

# ВЛИЯНИЕ ДИАВИТОЛА НА ТЕЧЕНИЕ ОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАНКРЕАТИТА

Белорусский государственный медицинский университет

*Изучено течение острого экспериментального панкреатита у крыс на фоне лечения диавитолом. Препарат изменяет течение патологических процессов в цитоплазме клеток поджелудочной железы, помогает ациноцитам адаптироваться к патологическому процессу, что обуславливает положительную динамику морфометрических показателей.*

**Ключевые слова:** острый экспериментальный панкреатит, ациноциты, морфометрия, диавитол.

**A.M. Fedoruk**

## DIAVITOL INFLUENCE ON A COURSE OF AN ACUTE EXPERIMENTAL PANCREATITIS.

*The course of acute experimental pancreatitis in rats on a background of treatment by Diavitol is studied. The drug changes the course of pathological processes in cytoplasm of cells of pancreas, helps acinar cells to adapt to pathological process that causes positive changes of morphometric parameters.*

**Key words:** acute experimental pancreatitis, acinar cells, morphometry, diavitol.

Известно, что острый панкреатит сопровождается тяжелой гипоксией тканей. Диавитол является антигипоксантом, а также регулирует энергетические процессы в клетках, стимулируют трофические и репаративные процессы. [1]. Диавитол представляет собой депротенинизированный гидролизат сыворотки крови эмбрионов коров. Его мультимодальный эффект связан с содержанием низкомолекулярных пептидов, аминокислот, промежуточных продуктов углеводного и липидного обмена, гликолипидов, нуклеозидов, микроэлементов и других компонентов, оказывающих полифункциональное воздействие. Это явилась основой для изучения возможности применения диавитола в комплексной терапии при остром панкреатите.

**Цель исследования:** изучить влияние диавитола на основные параметры и динамику морфологических изменений при остром экспериментальном панкреатите (ОЭП).

### Материал и методы

Экспериментальные исследования были выполнены на 64 (18-интактных и 30 с ОЭП, 16-лечение диавитолом) белых крысах самцах линии Вистар с массой тела 200 – 220 г.

Для воспроизведения ОЭП использовали модель предложенную Э.С. Гулянец и соавт. (1986г.) [ 3 ]. Диавитол вводили экспериментальным животным внутрибрюшинно в дозе 50мг через 24 часа после начала моделирования ОЭП. Обезболивание животных проводили внутрибрюшинной анестезией 1% раствором тиопентала натрия в дозе 70 мг на 1 кг массы тела. Операции выполнялись с соблюдением правил асептики и антисептики. Из эксперимента крыс выводили согласно протоколу исследования в разные сроки путем декапитации. Все исследования выполняли согласно «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» [ 2,5 ].

Ткань поджелудочной железы фиксировалась в 10% нейтральном формалине и заключалась в парафин. Гистологические препараты толщиной 4 мкм окрашивались гематоксилином и эозином. Морфометрическое исследование проводили на базе кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии БГМУ (зав кафедрой проф. Слукса Б.А.). Морфометрию на гистологических срезах про-

водили методом точечного счета. На срезах поджелудочной железы определяли доли объемов зимогенной зоны, гомогенной зон, клеточных ядер и рассчитывали ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО).

Для компьютерной кардио- и цитометрии при иммерсионном увеличении (объектив х100) производили съемку препаратов с помощью цифрового фотоаппарата. Статистическая обработка выполнена с использованием программного пакета Statistica 6.0 (Stat Soft, Inc.).

### Результаты и обсуждение

Нами была прослежена динамика морфологических изменений, происходящих в ткани поджелудочной железы без лечения и на фоне введения диавитола в сроки: через 48 и 72 часа от начала ОЭП.

Через 48 часов ОЭП без лечения отмечалось увеличение площади субкапсулярных некрозов с усилением лейкоцитарной инфильтрации. Кроме того, в ацинусах, примыкающих к зоне некроза, наблюдалось уменьшение площади гомогенной зоны за счет расширения зимогенной. В жировой клетчатке – участки жирового некроза.

Через 72 часа ОЭП отмечалось усиление некротических процессов в субкапсулярной области, лейкоцитарная инфильтрация паренхимы и капсулы органа. В жировой клетчатке – картины жирового некроза.

На всех стадиях отмечалась дезинтеграция ацинусов в виде отдельных групп клеток, а также в виде формирования «кольцевидных» структур: разрушение апикальных частей клеток приводило к значительному расширению просвета ацинуса, при этом в ациноцитах сохранялась гомогенная зона с ядрами. Согласно литературным данным, обнаруженные изменения характерны для тяжелого течения ОЭП [8]. Считается, что морфологическим изменениям в виде везикуляция и вакуолизации ацинарных клеток ПЖ предшествуют биохимические изменения и окислительная модификация белков [7,9]. Аналогичные морфологические результаты были получены при использовании других моделей ОЭП [4,6,10].



Таблица 1

**Морфометрическая характеристика ациноцитов при лечении диавитолом (48 часов эксперимента)**

Показатель	Интактные животные	ОЭП 48 часов	Диавитол 48 часов
Зимогенная зона, %	37,8±1,0	42,3±2,0*	40,0±2,0
Гомогенная зона, %	50,6±1,0	38,5±2,0***	44,5±2,0***†
Ядро, %	11,5±0,8	19,1±1,0***	15,4±1,0***†
ЯЦО	1:7,7	1:4,2	1:5,5
Площадь ядра, мкм <sup>2</sup>	14,0±0,3	17,6±0,5***	20,3±0,9***†
Логарифм площади ядра	2,62±0,02	2,85±0,02***	2,97±0,03***†
Фактор формы ядра	0,801±0,006	0,845±0,004***	0,853±0,007***†
Элонгация ядра	1,16±0,01	1,20±0,01**	1,24±0,02***†

Достоверность отличия от интактных животных: \* – P<0,05, \*\* – P<0,01, \*\*\* – P<0,001; Достоверность отличия от ОЭП 48 часов: † – P<0,05, †† – P<0,01.

Таблица 2

**Морфометрическая характеристика ациноцитов при лечении диавитолом (72 часа эксперимента)**

Показатель	Интактные животные	ОЭП 72 часа	Диавитол 72 часа
Зимогенная зона, %	37,8±1,0	34,0±1,0**	37,5±2,0†
Гомогенная зона, %	50,6±1,0	45,9±2,0*	46,7±2,0
Ядро, %	11,5±0,8	20,0±1,0***	15,6±1,0***†
ЯЦО	1:7,7	1:4,0	1:5,4
Площадь ядра, мкм <sup>2</sup>	14,0±0,3	15,9±0,6**	17,4±0,6***
Логарифм площади ядра	2,62±0,02	2,72±0,04*	2,82±0,04***
Фактор формы ядра	0,801±0,006	0,839±0,007***	0,786±0,008***†
Элонгация ядра	1,16±0,01	1,31±0,02***	1,39±0,04***

Достоверность отличия от интактных животных: \* – P<0,05, \*\* – P<0,01, \*\*\* – P<0,001; Достоверность отличия от ОЭП 72 часа: † – P<0,05, †† – P<0,01, ††† – P<0,001.

Таблица 3

**Динамика изменений морфометрических параметров ациноцитов при лечении диавитолом**

Показатель	Диавитол 48 часов	Диавитол 72 часа
Зимогенная зона, %	40,0±2,0	37,5±2,0
Гомогенная зона, %	44,5±2,0	46,7±2,0
Ядро, %	15,4±1,0	15,6±1,0
ЯЦО	1:5,5	1:5,4
Площадь ядра, мкм <sup>2</sup>	20,3±0,9	17,4±0,6**
Логарифм площади ядра	2,97±0,03	2,82±0,04**
Фактор формы ядра	0,853±0,007	0,786±0,008***
Элонгация ядра	1,24±0,02	1,39±0,04**

Достоверность отличия от диавитол 48 часов: \* – P<0,05, \*\* – P<0,01, \*\*\* – P<0,001.

На фоне лечения диавитолом через 48 часов после начала ОЭП наблюдается диффузная инфильтрация соединительной ткани железы полиморфно-нуклеарными лейкоцитами, а иногда и мононуклеарами, в составе которых встречаются как моноциты, так и лимфоциты. Местами заметно разрушение периферии долек железы. В разрушающихся ацинусах и ацинусах, примыкающих к зоне некроза, отмечается сильная вакуолизация цитоплазмы.

В удаленных от зоны некроза ацинусах появляются клетки с расширенной зимогенной зоной и уменьшенной гомогенной зоной, где отсутствует вакуолизация цитоплазмы. Кроме того, встречаются сильно набухшие, округлившиеся клетки, переполненные гранулами.

В гомогенной зоне цитоплазмы отдельных ациноцитов хорошо выражена эргастоплазма (участки эндоплазматической сети). Кольцевидные структуры практически не наблюдаются.

Через 72 часа после начала эксперимента наблюдается отек ткани, субкапсулярно – очаги некроза. На границе с зоной полного разрушения находятся ацинусы на разных стадиях деструкции. Отмечается расширение и полнокровие сосудов микроциркуляторного русла. Наблюдаются очаговые кровоизлияния. В некоторых клетках увеличена зимогенная зона. На границе с зоной некроза нередко встречаются «кольцевидные» структуры. В жировой клетчатке наблюдается жировой некроз.

Морфометрическая характеристика (табл. 1) показала, что

через 48 часов после начала ОЭП на фоне лечения диавитолом доля зимогенной зоны цитоплазмы ациноцитов достоверно не отличалась ни от интактных животных, ни от животных с ОЭП без лечения. При этом лечение диавитолом приводило к достоверному увеличению доли гомогенной зоны ациноцитов, однако она оставалась достоверно меньше, чем у интактных животных. Диавитол на стадии 48 часового эксперимента приводил к достоверным изменениям ядер ациноцитов, которые характеризовались увеличением их площади, логарифмов площади, факторов формы и элонгации.

При этом площадь ядра у животных, получавших диавитол, достоверно уменьшалась по сравнению с животными с ОЭП, но оставалась достоверно больше, чем у интактных животных. Это же демонстрируют значения и ядерно-цитоплазматического отношения.

На стадии 72 часов эксперимента (табл. 2) диавитол приводил зимогенную и гомогенную доли цитоплазмы ациноцитов к значениям, которые достоверно не отличались от таковых у интактных животных. Вместе с тем, площадь ядра оставалась достоверно больше, чем у интактных животных, но достоверно уменьшалась по сравнению с животными с ОЭП без лечения. При этом параметры ядер, а именно площадь, логарифм площади и элонгация ядра, были достоверно больше, чем у интактных животных и достоверно не отличались от животных с ОЭП. Только значения фактора формы ядра достоверно уменьшились.

Изучение динамики морфометрических параметров ациноцитов (табл. 3) в процессе лечения диавитолом показало, что на стадии эксперимента 48 и 72 часа площади, занимаемые зимогенной, гомогенной зонами и ядром, достоверно не отличаются. Вместе с тем, через 72 часа эксперимента происходит достоверное уменьшение площадей ядер, логарифмов площадей ядер, значений фактора формы, но ядра при этом достоверно удлиняются.

При лечении ОЭП диавитолом все морфометрические параметры компонентов ациноцитов оставались стабильными в оба срока исследования, однако обращал на себя внимание тот факт, что они не достигают величин, полученных в случае нелеченного острого панкреатита. В частности, и через 48 часов и 72 часа эксперимента площадь ядра в клетке и, соответственно, ЯЦО, занимали промежуточное положение между нормой и крайней исследованной стадией (72 часа) нелеченного острого панкреатита.

Средняя площадь ядер ациноцитов через 72 часа опыта на фоне диавитола меньше, чем за 24 часа до того, хотя и не достигала значений контрольной группы. Таким образом, при лечении диавитолом площадь цитоплазмы в клетке выше, чем без лечения в те же сроки.

Все это свидетельствует в пользу того, что лечение диавитолом изменяет протекание патологических процессов в цитоплазме клетки, помогает ациноцитам адаптироваться к патологическому процессу, стабилизировать и сглаживать агрессивность его течения. Немаловажную роль в этом играет сохраненная цитоплазма клеток, как источник резервов адаптации клетки к патологическому процессу. Вместе с тем, при лечении диавитолом сохраняются выраженная мелковезикулярная вакуолизация цитоплазмы и очаги некроза в субкапсулярной области.

В группе животных с ОЭП без лечения наблюдалась 100% летальность к 72 часам, а среди животных, которые получали в качестве лечения диавитол-44%.

**Выводы**

1. Введение диавитола животным с ОЭП изменяет протекание патологических процессов в цитоплазме клетки, помогает ациноцитам адаптироваться к патологическому процессу, что обуславливает положительную динамику морфометрических показателей.

2. Диавитол позволяет стабилизировать и сглаживать агрессивность течения ОЭП, однако не позволяет прервать каскад патогенетических реакций.

**Литература**

- Евразийский пат. 000633, А61К35/14, В01D61/14. Способ получения биологически активного препарата из крови крупного рогатого скота и фармацевтическая композиция на его основе с радиопротекторной, антиоксидантной, иммуномоделирующей, ранозаживляющей и противогерпетической активностью / Л. В. Плинина, С. В. Хлюстов, Н. И. Фёдорова и др. - № 199700388; Заявл. 16.10.97; Опубл. 29.12.99 // Евразийское патентное ведомство. - 1999. - С. 1-14.

## Оригинальная статья

2. Лабораторные животные (разведение, содержание, использование в эксперименте) / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк. – Киев, Вища школа, 1983. – 383 с.

3. Пат. 1327152 СССР, МКИ G09B23/28. Способ моделирования панкреатита / Гульянц Э. С., Лукаш Н. А., Ткачёва Т. Н. и др. – Заявл. 17.02 // Открытия. Изобретения. – 1987.- № 28. – С. 211.

4. Aho HJ, Koskensalo SM, Nevalaine TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15:411-416.

5. Buchler M, Beger H. G. Standards in experimental acute pancreatitis // *Europ. surgical research.*-1992.-Vol. 24. – P. 89-91.

6. Gulcubuk A., Sonmez K., Gurel A., et al. Pathologic alterations detected in acute pancreatitis induced by sodium taurocholate in rats and therapeutic effects of curcumin, ciprofloxacin and metronidazole combination. *Pancreatology* 2005;5:345-353.

7. Reinheckel T., Nedeleev B., Prause J. et al. Occurrence of oxidatively modified proteins: an early event in experimental acute pancreatitis. *Free radical Biology & Medicine* 1998;24:3:393 – 400.

8. Schonberg, M. H.; Buchler, M.; Beger, H. G. Oxygen radicals in experimental acute pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 1994;41:313 – 319.

9. Tamura K., Manabe T., Kyogoku T. et al. Effect of postischemic reperfusion on the pancreas. *Hepato-Gastroenterol.* 1993;40:452 – 456.

10. Tani S, Ito H, Okabayashi Y, et al. New model of acute necrotizing pancreatitis induced by excessive doses of arginine in rats. *Dig Dis Sci* 1990; 35:367-374.