

УДК 14.00.34

О ПОКАЗАНИИ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ГОРДОКСА И ТРАЗИЛОЛА ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

М. А. АБЕЛЯН

На основании физико-химических и экспериментальных исследований доказываются возможность введения ингибиторов протеолитических ферментов—гордокса и тразилола—в организм с помощью постоянного тока. Обосновываются целесообразность и необходимость включения указанного способа в арсенал средств, показанных при лечении острого панкреатита, как метода патогенетической терапии.

Ключевые слова: гордокс, тразилол, электрофорез, постоянный ток, острый экспериментальный панкреатит.

Лечение острого панкреатита, частота которого составляет 0,4—9% всех острых хирургических заболеваний органов брюшной полости, представляет определенные трудности и является актуальной проблемой. На основании ферментативной теории патогенеза острого панкреатита для его лечения предложены ингибиторы протеолитических ферментов (гордокс, тразилол и др.), которые принято вводить внутривенно, внутриаортально, внутрибрюшинно. Однако эффект лечения при этом не всегда одинаково высок, что связано со сроками введения, с дозой препарата, быстрым выведением его из организма (1—2,5 ч), возможностью аллергических реакций и т. д. [3, 5, 7, 9]. Таким образом, поиски новых методик применения ингибиторов протеолитических ферментов, повышающих эффективность лечения, в настоящее время представляются актуальными.

Учитывая многообразие лечебных свойств гальванического тока (анальгезирующее, спазмолитическое, противовоспалительное и др.), возможность введения с его помощью лекарственных веществ в патологический очаг с созданием в нем определенной концентрации [11], отсутствие при электрофорезе аллергических реакций, мы поставили перед собой цель разработать методику лечебного применения ингибиторов протеолитических ферментов (гордокса и тразилола) с помощью постоянного тока и оценить терапевтическую эффективность ее в эксперименте и у больных с острым панкреатитом. В представленной работе приводятся данные физико-химических и экспериментальных исследований, послужившие основанием для разработки указанного метода.

Материал и методика. Физико-химические исследования проводились в трехкамерной ячейке по методике Улащика [11] с целью определения электрофоретической подвижности препаратов в поле постоянного тока с использованием методики определения белка по Лоури. Структурные свойства препаратов с качественным определением белков изучались с помощью методики диск-электрофореза в полиакриламидном геле [8] на аппарате «Модель-80», Венгрия. Учитывая общность полученных данных и односторонность действия препаратов, экспериментальные исследования было решено провести с использованием одного из них—гордокса. Экспериментальные ис-

следования проводились на модели острого панкреатита на белых крысах-самцах, выполненной по методике Симаворьяна [10], в четырех сериях. Выбор групп животных был обусловлен данными предварительных физико-химических исследований, из которых следовало, что ингибиторы протеолитических ферментов в постоянном поле диссоциируют с образованием как анионов, так и катионов. Поэтому электрофорез гордокса проводился на крысах с катодом (1 серия) и с анодом (2 серия). Поскольку в механизме действия лекарственного электрофореза важная роль принадлежит постоянному току, который меняет фармакодинамику вводимых с его помощью лекарственных веществ, возникла необходимость и группы животных, получающих гальванизацию (3 серия). Во всех сериях имелась группа оперированных, но не леченых животных, служившая контролем (4 серия). Спустя час после индукции заболевания проводились гальванизация или электрофорез гордокса с помощью аппарата «Поток-1». Electroды устанавливались с поперечным охватом органа, активный—со стороны брюшной стенки, слева от операционного рубца, пассивный—со стороны спины напротив первого. Размер прокладок—3×2 см, плотность тока—0,05—0,1 мА/см², время—10—20 мин, курс—7 процедур. Срок лечения—семь процедур—выбран на основании того, что до седьмого дня активность ферментов в сыворотке крови крыс все еще повышена и наблюдается картина экссудативного воспаления, которое с восьмого—четырнадцатого дня сменяется пролиферативным воспалением [4, 10]. После лечения животные забивались. Исследовались активность ряда ферментов поджелудочной железы и сыворотке крови: трипсина—по методике Эрлангера и модификации В. А. Шатерникова, ингибиторов трипсина—по Хавербеку и модификации В. А. Шатерникова, α-амилазы по Смит-Роз-Мюллеру. С целью морфологического и гистологического исследования кусочки ткани поджелудочной железы фиксировались в 10% ном нейтральном формалине. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивались гематоксилин-эозином по Гриму-Вейгерту для выявления зрелых гранул. Гликоген и нейтральные полисахариды выявлялись ШИК-реакцией по Лилли с обработкой контрольных срезов α-амилазой, РНК—по Браше, с целью обзорной гистохимической характеристики изучаемого органа.

Результаты и обсуждение В ходе исследования выяснилось, что гордокс и трипсинол обладают выраженной электрофоретической подвижностью в постоянном электрическом поле с образованием как анионов, так и катионов. Установлено также, что с разведением рабочего раствора уменьшается количество вводимого препарата, а следовательно, и его антитрипсиновая активность, и что количественно преобладают анионы (табл. 1).

Таблица 1

Зависимость между электрофоретическим переносом и концентрацией гордокса и трипсинола в растворе (n=10)

Исследуемое вещество	Разведение препарата	Количество белка в контроле	Количество белка		
			на аноде	в средней камере	на катоде
Гордокс	ампульный	228±10,3	17±2,3	200±20,6	10±2,4
Гордокс	2:1	170±13,2	15±2,2	140±20,1	9±2,1
Гордокс	1:1	99±10,7	12±4,0	75±8,3	8±1,5
Гордокс	1:2	68±5,4	8±2,0	55±6,2	4±0,9
Трипсинол	ампульный	163±10,1	39±3,2	130±8,4	8±3,1
Трипсинол	2:1	90±8,4	6±1,5	58±10,4	не определялось
Трипсинол	1:1	11±8,1	5±0,98	35±5,4	не определялось

Изучение структурных свойств препаратов с помощью методики диск-электрофореза в полиакриламидном геле выявило в молекуле гордокса три анодные и две катодные фракции, а в случае трипсинола—две анодные и одну катодную фракции. Это подтвердило предыдущие данные об электрофоретической подвижности препаратов в постоянном поле с количественным преобладанием анодной фракции белков.

Моделирование таких трудно изучаемых на человеке заболеваний, как воспалительные поражения поджелудочной железы, приобретает исключительное значение для выяснения ряда вопросов этиологии, патогенеза и лечения данного заболевания [1, 6, 12]. В наших исследованиях модель использована для уточнения полученных результатов и окончательной разработки методики электрофореза ингибиторов протеолитических ферментов. Наиболее благоприятные результаты, по данным биохимических исследований, получены при лечении электрофорезом гордокса с отрицательного полюса введения препарата (табл. 2). Это

Таблица 2

Активность панкреатических ферментов в сыворотке крови крыс под влиянием гальванизации и электрофореза гордокса, п=10 ($M \pm m$)

Показатель	Интактные крысы	Оперированные крысы			
		контроль	гальванизация	анодный электрофорез	катодный электрофорез
Трипсин, мед	$7,9 \pm 0,86$	$9,3 \pm 0,3$ $p_1 > 0,2$	$16,6 \pm 2,8$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$13,6 \pm 2,13$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 = 0,3$ $p_4 < 0,001$	$7,8 \pm 1,3$ $p_1 > 0,2$ $p_2 > 0,2$ $p_3 < 0,001$
Ингибиторы трипсина, мед	$612,52 \pm 23,82$	$463,36 \pm 28,5$ $p_1 < 0,001$	$359,4 \pm 13,06$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$676,96 \pm 30,37$ $p_1 > 0,1$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	$458 \pm 23,8$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,2$ $p_3 < 0,002$
Ингибиторы трипсина	77,4	49,6	22,3	49,7	58,7
α -Амилаза г.(г.)	$1636,6 \pm 202,1$	$3005,7 \pm 289,9$ $p_1 < 0,001$	$3781,8 \pm 219,6$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$1959,2 \pm 201,1$ $p_1 > 0,2$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 > 0,2$	$2306,6 \pm 212,6$ $p_1 = 0,05$ $p_2 = 0,1$ $p_3 < 0,001$

Примечание: P1—между интактными и оперированными; P2—между контролем и лечеными; P3—между гальванизацией и электрофорезом; P4—между анодным и катодным электрофорезом.

выражается в снижении активности трипсина и α -амилазы сыворотки крови до нормальных величин, достоверном повышении коэффициента ингибиторы трипсина/трипсин, что указывает на достаточные ингибирующие возможности предлагаемого способа лечения.

Сравнительная оценка данных макроскопических исследований поджелудочной железы в четырех сериях опытов указывает на явно положи-

тельную динамику течения болезни у крыс, леченных электрофорезом гордокса, в сравнении с другими группами (табл. 3). Как видно из

Таблица 3

Показатели макроскопических исследований поджелудочной железы оперированных крыс, n—10

Показатель	Контроль	Лечение крысы		
		гальвани-зация	катодный электрофо-рез	анодный электрофо-рез
Псевдокиста	10	10	10	10
а) с казеозными массами	0	0	10	10
б) с казеозно-геморрагическим со-держанием	10	10	0	0
Отек железы	10	10	—	—
Геморрагии на железе	8	8	—	—
Выпот в брюшную полость	7	8	—	—
Серозно-гнойный перитонит	—	7	—	—
Стеато-некротические бляшки	10	10	10	10
Спайки с окружающими органами	10	10	10	10

табл. 3, псевдокиста, стеатонекротические бляшки и спайки с окружающими органами образуются во всех группах животных. Однако признаки активности процесса—отек железы, геморрагии на ее поверхности, выпот в брюшную полость и в отдельных случаях явления серозно-гнойного перитонита—наблюдаются при гальванизации. Все сказанное свидетельствует о возможности применения электрофореза гордокса в острой стадии заболевания с целью купирования патологического процесса.

По данным микроскопических исследований, при катодном электрофорезе к седьмому дню эксперимента происходит полное формирование псевдокисты, т. е. ограничение некротических тканей от здоровых. Стенка псевдокисты представляет собой пласт грануляционной ткани, клеточные элементы которой состоят преимущественно из активных фибробластов с сочной цитоплазмой и крупным гипохромным ядром. Цитоплазма насыщена зернами РНК и глюкозамногликанами. Встречаются также эпителиоидные клетки, единичные гистиоциты и лимфоциты. Вся грануляционная ткань и некротические ткани, прилегающие к стенке псевдокисты, инфильтрированы полиморфноядерными лейкоцитами, в виде тяжей внедряющимися в основную массу некроза. Там же встречаются макрофаги с неясной цитоплазмой и нагруженные зернами бурого пигмента. В пограничной зоне преобладает строма с сохранившимися обычными акцинами или дедифференцированными клетками. Обильно разрастается мезенхимонная ткань с железистыми трубчатыми структурами. Изредка встречаются некротизированные эпидермальные клетки. В интактном сегменте поджелудочной железы сохранена. Имеется не резко выраженный междольковый отек.

При анодном электрофорезе в зоне некроза выявлена идентичная картина. В пограничной зоне резко выражены воспалительные процессы

и протект гибели ацинарной паренхимы. В интактном сегменте железы ацинарные клетки хорошо сохранены, и патологический процесс ограничивается локальным, нерезко выраженным отеком. В группе, подвергнутой гальванизации, постоянный ток ускоряет формирование и организацию некротического очага за счет разрастания соединительной ткани: сосудистые почки и тяжи соединительной ткани глубоко внедряются в зону некроза, разделяя мертвые ткани на мелкие островки. Полиморфноядерные лейкоциты также инфильтрируют омертвевшую паренхиму. Стенка псевдокисты представлена грануляционной тканью, клеточный состав которой идентичен таковой при катодном и анодном электрофорезах. Активация фибробластических процессов сопровождается гибелью и замещением соединительной тканью трубчатых эпителиальных структур, заключенных в стенке псевдокисты. Характерно также разрастание междольковой и межацинарной ткани в пограничной зоне. В жизнеспособных ацинарных клетках пограничного и интактного отделов железы появляются парциальные некрозы цитоплазмы, отмечается вакуолизация. Интенсивно выражена также дискомплексаия ацинусов. Междольковый и межацинарный отек распространяется на значительную территорию интактного сегмента поджелудочной железы. В контрольной группе животных стенка кисты представлена грануляционной тканью, состоящей преимущественно из фибробластов, гистиоцитов и плазматических клеток. В зоне некроза лейкоцитарная инфильтрация выражена крайне слабо, в результате этого замедлена элиминация некротических масс. Репаративные процессы в пограничной зоне протекают по типу склеротизирования поджелудочной железы. Наряду с этим, имеются обширные очаги жирового некроза, резко выраженные воспалительные процессы, значительный междольковый и межацинарный отек, распространяющийся на значительную территорию интактного сегмента поджелудочной железы.

Таким образом, результаты экспериментальных исследований указывают на пригодность и целесообразность применения электрофореза ингибиторов протеолитических ферментов с отрицательного полюса при лечении острого панкреатита с целью торможения патологического процесса в поджелудочной железе, повышения ее регенераторных возможностей, инактивации повышенных протеолитических ферментов поджелудочной железы в кровеносном русле.

Сопоставление результатов физико-химических и экспериментальных исследований позволяет предложить методику лечения острых панкреатитов с помощью электрофореза гордокса и трипсина с отрицательного полюса с поперечным расположением электродов, в ампульных формах.

Сравнительная оценка результатов патоморфологических и биохимических исследований еще раз продемонстрировала одну из основных положений электрофореза — о важнейшей роли в нем лекарственных веществ.

ԳՈՐԴՈՒՄ ԵՎ ՏՐԱՍԻԼՈԼ ԷԼԵԿՏՐԱՖՈՐԵԶԻ ՑՈՒՑՈՒՄՆԵՐԸ ՍՈՒՐ
ՊԱՆԿՐԵԱՏԻՏԻ ԲՈՒԺՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Մ. Ա. ԱՐԵՂՅԱՆ

Ֆիզիկա-քիմիական և սպիտակ առնետների վրա կատարված սուր պանկրեատիտի մոդելի էքսպերիմենտալ հետազոտությունն տվյալների հիման վրա ապացուցված է սուր պանկրեատիտի բուժման հնարավորությունը՝ զորզոկա և տրագիրուլ էլեկտրաֆորեզով:

Հոգվածում հիմնավորված է նշված բուժման մեթոդի՝ որպես պաթոգենետիկ բերապիայի անհրաժեշտությունը և նպատակահարմարությունը սուր պանկրեատիտի բուժման համար:

ON THE EVIDENCE OF ELECTROPHORESIS GORDOX
AND TRASILOL IN THE TREATMENT OF ACUTE PANCREATITIS

M. A. ABELIAN

The appropriate treatment of acute pancreatitis has been proved to be possible with the help of trasilol and gordox electrophoresis.

This new system of treatment is a method of pathogenetic therapy and its apply during acute forms of pancreatitis has been pinpointed, proved and put into practice.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Багдасилов Д. М., Саркисов Д. С. Компенсаторные процессы после резекции поджелудочной железы. М., 1976
2. Гудзечко Ж. П. Панкреатит у детей. М., 1980
3. Зубков О. Б. Вестн. хирургии, 12, 23—25, 1981
4. Канаян А. С., Симиовян П. Г. Бюлл. экпер. биол. և мед., 11, 548—551, 1979
5. Кочиса С. С., Шарафисамазов Ф. Ш. Вестн. хирургии, 6, 136—138, 1970
6. Лопухин Ю. М. Экспериментальная хирургия. М., 1971
7. Огнев Ю. В., Колодий С. М. Хирургия, 3, 135—139, 1977
8. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. М., 1981
9. Семенов А. С., Голдын В. А., Ильин Г. П. Хирургия, 7, 133, 1972
10. Симиовян П. С. Автореф. докт. дисс., Ереван, 1973
11. Улащик В. С. Теория и практика лекарственного электрофореза. Минск, 1976
12. Чаплинский В. В., Гинтышак А. И. Острый панкреатит. М., 1972

«Биолог. ևս. Արմենիա», տ. XXXVII, № 3, 1984

УДК 57.082.1:546.77

ИЗМЕНЕНИЯ В КРОВЕТВОРНЫХ ОРГАНАХ КРОЛИКОВ В
ПЕРИОД ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО
ВОЗДЕЙСТВИЯ МОЛИБДЕНОМ

Ա. Դ. ԹԵՐԱՎԵՏԻՅԱՆ, Մ. Ա. ՎԱՐՑՅԱՆ, Ա. Ա. ՍԵՏՐՕՅԱՆ

Поступление стабильного молибдена в организм кроликов в течение 10 месяцев приводит к нарушению клеточного равновесия в иммуно-гематологических органах с тенденцией к нормализации в отдаленные сроки восстановительного периода.

Ключевые слова: молибден стабильный, иммуногенез, кроветворение.