биосинтеза белка, подавляют активность ряда ферментов, нарушают процессы окисления и фосфорилирования, нару-

шают механизмы регуляции синтеза адениловых нуклеотидов, изменяют транспорт ионов через мембраны, эритропоз, фагоцитоз, микроциркуляцию, лимфодинамику и вызывают состояние вторичной иммунодепрессии [1, 3, 5].

Учитывая, что ВНСММ способны угнетать связывание альбумином низкомолекулярных эндотоксинов и транспорт их к системам катаболизма (Киселева и др., 2002), то показателями, характеризующими напряженность механизмов поддержания гомеостаза на стадии элиминации токсинов, считаются показатели количества, динамики и свойств альбумина [3, 6, 7].

Важным показателем выраженности эндотоксемии можно считать и по-вышение уровня D-димера, поскольку тяжёлое тканевое повреждение и сильное токсическое воздействие способны вызывать возникновение синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдрома), усугубляющего эндотоксикоз, а преобладающее значение в лабораторной диагностике

ДВС-синдрома имеет выявление высокого уровня маркеров тромбинемии: растворимого фибрина и D-димера [5, 8].

**Цель работы** - изучение возможности уменьшения эндотоксикоза при экспериментальном панкреонекрозе с помощью соединения «L-17» из группы замещённых 5R1, 6H2-1,3,4-тиадиазин-2-аминов как корректора течения острой воспалительной реакции.

## Материалы и методы

В качестве средства воздействия на проявления и выраженность эндотоксикоза использовалось соединение «L-17» из группы замещённых 5R1, 6H2-1,3,4-тиадиазин-2-аминов (Патент РСТ РФ № 2259371 от 27.08.2005).

Эксперимент проводился на здоровых половозрелых нелинейных белых крысах женского пола. В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария НИИ биологии УрО АН России и не имевших признаков каких-либо заболеваний. Все животные содержались в одинаковых условиях, на обычном пищевом режиме. Все исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986) и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.).

Для проведения исследования были сформированы две группы по 15 животных с экспериментально вызванным панкреонекрозом. Моделирование панкреонекроза у крыс производилось по авторской модели формирования геморрагического панкреонекроза (Патент РСТ РФ № 2388063 от 27.04.2010). Обезболивание животных с выключением сознания достигалось путем ингаляции воздушно-эфирной смеси масочным способом. Интраоперационной летальности не было в обеих группах.

Основная группа состояла из 15 животных со средней массой 223 грам-ма. После формирования экспериментального панкреонекроза через час после окончания операции внутрибрюшинно животным вводилось соединение L-17 в дозе 40 мг/кг. В последующем соединении L-17 вводилось в дозе 40 мг/кг с частотой 1 раз в сутки. В контрольную группу вошли 15 животных со средней массой 220 грамм, которым также была воспроизведена разработанная модель панкреонекроза, но никакого медикаментозного воздействия не оказывалось. Разброс в группах по исходной массе не превышал 10%. Для большей объективизации данных нами были проведены исследования у животных с изолированной лапаротомией без формирования экспериментального панкреонекроза, чтобы исключить факт влияния операционной травмы в виде лапаротомии на результаты эксперимента.

Показатели эндотоксикограммы для оценки уровня выраженности синдрома эндогенной интоксикации объединяли связывающую способность альбумина и концентрацию веществ низкой и средней молекулярной массы. Связывающую способность альбумина сыворотки крови определяли флюоресцентным методом на спек-

трофлюориметре «Hitachi MPF-4» (Япония) реактивами «Альбумин-Зонд» (Россия). Уровень Д-димеров определяли методом иммунного анализа на автоматическом анализаторе «Sysmex CA7000 System» (Япония) реагентами Dade Beuyring (Simens, Германия). Концентрацию ВНСММ определяли в плазме и эритроцитах по методу Малаховой А.Я. (1995) на длинах волн 254 и 280 нм [5]. В статистических исследованиях применен критерий Стьюдента (t), для математической обработки данных при сравнении исследуемых групп использована компьютерная программа SPSS.

## Результаты и обсуждение

Животные выводились из эксперимента на первые, пятые и седьмые сутки в соответствии с фазами течения панкреонекроза. Под наркозом выполнялся релапаротомия, производилась оценка макроскопических изменений в брюшной и грудной полости, производился забор крови из аорты кубитальным катетером для последующего исследования показателей токсикограммы. Во всех группах летальность в первые сутки отсутствовала.

На 2-е и 3-и сутки в группе животных с панкреонекрозом, не получавших лечения, зафиксировано два летальных исхода. По данным вскрытия причиной летальных исходов явилось возникновение венозного тромбоза в двенадцатиперстной и тонкой кишке с некрозом их стенки и развитием перитонеальных явлений. В группе животных с панкреонекрозом, получавших лечение соединением L-17, летальности не было.

На 5-е сутки в группе с панкреонекрозом, получавших лечение соединением L-17, отмечено значительное стихание некротических и воспалительных изменений в поджелудочной железе, в подпеченочном пространстве имелся хорошо выраженный спаечный процесс, повышенной кровоточивости тканей не было. В группе с панкреонекрозом, не получавших лечения, имелись очаги инфильтрации вокруг панкреонекротических локусов, выраженный спаечный процесс в подпеченочном пространстве, единичные очаги стеатонекрозов. Нагноения операционной раны не было.

На 7-е сутки произведено выведение из опыта оставшихся животных. В обеих группах в подпеченочном пространстве выражен спаечный процесс, поджелудочная железа с остаточными признаками воспалительных явлений вокруг зон панкреонекроза, нарушения кровоснабжения органов брюшной полости нет. У одной крысы в контрольной группе выявлен абсцесс в зоне дна желудка. Нагноения операционной раны не наблюдалось.

Показатели эндотоксикоза через сутки от начала эксперимента отражены в таблице № 1.

Исходя из результатов проведенного биохимического анализа, минимальный уровень СЭИ (синдром эндогенной интоксикации) на первые сутки эксперимента был выявлен у животных панкреонекрозом при введении соединения L-17, по сравнению с животными контрольной группы.

Согласно полученным результатам, на первые сутки экспериментального панкреонекроза отмечалось сни-

Таблица 1. Основные показатели эндотоксикоза в ходе эксперимента

Показатели эндотоксикоза на первые сутки эксперимента				
Группа	ССА, %, ±m	ВНСММ плазмы, у.е., ±m	ВНСММ эритроцитов, у.е., ±m	Д-димеры, нг/мл, ±m
Лапаротомия без панкреонекроза	98*±4,28	3,7644*±0,38	8,8293*±0,51	254,67*±31,5
Панкреонекроз контрольная	88*±3,1	3,5894*±0,18	8,0150*±0,14	538,1*±141,95
Панкреонекроз с L-17 основная	94*±4,0	3,3149*±0,21	8,0896*±0,33	221,83*±104,2
Показатели эндотоксикоза на пятые сутки эксперимента				
Лапаротомия без панкреонекроза	94*±0,6	3,6893±0,14	8,0339*±0,74	240,5*±40,3
Панкреонекроз контрольная	80*±4,24	3,647*±0,21	10,204*±0,05	206,96*±85,78
Панкреонекроз с L-17 основная	98*±2,6	4,427*±0,4	8,953*±0,38	130,13*±55,8
Показатели эндотоксикоза на седьмые сутки эксперимента				
Лапаротомия без панкреонекроза	90*±4,5	4,7076*±0,32	9,142*±0,4	221*±14,14
Панкреонекроз контрольная	86*±4,4	4,9611*±1,17	9,2094*±0,53	288,5*±69,0
Панкреонекроз с L-17 основная	98*±2,4	3,9216*±0,2	8,6641*±0,29	42,5*±14,3

Примечание. \*—различие между признаками статистически достоверно ( $p < 0,05$ )

жение ССА (связывающая способность альбумина, %) в контрольной и основной группе с панкреонекрозом по сравнению с группой после лапаротомии. При этом в основной группе регистрировался более высокий уровень ССА (94%), чем в контрольной группе (88%).

Так, концентрация ВНСММпл (вещств низкой и средней молекулярной массы плазмы; у.е. оптической плотности) была минимальной (3,3149 у.е.) в основной группе, по сравнению с группами животных с лапаротомией без панкреонекроза (3,7644 у.е.) и контрольной группой с панкреонекрозом (3,5894 у.е.) Наиболее высокая концентрация ВНСММэрит (вещств низкой и средней молекулярной массы эритроцитов) наблюдалась в группе животных с лапаротомией (8,8293 у.е.), а в остальных группах уровень ВНСММэрит достоверно не отличался, но был ниже значения в группе с лапаротомией.

При анализе анаболического и катаболического пула ВНСММпл и ВНСММэрит отмечался пониженный уровень катаболического пула в группе животных с введением соединения L-17 по сравнению с контрольной группой (0,04 / 0,053 для плазмы 0,335 / 0,392 для эритроцитов).

Концентрация Д-димеров (показатель, отражающий дисбаланс в системе тромбообразования и фибринолиза, в нг/мл) имела наименьшее значение в группе животных с панкреонекрозом при введении соединения L-17 (221,83 нг/мл), а максимальный уровень наблюдался в контрольной группе с панкреонекрозом (538,1 нг/мл).

С 1-е по 5-е сутки течения острой фазы воспалительного процесса при панкреонекрозе показатели СЭИ претерпели следующие изменения (табл. 1).

Согласно полученным результатам, на пятые сутки экспериментального панкреонекроза наиболее высокий уровень ССА (98%) отмечался в группе с панкреонекро-

зом и введением соединения L-17. В контрольной группе с панкреонекрозом продолжалось дальнейшее снижение уровня ССА (80%), при этом показатели групп группы с панкреонекрозом и введением соединения L-17 и группы животных с лапаротомией оставались в пределах нормы.

Концентрация ВНСММпл была минимальной (3,647 у.е.) в контрольной группе с панкреонекрозом. Отмечалось увеличение концентрации ВНСММпл (4,427 у.е.) в группе с панкреонекрозом и введением соединения L-17, однако при анализе метаболических пулов выявлено преобладание анаболического пула. Минимальное значение концентрации ВНСММэрит в определялось в группах с лапаротомией и в группе с панкреонекрозом и введением соединения L-17. Максимальная концентрация ВНСММэрит отмечалась в контрольной группе с панкреонекрозом. При этом в ней выявлялось преобладание катаболического пула.

В группе с панкреонекрозом и введением соединения L-17 по-прежнему сохранялась самая низкая концентрация Д-димеров (130,13 нг/мл) по сравнению с остальными группами. При этом тенденция к снижению уровня Д-димеров по сравнению с первыми сутками эксперимента выявлялась во всех группах.

На седьмые сутки течения экспериментального панкреонекроза получены данные, которые отражены в таблице № 1.

Связывающая способность альбумина на седьмые сутки эксперимента в группах в группе с панкреонекрозом и введением соединения L-17 (98%) и изолированной лапаротомии (90%) оставались в пределах нормы. ССА в контрольной группе в группе с панкреонекрозом оставался на низких значениях (86%).

В плазме крови на 7 сутки эксперимента отмечалось снижение ВНСММ (3,9216 у.е.) в группе с панкре-

онекрозом и введением соединения L-17, на фоне повышения их уровня в группах с лапаротомией (4,7076 у.е.) и контрольной группе с панкреонекрозом (4,9611 у.е.) по сравнению с 5 сутками эксперимента.

На 7 сутки эксперимента отмечалось снижение показателей ВНСММэ-рит, как в группе с панкреонекрозом и введением соединения L-17 (8,6641 у.е.), так и в контрольной группе с панкреонекрозом (9,2094 у.е.). При анализе соотношения пулов метаболизма выявлено, что катаболический пул ВНСММэр и ВНСММпл имел наименьшее значение в группе с панкреонекрозом и введением соединения L-17.

Концентрация Д-димеров за этот период в группе с лапаротомией и в группе с панкреонекрозом и введением соединения L-17 продолжала дальнейшее снижение (на 8,5% и на 306%). В контрольной группе с панкреонекрозом, наоборот, выявлено повышение концентрации Д-димеров на 139,4%.

Проведённые экспериментальные исследования выявили более низкие уровни ССА в группах с лапаротомией и в контрольной группе с панкреонекрозом как на первые сутки эксперимента, так и к седьмым суткам, по сравнению с животными из групп с введением соединения L-17. Причём в группах животных с введением соединения L-17 ССА оставалась в пределах нормы в течении всего хода эксперимента.

Поскольку сывороточный альбумин играет центральную роль в элиминации низкомолекулярных токсинов из крови, так как обладает уникальной способностью связывания и направления транспорта токсинов в ткани, где происходит их необратимая инактивация [3], то повышенные значения ССА в плазме крови животных с введением соединения L-17, свидетельствуют о меньшей выраженности СЭИ и преобладании анаболических процессов в организме животных. Определённым подтверждением этого факта являются результаты сравнения катаболического и анаболического пулов ВНСММ плазмы и эритроцитов. При анализе анаболического и катаболического пула ВНСММпл и ВНСММэрит отмечался пониженный уровень катаболического пула в группе животных с введением соединения L-17 по сравнению с контрольной группой на всем протяжении эксперимента.

Дополнительным подтверждением эффективности воздействия соединения L-17 на проявления эндотоксико́за является то, что в группе с введением соединения L-17 сохранялась самая низкая концентрация Д-димеров по сравнению с остальными группами на всем протяжении эксперимента, а следовательно, уменьшалось воздействие токсических продуктов ДВС-синдрома.

## Выводы

Таким образом, применение соединения «L-17» из группы замещённых SR1, 6H2 -1,3,4-тиадиазин-2-аминов при экспериментальном панкреонекрозе вызывает снижение уровня эндогенной интоксикации. ■

*Ранцев М.А. – к.м.н., доцент кафедры общей хирургии ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития», г. Екатеринбург; Сарапульцев П.А. – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник Учреждения РАН «Институт иммунологии и физиологии УрО РАН», г. Екатеринбург; Кузнецов Н.Н. – к.м.н., доцент кафедры неонатологии и неврологии детского возраста ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития», г. Екатеринбург; Чухахин О.Н. – д.х.н., академик РАН научный руководитель Учреждения РАН «Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН», г. Екатеринбург; Ходаков В.В. – д.м.н., профессор; заведующий кафедрой общей хирургии ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития», г. Екатеринбург; Сарапульцев А.П. – к.м.н., научный сотрудник Учреждения РАН «Институт иммунологии и физиологии УрО РАН», г. Екатеринбург; Сидорова Л.П. – к.х.н., старший научный сотрудник кафедры органической химии ФГАОУ ВПО «Уральский Федеральный университет имени Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Сарапульцев Алексей Петрович, «Институт иммунологии и физиологии УрО РАН», 620219, Екатеринбург, ул. Первомайская, 106. Тел. +79120321691. E-mail: sarapultsev@sky.ru*

## Литература:

1. Костюченко А.Л. Эфферентная терапия. СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000.
2. Островский В.К. Влияние ультрафиолетового облучения аутокрови на показатели иммунитета у больных с гнойными заболеваниями мягких тканей. Вестник хирургии 1998; 2:55-56.
3. Грызунова Ю.А., Добрецов Г.Е., ред. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине. М: Медицина, 1998.
4. Оболенский С.В., Малахова М.Я., Ершов А.Л. Диагностика стадий эндогенной интоксикации и дифференцированное применение методов эфферентной терапии. Вестник хирургии 1991; 3:95-100.
5. Баркаган З.С. Новые методы лабораторной диагностики диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома). М.: МЗ СССР, 1989.
6. Малахова М.Я. Метод регистрации эндогенной интоксикации. СПб, 1995.
7. Родоман Г.В., Коротаев А.Л., Калинин Н.Л. Ранняя диагностика инфекционно-воспалительных осложнений и метаболического статуса у хирургических больных. Мед картотека 2001; 12: 21-22.
8. Момот А.П. Основы физиологии и патологии системы гемостаза (структурные компоненты, методы диагностики. Барнаул: Параграф, 2000.