

Совершенствование патогенетического лечения острого панкреатита

УО "Белорусский государственный медицинский университет", 1-я кафедра

В статье предлагается новый способ моделирования острого панкреатита. Определена совместимость средств антицитокинового, антиоксидантного, антиферментного действия с раствором гидроксиэтилкрахмала. Представлены результаты лечения тяжелых форм острого экспериментального панкреатита с использованием новых простых и более эффективных медикаментозных комплексов. Отмечено потенцирование антицитокинового эффекта препаратов при введении их в смеси с высокомолекулярными плазмозамещающими растворами.

Ключевые слова: острый панкреатит, моделирование, лечение, гидроксиэтилкрахмал, пентоксифиллин, лидокаин, эмоксипин, октреотид, гордокс, совместимость.

Общие результаты лечения тяжелых форм острого панкреатита напрямую зависят от сроков начала и состава интенсивной медикаментозной терапии. В литературе последних лет имеются высказывания о том, что интенсивное лечение тяжелых форм острого панкреатита должно являться прерогативой анестезиологов-реаниматологов. Между тем, именно хирурги практически всегда несут ответственность за итоговую эффективность интенсивной терапии этого заболевания, и это требует разработки новых средств нехирургического лечения, обоснованного данными собственных исследований. Под воздействием своевременных лечебных мероприятий патологический процесс в поджелудочной железе может быть успешно купирован на этапе интерстициального панкреатита. Это означает, что эффект "обрыва" способен предотвратить исход в панкреонекроз и все связанные с ним неблагоприятные последствия [1, 10]. Поэтому важна не только теоретическая разработка новых более эффективных и доступных лечебных комплексов, но и изучение результатов их применения в эксперименте. Одними из основных патогенетических звеньев острого панкреатита являются нарушения микроциркуляции, ишемизация тканей, развитие синдрома системного воспалительного ответа [4, 7, 9] с прогрессирующим повреждением ткани поджелудочной железы и полиорганной недостаточностью [2, 5, 6]. В клинической практике в последние годы всё чаще стали использоваться высокомолекулярные плазмозамещающие препараты [3, 8], в том числе на основе гидроксиэтилкрахмала (ГЭК). Они способны эффективно купировать микроциркуляторные нарушения, усиливать тканевой кровоток, улучшать вязкостные характеристики крови, что позволяет патогенетически обоснованно использовать его на ранних этапах лечения острого панкреатита. Вместе с тем, сведения о совместимости препаратов на основе ГЭК со средствами антицитокинового, антиферментного и антиоксидантного действия в специальной литературе отсутствуют.

Цель исследования – разработать простой и адекватный способ моделирования тяжелой формы острого панкреатита и экспериментально обосновать целесообразность применения для его лечения нового высокоэффективного лечебного комплекса.

Материал и методы

Эксперимент выполнен на 24 беспородных собаках массой 9-25 кг. Для моделирования тяжелой формы острого панкреатита под общим обезболиванием производили срединную лапаротомию, пунктировали дно желчного пузыря и забирали 10-15 мл желчи, место пункции перитонизировали Z – образным швом. В рану выводили подвижную у собак двенадцатиперстную кишку с поджелудочной железой. Вскрытия просвета двенадцатиперстной кишки для канюлирования протока поджелудочной железы не производили, что является принципиальным моментом, обеспечивающим асептичность

брюшной полости. Затем на 3-4 см ниже места впадения желчного протока выполняли порционное прецизионное лигирование двух-трёх мелких экстрапанкреатических сосудистых образований, лежащих над панкреатическим протоком. После четкой дифференцировки главного протока поджелудочной железы под него подводили две нити-держалки. Затем проток рассекали на $\frac{1}{2}$ диаметра на расстоянии 2-3мм от места впадения в кишку и в дистальном направлении проводили венозный катетер соответствующего диаметра (G20-22) не далее 3-4 мм, чтобы избежать разрыва протока. Дистальную нить-держалку затягивали над катетером, что обеспечивало надёжную его фиксацию и герметизацию системы. В катетер шприцем медленно вводили аутожелчь из расчета 0,5-0,7 мл/кг, обычно не менее 5 мл. Введение желчи прекращали после появления мелких тёмно-зеленых участков в дольках железы. Затем катетер извлекали, проксимальную и дистальную порции протока лигировали нитями-держалками, лапаротомную рану ушивали. Операция технически не сложна, после отработки методики длительность вмешательства составляла 30-40 минут (подана заявка на изобретение).

В стендовом эксперименте изучена совместимость лекарственных средств антицитокинового (пентоксифиллина, лидокаина, октреотида), антиферментного (гордокс) и антигипоксанта (эмоксипин) действия в растворе ГЭК. Лекарственные средства растворялись в 6% ГЭК со средней молекулярной массой 200000 Да со степенью замещения 0,45 – 0,55. Исследованы следующие сочетания препаратов: 1) ГЭК + октреотид; 2) ГЭК + эмоксипин + лидокаин; 3) ГЭК + гордокс; 4) ГЭК + пентоксифиллин. Смеси готовились ex tempore и инкубировались в термостате в течение 30 минут при t 36°C. Возможное образование продуктов химического взаимодействия лекарственных средств исследовалось методом гельпроникающей хроматографии с использованием хроматографа Agilent 1200 (США). Детектирование выхода компонентов смеси осуществлялось фотодиодной матрицей RID A, измерялась оптическая плотность (D , ед. оптической плотности) на выбранной длине волны монохроматора. Смеси после инкубации растворяли в элюенте 0,1М NaNO₃ + 0,02% NaN₃, в хроматографической колонке применяли сорбент Nucleogel 1000-8. Реологические свойства полученных смесей изучали путём определения динамической вязкости, которую измеряли на ротационном вискозиметре Rheotest 2 (Германия). Динамическую вязкость η (Па*с, паскаль-секунда) вычисляли по формуле $\eta = \tau / \dot{\gamma}$, где τ – касательное напряжение (Па), $\dot{\gamma}$ – скорость деформации сдвига $D\dot{\gamma}$ (с-1) при течении исследуемой среды.

Изучена возможность усиления антицитокинового эффекта пентоксифиллина, октреотида, лидокаина путём применения этих средств в смеси с высокомолекулярными плазмозамещающими растворами при тяжелом остром панкреатите. Лечение тяжелой формы острого панкреатита начинали через 24 часа после создания модели. Животные были разделены на четыре группы. В первой контрольной группе ($n=5$) назначалась инфузионная терапия с применением кристаллоидных растворов и антиферментных средств в среднетерапевтической дозировке. В схему лечения во второй контрольной группе ($n=6$) были включены препараты с доказанной антицитокиновой активностью (пентоксифиллин, лидокаин, октреотид) и антигипоксанта эмоксипин. При лечении ОП в первой основной группе ($n=6$) указанные лекарственные средства вводились внутривенно в смеси с препаратом гемодинамического действия “Ладпулин”, а во второй основной группе ($n=5$) с 6% раствором ГЭК массой 200 кДа со степенью замещения 0,45-0,55. Смеси готовились ex tempore и инкубировались в термостате в течение 30 минут при t 25°.

Для оценки выраженности синдрома системного воспалительного ответа определялась концентрация провоспалительных цитокинов α -фактора некроза опухолей

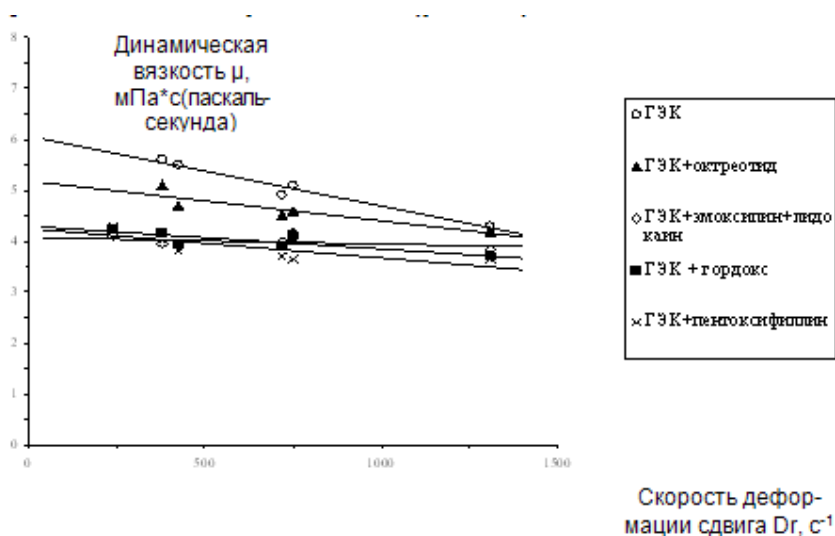
(α ФНО), интерлейкина 1 (пЛ1), интерлейкина 6 (пЛ6) в плазме крови лабораторных животных. Для этого использовались тест-наборы на основе «сэндвич»- метода твердофазного иммуоферментного анализа с моноклональными антителами. Забор крови производился перед началом эксперимента, через 24 часа (перед началом лечения), а также на 3, 7 сутки после операции. В сыворотке крови также определяли содержание амилазы, аланинаминотрансферазы (ALT), щелочной фосфатазы (ALP), в гемолизатах крови – уровень супероксиддисмутазы, концентрацию гемоглобина, значение гематокрита.

Результаты и обсуждение

После создания модели острого панкреатита 2 животных погибли в течение суток. Остальные животные получали лечение острого панкреатита в составе и объёме, предусмотренном экспериментом. В первые сутки наблюдалось резкое ограничение подвижности животных, отсутствие аппетита, многократная рвота с примесью желчи, появлялось вздутие живота и выраженная реакция на его пальпацию. При аутопсии погибших животных отмечалось скопление значительного количества геморрагического выпота в брюшной полости, множественные очаги стеатонекроза. Поджелудочная железа резко отёчная чёрного или серо-чёрного цвета с участками размягчения. При аутопсии снятых с эксперимента выживших животных (на 7-30 сутки) наблюдался выраженный спаечный процесс в верхнем этаже брюшной полости и плотный инфильтрат в проекции поджелудочной железы. Поджелудочная железа была уменьшена в размерах, плотная на ощупь, дольчатость сглажена. Отмечен значительный рост амилазы крови с $850,6 \pm 172,9$ до 10200 ± 2274 Ед/л, $p < 0.001$; рост ALT с $36,89 \pm 13,88$ до $151,9 \pm 58,86$ Ед/л, $p < 0.001$; рост ALP с $22,16 \pm 21,93$ до $194,6 \pm 57,06$ Ед/л, $p < 0.001$; гемоконцентрация с ростом гемоглобина с $143 \pm 31,13$ до $212,4 \pm 18,38$ г/л, $p < 0.001$; достоверное снижение антиоксидантной защиты (маркер - супероксиддисмутазы) с $7,357 \pm 1,071$ до $5,95 \pm 1,144$ Ед/(мг Hb), $p = 0,017$.

Таким образом, развивающиеся клинические, биохимические и морфологические изменения при предлагаемой модели острого панкреатита соответствовали тяжелой форме заболевания.

В результате изучения в стендовом эксперименте совместимости антицитокиновых, антиферментных, антиоксидантных средств в смеси с 6% ГЭК выявлено следующее. При исследовании графиков изменения динамической вязкости (η , Па*с) в зависимости от скорости деформации сдвига ($\dot{\gamma}$, с⁻¹) установлено, что линии тренда исследуемых смесей не имеют существенных различий (рис. 1).



и лекарственных смесей на его основе.

Как следует из графиков на рисунке 1, имеется лишь крайне незначительное уменьшение вязкости смесей по сравнению с чистым 6% раствором ГЭК. Приведенные данные свидетельствуют о том, что введение в ГЭК изучаемых средств антицитокинового, антиферментного, антигипоксантного действия существенно не влияет на исходные реологические свойства раствора.

Нами были изучены кислотно-щелочные свойства и средне – весовая молекулярная масса указанных смесей ГЭК в температурном диапазоне от 20 до 120°С. Результаты исследования до (Д) и после (П) повышения температуры до 120°С (режим стерилизации) представлены в таблице 1.

Таблица 1. Кислотно–щелочные свойства и средне–весовая молекулярная масса ГЭК и смесей на его основе

пслеуемые растворы	рН		Средне-весовая молекулярная масса, кДа	
	Д	П	Д	П
6% раствор ГЭК	5,77	5,94	182,6	179,0
200 мл 6 % ГЭК + 1 мл октреотида	5,82	5,93		178,5
200 мл 6 % ГЭК + 2 мл лидокаина	5,65	5,81		179,3
5 мл эмоксипина				
200 мл 6 % ГЭК + 5 мл гордокса	5,59	5,74		180,2
200 мл 6 % ГЭК + 5 мл пентоксифиллина	5,68	5,78		180,7

Достоверных различий рН в изучаемых растворах до и после температурной обработки не выявлено ($p > 0,05$). Так же не было отмечено значимого уменьшения средне – весовой молекулярной массы смесей. Растворы оставались бесцветными, прозрачными, выпадения осадка не наблюдалось. При хранении в течение 10 суток не было отмечено расслоения растворов или выпадения осадка, значение рН в них также не изменилось. Все растворы оставались бесцветными и прозрачными. Полученные данные дают основание полагать, что совмещение с ГЭК изучаемых средств антицитокинового, антиферментного, антигипоксантного действия не приводит к изменениям кислотно-щелочного состояния и образованию побочных продуктов.

При гель-проникающей хроматографии чистого 6% ГЭК и указанных смесей после термической обработки получены однотипные кривые (рисунок 2).

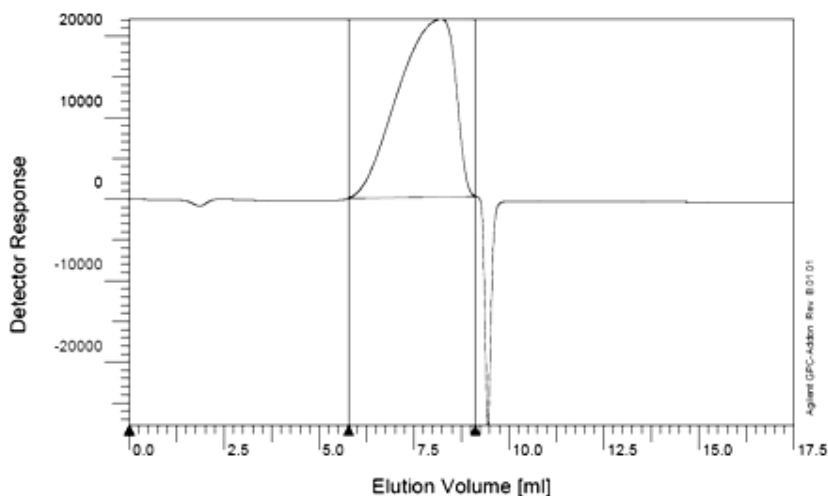


Рисунок 2. Гель-проникающая хроматограмма лекарственных смесей на основе ГЭК после термической обработки.

В результате анализа хроматограмм установлено, что время начала и окончания выхода из колонки ГЭК и форма пика выхода были идентичными. Отсутствие уплощения и расширения пика выхода ГЭК свидетельствует об отсутствии разрушения молекул полимера при смешивании с изучаемыми лекарственными средствами и температурной обработке. Узкий отрицательный пик отражает низкомолекулярные соединения и указывает на отсутствие их химической связи с ГЭК.

Таким образом, совмещение эмоксипина, пентоксифиллина, лидокаина, гордокса, октреотида с гидроксиэтилкрахмалом не приводит к изменению его вязкостных характеристик, уровня pH, молекулярно-массового распределения. Сохраняются бесцветность и прозрачность растворов. Признаков физико – химического взаимодействия препаратов, приводящего к образованию побочных продуктов в смесях, не выявлено.

Результаты лечения тяжелых форм экспериментального острого панкреатита с применением лекарственных смесей нового состава выглядели следующим образом. В первой контрольной группе погибло 3 животных, во второй контрольной – 2. В основных группах все животные выжили.

Достоверное снижение амилазы крови достигнуто уже к третьим суткам в первой основной группе ($p=0.005$), во второй контрольной группе лишь к седьмым суткам ($p=0,05$), в первой контрольной группе достоверных изменений не выявлено ($p>0,05$). Также отмечено достоверное снижение маркера цитолиза аланинаминотрансферазы к третьим суткам в первой основной группе ($p=0,002$). Во второй контрольной группе достоверное снижение произошло к седьмым суткам лечения ($p=0,02$), в первой контрольной группе достоверных изменений не отмечено ($p=0,174$). Отмечено уменьшение гемоконцентрационных расстройств к третьим суткам от начала лечения, однако без достоверных различий между контрольными и первой основной группами ($p=0,423$). Тем не менее, в первой основной группе к седьмым суткам отмечено отсутствие явлений гемоконцентрации ($p=0,004$). Через 1 сутки после моделирования у всех животных было отмечено развитие синдрома системного воспалительного ответа с достоверным ростом концентрации α -ФНО (с $85\pm 23,05$ пг/мл до $262,3\pm 38,84$ пг/мл, $p=0,001$), пЛ1 (с $59,83\pm 11,57$ пг/мл до $106,7\pm 13,28$ пг/мл, $p<0,001$), пЛ6 (с $1,33\pm 0,73$ пг/мл до $4,5\pm 0,49$ пг/мл, $p<0,001$). В первой контрольной группе в ходе лечения не было отмечено тенденции к снижению уровня провоспалительных цитокинов по сравнению с исходным, $p>0,05$. Во второй контрольной группе лишь к 7 суткам достигнута нормализация концентрации пЛ6 (достоверных различий с нормальными показателями нет, $p=0,607$). Уровни α -ФНО и пЛ1

имели слабую тенденцию к снижению, однако достоверно отличались от нормы ($p < 0,05$). В первой основной группе уже на 3 сутки достигнута нормализация концентрации пЛ1 и пЛ6 ($p < 0,05$), уровень α ФНО снижался медленнее, достигнув нормы к 7 суткам. Проведенные предварительные исследования во второй основной группе также указывают на эффективное купирование гиперамилаземии, гемоконцентрации, признаков синдрома системного воспалительного ответа при применении смесей на основе ГЭК.

Эти данные свидетельствуют о том, что применение антицитокиновых, антиоксидантных, антиферментных средств в лекарственных смесях с высокомолекулярными плазмозамещающими растворами способно потенцировать антицитокиновый эффект при остром экспериментальном панкреатите.

Выводы

1. Предложенный способ моделирования вызывает развитие первично асептической тяжелой формы острого панкреатита;
2. Признаков физико – химического взаимодействия препаратов (пентоксифиллина, эмоксипина, гордокса, лидокаина, октреотида и ГЭК), приводящего к образованию побочных продуктов в смесях, не выявлено;
3. Применение антицитокиновых, антиоксидантных, антиферментных средств в лекарственных смесях с высокомолекулярными плазмозамещающими растворами способно потенцировать антицитокиновый и гистопротективный эффект, а также эффективно купировать гемоконцентрационные расстройства при остром экспериментальном панкреатите.

Литература

1. Бебуришвили, А. Г. Клиническая эффективность сандостатина и октреотида в хирургической панкреатологии / А. Г. Бебуришвили, С. В. Михин, Е. Г. Спиридонов // Хирургия. 2002. № 10. С. 50–52.
2. Сотниченко, Б. А. Деструктивный панкреатит: профилактика и лечение гнойно-септических осложнений / Б. А. Сотниченко, С. В. Салиенко, Е. В. Маркелова // Анналы хирургической гепатологии. 2006. Т. 11. № 1. С. 67–71.
3. Староконь, П. М. Применение рекомбинантной супероксиддисмутазы в комплексном лечении острого панкреатита / П. М. Староконь, Н. В. Дмитриев, В. В. Масляков // Анналы хирургии. 2006. № 6. С. 28–30.
4. Cuthbertson, C.M. Disturbances of the microcirculation in acute pancreatitis / C.M. Cuthbertson, C. Christophi // British Journal of Surgery. 2006. № 93(5). P. 518–530.
5. Dugernier, T. Early multi-system organ failure associated with acute pancreatitis: a plea for a conservative therapeutic strategy / T. Dugernier, M. Reynaert, P.F. Laterre // Acta Gastroenterology Belg. 2003. № 66(2). P. 177–183.
6. Lefter, L.P. Safety and efficacy of conservative management in acute severe pancreatitis / L. P. Lefter, E. Dajbog, V. Scripcariu // Chirurgia (Bucur). 2006. № 101(2). P. 135–139.
7. Papachristou, G.I. Obesity increases the severity of acute pancreatitis: performance of APACHE-II score and correlation with the inflammatory response / G.I. Papachristou, D. J. Papachristou, H. Avula // Pancreatology. 2006. № 6(4). P. 279–285.
8. Shi, C. Potential role of reactive oxygen species in pancreatitis-associated multiple organ dysfunction / C. Shi, R. Andersson, X. Zhao // Pancreatology. 2005. № 5(4–5). P. 492–500.
9. Stimac, D. Prognostic values of IL-6, IL-8, and IL-10 in acute pancreatitis / D. Stimac, E. Fisić, S. Milić // Journal of Clinical Gastroenterology. 2006. № 40(3). P. 209–212.

10. Takeda, K. Japan Guidelines for the management of acute pancreatitis: medical management of acute pancreatitis / K. Takeda, T. Takada, Y. Kawarada // Journal of Hepatobiliary Pancreatic Surgery. 2006. № 13(1). P. 42–47