

## **Влияние эмоксипина на динамику морфологических характеристик острого экспериментального панкреатита**

*Белорусский Государственный Медицинский Университет*

Изучено влияние эмоксипина на течение и морфологические характеристики острого экспериментального панкреатита. Купирование эмоксипином свободнорадикального стресса позволяет ациноцитам адаптироваться к патологическому процессу, что обуславливает положительную динамику морфометрических показателей и высокий уровень выживаемости – 100%.

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

Нарушение регуляции свободнорадикальных процессов может приводить к развитию различных патологических состояний, особенно это относится к тем биосистемам, где уровень антиоксидантной обеспеченности наиболее низкий [1,5,7,8]. В последнее время появилось большое число работ, посвященных роли свободных радикалов в патогенезе острого панкреатита (ОП) [2,12,13,15,18].

Указанные предпосылки послужили основанием для проведения экспериментов с целью изучения возможности использования антиоксидантов в лечении ОП. Из широко применяемых в клинической практике водорастворимых антиоксидантов, мы остановили свой выбор на эмоксипине.

Эмоксипин (3-окси-6-метил-3-этилпиридина гидрохлорид) является универсальным синтетическим ингибитором свободнорадикальных процессов. Благодаря своему механизму действия и широкому спектру фармакологических эффектов эмоксипин оказывает влияние на основные звенья патогенеза различных заболеваний, связанных с процессами свободнорадикального окисления и кислородзависимыми патологическими состояниями.

**Цель исследования:** Изучить влияние эмоксипина на течение и морфологические характеристики острого экспериментального панкреатита (ОЭП).

**Материал и методы :**

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

Для воспроизведения ОЭП использовали модель предложенную Э.С.Гульянц и соавт. (1986г.) [6]. Антиоксидант эмоксипин вводили экспериментальным животным внутрибрюшинно через 24 часа после начала моделирования ОЭП в виде 1% раствора в дозе 3 мг на кг массы тела.

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 Выводы согласно протоколу исследования в разные сроки путем декапитации. Все исследования выполняли согласно «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» [3,11].

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. Слука Б.А.). Морфометрию на гистологических срезах проводили методом точечного счета. На срезах поджелудочной железы определяли доли объемов зимогенной зоны, гомогенной зон, клеточных ядер и рассчитывали ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО).

Для компьютерной карио-и цитометрии при иммерсионном увеличении (объектив Ч100) производили съемку препаратов с помощью цифрового фотоаппарата. Статистическая обработка выполнена с использованием программного пакета Statistica 6.0 (Stat Soft, Inc.).

Результаты и обсуждение :

При моделировании ОЭП без лечения все животные погибали к 72 часам от начала эксперимента. Среди животных, которым проводилось лечение эмоксипином, летальных исходов отмечено не было, а группа оставленная на выживаемость была выведена из эксперимента через 8 месяцев.

Наблюдение за общим состоянием группы животных, которые получали эмоксипин, показало, что симптомы интоксикации к 48 часам ОЭП были менее выражены и быстрее корригировались. Эти животные становились более активными, реагировали на внешние раздражители. У них быстро восстанавливались поведенческие реакции, и они начинали принимать воду уже к началу 2-х суток.

Развитие ОЭП без лечения характеризовалось типичным набором морфологических признаков [9,10,13,14,16,17].

Через 48 часов после начала эксперимента в поджелудочной железе после 24-часового действия эмоксипина у подопытных крыс обнаруживались очаговые некрозы паренхимы в субкапсулярной зоне органа. Нередко были заметны картины жирового некроза. Вместе с тем, в зонах, удаленных от области некроза, было выражено усиление базофилии гомогенной зоны, что можно расценивать как признак стимуляции белкового синтеза, а также наблюдалась слабая диффузная лейкоцитарная инфильтрация.

Через 72 часа после начала опыта в зимогенной зоне отмечалась выраженная оксифильная зернистость, в соединительной ткани органа – очаговая полиморфноядерными лейкоцитами, отек жировых клеток.

Через 8 месяцев структура поджелудочной железы подопытных животных не отличалась от нормальной.

Морфометрическая характеристика состояния ацинарных клеток показала, что через 48 часов эксперимента на фоне лечения животных эмоксипином (таблица 1.) достоверных изменений доли зимогенной зоны по сравнению с животными с ОЭП не наблюдается. Однако, доля зимогенной зоны оставалась достоверно выше, чем у интактных животных.

Лечение эмоксипином приводит к достоверному ( $p < 0.05$ ) увеличению доли гомогенной зоны, однако значения ее, оставались достоверно ниже, чем у интактных животных.

Изменения ядра на фоне лечения эмоксипином характеризовались достоверным ( $p < 0.001$ ) уменьшением его доли, которая достигала значений у интактных животных. Вместе с тем, отмечался достоверный рост логарифма площади и площади ядер

ациноцитов при достоверном уменьшении фактора формы, а элонгация ядра не менялась.

На стадии 72 часового эксперимента (таблица 2) эмоксипин приводил к достоверному ( $p < 0.001$ ) увеличению доли зимогенной зоны, при этом доля гомогенной зоны не менялась, оставаясь достоверно меньшей, чем у интактных животных. Доля ядра в эти сроки эксперимента при лечении эмоксипином достоверно ( $p < 0.001$ ) уменьшалась и достигала значений у интактных животных, при этом ядро становилось достоверно более круглым. Значения как площади ядра, так и логарифма площади не отличались от значений у животных с ОЭП без лечения, но были достоверно ( $p < 0.001$ ) больше, чем у интактных крыс.

Таблица 1

Морфометрическая характеристика ациноцитов при лечении эмоксипином (48 часов эксперимента)

Показатель	Интактные животные	ОЭП 48 часов	Эмоксипин 48 часов
Зимогенная зона, %	37,8±1,0	42,3±2,0*	42,7±2,0*
Гомогенная зона, %	50,6±1,0	38,5±2,0***	45,8±2,0*†
Ядро, %	11,5±0,8	19,1±1,0***	11,3±1,0*††
ЯЦО	1 : 7,7	1 : 4,2	1 : 7,8
Площадь ядра, мкм <sup>2</sup>	14,0 ± 0,3	17,6±0,5***	21,0±1,0***††
Логарифм площади ядра	2,62±0,02	2,85±0,02***	2,98±0,05***††
Фактор формы ядра	0,801±0,006	0,845±0,004***	0,728±0,004***†††
Элонгация ядра	1,16±0,01	1,20±0,01**	1,19±0,02

Достоверность отличия от интактных животных: \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$ , \*\*\* –  $P < 0,001$ ;

Достоверность отличия от ОЭП 48 часов: † –  $P < 0,05$ , †† –  $P < 0,01$ , ††† –  $P < 0,001$

Таблица 2

Морфометрическая характеристика ациноцитов при лечении эмоксипином (72 часа эксперимента)

Показатель	Интактные животные	ОЭП 72 часа	Эмоксипин 72 часа
Зимогенная зона, %	37,8±1,0	34,0±1,0**	43,3±2,0*†††
Гомогенная зона, %	50,6±1,0	45,9±2,0*	45,8±2*
Ядро, %	11,5±0,8	20,0±1,0***	10,7±1,0*††
ЯЦО	1 : 7,7	1 : 4,0	1 : 8,3
Площадь ядра, мкм <sup>2</sup>	14,0 ± 0,3	15,9±0,6**	16,3±0,5***
Логарифм площади ядра	2,62±0,02	2,72±0,04*	2,76±0,03***
Фактор формы ядра	0,801±0,006	0,839±0,007***	0,861±0,005***††
Элонгация ядра	1,16±0,01	1,31±0,02***	1,245±0,02***†

Достоверность отличия от интактных животных: \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$ , \*\*\* –  $P < 0,001$ ;

Достоверность отличия от ОЭП 72 часа: † –  $P < 0,05$ , †† –  $P < 0,01$ , ††† –  $P < 0,001$

Изучение динамики морфометрических параметров ациноцитов (таблица 3.) в процессе лечения эмоксипином показало, что на стадии эксперимента 48 и 72 часа доли, занимаемые зимогенной, гомогенной зонами и ядром достоверно не отличаются. При этом происходит практически нормализация основных параметров ациноцитов.

Таблица 3

## Динамика изменений морфометрических параметров ациноцитов при лечении ЭМОКСИПИНОМ

Показатель	Эмоксипин 48 часов	Эмоксипин 72 часа
Зимогенная зона, %	42,7±2,0	43,3±2,0
Гомогенная зона, %	45,8±2,0	45,8±2,0
Ядро, %	11,3±1,0	10,7±1,0
ЯЦО	1 : 7,8	1 : 8,3
Площадь ядер, кв. мкм	21,0±1	16,3±0,5***
Логарифм площади ядра	2,98±0,05	2,76±0,03***
Фактор формы ядра	0,728±0,004	0,861±0,005***
Элонгация ядра	1,19±0,02	1,25±0,02*

Достоверность отличия от эмоксипин 48 часов: \* –  $P < 0,05$ , \*\* –  $P < 0,01$ , \*\*\* –  $P < 0,001$ ;

При лечении эмоксипином нет картин серьезных некротических изменений субкапсулярной зоны железы, не наблюдается ярко выраженной вакуолизации цитоплазмы ациноцитов, состояние белоксинтезирующего аппарата не претерпевает серьезных изменений.

Относительные доли компонентов ациноцитов в начальные стадии отличаются от контрольных значений, однако доля ядра, а также ЯЦО, соответствующие показателям контрольной группы, свидетельствуют о том, что действие острого панкреатита, вызванного экспериментально, уже через 48 часов после своего начала попадает в диапазон адаптивных возможностей ациноцитов. Это подтверждается дальнейшим спокойным (в морфометрическом отношении) течением процесса и морфометрическими показателями ациноцитов через 8 месяцев после проведенного эксперимента.

### Выводы

1. Использование антиоксиданта эмоксипина позволило изменить течение патологических процессов в цитоплазме клетки и прервать каскад патогенетических реакций и агрессивность течения ОЭП.
2. Использование эмоксипина у животных с ОЭП помогает ациноцитам адаптироваться к патологическому процессу, что обуславливает положительную динамику морфометрических показателей и высокий уровень выживаемости-100%.

### Литература:

1. Антиоксидантная терапия острого панкреатита / Р. Б. Мумладзе, С. М. Чудных, И. Т. Васильев, Е. П. Тувина // *Анналы хирургии.*-1997.-№1.-С. 67-70.
2. Владимиров В.Г., Сергиенко В.И. Острый панкреатит. Экспериментально-клинические исследования – М.: Медицина, 1986 – 240 с.
3. 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.
4. Литвиненко Н. М., Кисель М. А. Эндогенные фосфолипазы А2 (структура и функции). – Мн.: Наука и техника, 1991. – 270 с.
5. Панин Л. Е., Лукьянов И. В. Роль внутриклеточных процессов в механизме развития панкреатита // *Сибирский биологический журнал.* – 1991.-N 5. – С. 11-17.

6. 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.
7. Сейфулла Р. Д., Борисова И. Г. Проблемы фармакологии антиоксидантов. // Фармакология и токсикология.-1990.-Т. 53, № 6.-С. 3-10.
8. Смирнов Д. А. Острый панкреатит и биоантиоксиданты // Хирургия. – 1994.-N 3. – С. 30-32.
9. Aho HJ, Koskensalo SM, Nevalaine TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis. Scand J Gastroenterol 1980; 15:411-416.
10. Banerjee AK, Galloway SW, Kingsnorth AN. Experimental models of acute pancreatitis. Br J Surg 1994;81:1096-1103
11. Buchler M, Beger H. G. Standards in experimental acute pancreatitis // Europ. surgical research.-1992.-Vol. 24. – P. 89-91.
12. Effects of antioxidants and free radical scavengers in three different models of acute pancreatitis./ Niederau, C.; Niederau, M.; Borchard, F.; LuEthen, R.; Ude, K.; Ferrell, L. D.; Strohmeyer, G.; Grendell, H. J. // Pancreas 1992 7:486 – 496.
13. Intravenous antioxidant modulation of end-organ damage in L-arginine-induced experimental acute pancreatitis. Hardman J., Shields C., Schofield D., et al. // Pancreatology 2005;5:380-386.
14. Ohshio G, Saluja A, Steer ML. Effect of short-term pancreatic duct obstruction in rats. Gastroenterology 1991; 100:196-202.
15. Oxidative stress: an important phenomenon with pathogenetic significance in the progression of acute pancreatitis./ Lee, a F-J Lub K Tsai, a S-S Wang, a T-S Chen, a C-W Kong, a F-Y Chang, a S-D.// Gut 1998;42:850-855.
16. Pathologic alterations detected in acute pancreatitis induced by sodium taurocholate in rats and therapeutic effects of curcumin, ciprofloxacin and metronidazole combination. / Gulcubuk A., Sonmez K., Gurel A., et al. // Pancreatology 2005;5:345-353.
17. Ploessl I., Gallmeier E., Schaefer C., et al. ANP preconditioning does not increase protectin against experimental pancreatitis, observed after general anesthesia and jugular vein catheterization. Pancreas 2004;2:28: 166 – 173.
18. Schoenberg MH, Birk D, Beger HG. Oxidative stress in acute and chronic pancreatitis. Am J Clin Nutr 1995; 62:1306S-1314S