

УДК: 616.37-008.64

ИЗМЕНЕНИЕ СЕКРЕТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙВ.П. АСКАРЬЯНЦ, А.С. ФАЗЫЛДЖАНОВА, Б.Б. НИГМАНОВ, Ш.А. АДХАМОВ У.А. ЮЛДАШЕВ
Ташкентский Педиатрический Медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Ташкент

Изменение желудочной секреции под воздействием пестицидов отражается на деятельности поджелудочной железы, функционально тесно связанной с желудком. Не исключено также, что пестициды могут оказать непосредственное влияние на ацинарный аппарат поджелудочной железы.

В литературе имеются некоторые сведения о влиянии хлорорганических соединений (ХОС) на внешнесекреторную функцию поджелудочной железы.

Материалы и методы. Эксперименты проводились на белых крысах. О функциональном состоянии поджелудочной железы судили по активности основных панкреатических ферментов: липазы по Г.К.Шлыгину и соавт.(1963), амилазы по Смит-Рою в модификации А.М.Уголева (1969) и протеаз по методу Гросса в содержимом кишечника и в гомогенате железы. Животных (300) разделили на 5 групп, одна из которых служила контролем, а крысам 2, 3, 4, 5-ой групп вводили масляный раствор ГХЦГ внутривенно в дозах $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{5}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{50}$ ЛД₅₀ соответственно (ЛД₅₀ = мг/кг).

Первая доза вводилась однократно, остальные – ежедневно до конца исследований. Контрольные крысы получали соответствующее количество масла.

Полученные результаты. Через 6 часов после однократного введения препарата отмечалось снижение активности основных панкреатических ферментов в содержимом тонкой кишки крыс. Активность амилазы, липазы и протеаз была соответственно на 72, 42 и 35% ниже, чем у контрольных животных. Эти изменения можно рассматривать как результат

угнетения активности липазы и амилазы в гомогенатах органа. Причем, как и в химусе, в большей степени снижалась амилалитическая активность. Следовательно, не смотря на уменьшение секреции основных панкреатических ферментов, в первые часы после введения крысам ГХЦГ, их активность в железе угнетается, что можно расценивать как свидетельство снижения интенсивности синтеза ферментов в ацинарных клетках (1).

Через 24 часа после введения препарата активность липазы, протеаз и амилазы в кишечном содержимом продолжали оставаться достоверно сниженными. В гомогенатах поджелудочной железы подопытных и контрольных животных активность этих ферментов была практически одинаковой (табл.1). Таким образом, затравка животных относительно большой дозой ГХЦГ вызывает угнетение секреции основных панкреатических ферментов и некоторое снижение интенсивности их синтеза в поджелудочной железе (4). Многократное введение крысам ГХЦГ в дозе $\frac{1}{5}$ ДЛ₅₀ в течение 20 дней вызывало увеличение активности протеаз в химусе (табл.2). К 5-му дню суммарная активность этих ферментов у подопытных животных была в 2 раза выше, чем у контрольных животных. К концу наблюдений (на 20-й день введения препарата) протеолитическая активность химуса у подопытных и контрольных животных была практически одинаковой. Изменения активности липазы и амилазы при введении ГХЦГ в дозе $\frac{1}{5}$ ДЛ₅₀ были во многом сходны между собой и противоположны сдвигам протеолитической активности.

Таблица 1.

Изменение активности ферментов в гомогенате поджелудочной железы и тонкой кишки после однократного введения ГХЦГ в дозе $\frac{1}{5}$ ЛД₅₀

Ферменты						
Время исследований	Липаза		Протеазы		Амилаза	
	Химус (ед.)	Гомогенат (ед/г)	Химус(ед.)	Гомогенат (ед/г)	Химус(мг/мин.)	Гомогенат (мг/г/мин.)
Через 6 часов	830±100 480±90	15760 ± 2140 14000± 2040	2500± 320 1650± 280	11930 ± 1110 12860± 1190	3080 ± 470 880 ± 180	91500± 12610 62850± 7460
Через 24 часа	950 ± 80 440± 50	30900 ± 1330 27860 ± 2160	2110 ± 230 1170 ± 140	23430 ± 1110 21320 ± 1500	2150± 200 830± 120	34270 ± 1080 33720± 1350

Таблица 2.

Фермент	Срок введения препарата (1-е сутки)	Срок введения препарата (3-и сутки)	Срок введения препарата (5-е сутки)	Срок введения препарата (10-е сутки)	Срок введения препарата (20-е сутки)
Липаза (ед/г)	20140 ± 2370 6510 ± 1330	9560 ± 1400 10110 ± 850	18270 ± 440 17260 ± 3070	18440 ± 700 21090 ± 2660	8110 ± 680 8800 ± 720
Протеазы (ед/г)	38410 ± 5770 24450 ± 3280	26710 ± 3740 22340 ± 1469	10320 ± 810 10970 ± 2470	13280 ± 1050 12070 ± 1580	7520 ± 1170 14590 ± 2020
Амилаза (ед/г)	7800 ± 7100 25000 ± 830	70000 ± 520 26000 ± 2400	16700 ± 2730 12550 ± 2440	17700 ± 1370 16050 ± 2150	31990 ± 2270 49640 ± 2780

На второй день введения ГХЦГ наблюдалась тенденция снижения активности этих ферментов. Степень угнетения липолитической и амилаолитической активности на 3-й день уже была достоверной. В дальнейшем наблюдалось повышение активности этих ферментов, и к 5-му дню исследований липолитическая, а к 10-му дню и амилаолитическая активности возрастали до уровня контрольных крыс. Рост активности этих ферментов продолжался до конца экспериментов, и к двадцатому дню активность липазы была на 84%, а амилазы на 64% выше контроля (табл.2).

Активность ферментов в гомогенате поджелудочной железы крыс, получавших ГХЦГ в дозе $1/5$ ЛД₅₀, в начале экспериментов снижалась. Амилаолитическая активность на 3-й день введения препарата у подопытных животных снизилась в 3 раза по сравнению с контрольными. Примерно на этом уровне она оставалась у крыс, получавших ГХЦГ в течение 3-х дней. На 5-, 10-й дни активность амилазы в ткани поджелудочной железы возрастала, и уже не отличалась от таковой. У контрольных, а к 20-му дню была достоверно выше, чем у крыс, не получавших препарат. Липолитическая активность снижалась только через 24 часа после введения ядохимикатов, затем восстанавливалась, и до конца исследований не отличалась от контроля. В первый день введения ГХЦГ отмечалась тенденция снижения протеолитической активности ткани железы; на 3-й, 5-й и 10-й дни исследований эта активность существенно не менялась, а к 20-му дню возрастала примерно в 2 раза по сравнению с контролем.

Сопоставляя динамику изменений активности панкреатических ферментов в химусе и гомогенатах железы, можно предположить, что уменьшение секреции амилазы и липазы в первые дни эксперимента обусловлено снижением интенсивности их синтеза в ацинарных клетках. К концу исследований ферментообразовательная функция железы восстанавливается или даже возрастает, и выделение амилазы и липазы в полость тонкой кишки увеличивается. Некоторые изменения показателей внешнесекреторной функции поджелудочной железы можно отметить и при длительном введении ГХЦГ в дозе $1/20$ ЛД₅₀. На 15-й день опыта достоверно снижалась липолитическая активность химуса; протеолитическая и амилаолитическая активности не изменялись. В дальнейшем активность липазы повышалась, и к 60-му дню на 67% превышала контрольный уровень. К третьему и четвертому месяцам активность этого фермента в химусе подопытных и контрольных животных становилась одинаковой. Активность протеаз имела тенденцию к снижению в конце второго месяца и к повышению в конце четвертого. На 4-м месяце отмечалась тенденция к повышению амилаолитической активности. К концу же исследований (на 180-й день) активность всех трех ферментов в химусе была на контрольном уровне. У подопытных животных, использованных в этой серии экспериментов, в течение первого месяца наблюдались признаки угнетения

ферментообразовательной функции поджелудочной железы. В частности, на 15-й день введения ГХЦГ в дозе $1/20$ ЛД₅₀ достоверно угнеталась липолитическая активность ткани железы, а протеолитическая активность проявляла явную тенденцию к снижению на 15-й и 30-й дни. Амилаолитическая активность до конца 4-го месяца не изменялась, затем резко возрастала, и на 180-й день в 2 раза превышала контрольный уровень. К концу экспериментов заметно повышались также липолитическая и протеолитическая активности, которые в более ранние сроки не изменялись. Результаты этих исследований позволяют заключить, что при длительном отравлении ГХЦГ в дозе $1/20$ ЛД₅₀ вначале отмечается некоторое угнетение секреции и синтеза панкреатических ферментов, затем деятельность железы нормализуется, а к концу исследований заметно повышается интенсивность ферментообразовательных процессов. Самая малая из применявшихся нами доз ядохимиката ($1/50$ ЛД₅₀) вызывала наименьшие изменения в деятельности поджелудочной железы при длительном введении. В 1-й месяц отмечалась определенная тенденция к снижению липолитической и протеолитической активности в химусе и ткани железы, амилаолитическая активность, напротив, возрастала. В последующем достоверных различий в активности ферментов химуса и гомогената поджелудочной железы у подопытных и контрольных животных не было, но прослеживалась тенденция к возрастанию активности ферментов при действии малой дозы ядохимиката.

Выводы: Таким образом, результаты всех проведенных с ГХЦГ экспериментов позволяют заключить, что он вызывает заметные сдвиги внешнесекреторной функции поджелудочной железы, направленность и глубина которых зависят от дозы препарата и длительности его введения.

Литература:

1. Афцелиус Б.А. Анатомия клетки, М, 1998.
2. Закиров У.Б., Кадыров У.З., Миртурсунова С.З., Гулямов Т.Д. Экзосекреторная функция поджелудочной железы при воздействии различных доз гексахлорциклогексана. «Фармакология и токсикология», 1976, №1, с.455-458.
3. Коротко Г.Ф., Розин Д.Г. Влияние центральных нейротропных препаратов на дифференцированность панкреатического ферментовыделения. «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины», 1976, т.81, №1, с.6-9.
4. Уголев А.М. Пищеварение и его приспособительная эволюция, М., 1976.
5. Уголев А.М., Тимофеева Н.М. Определение пептидазной активности. В кн.: Исследование пищеварительного аппарата у человека. Л., Изд-во «Наука», 1996, с. 178-181.
6. David A., Joseph L., Regulation in small intestinal protein metabolism. Gastroenterology. 2011, v.24. №1, p. 471-476.
7. Liphin M. Cell proliferation on the gastrointestinal tract of man. Fed Proc. 2010. v.24. №1, part 1, p.10-15.

ОЦЕНКА ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ Na – Ca – КМЦ В УСЛОВИЯХ IN VITRO

Б.А. ИСМАИЛОВ, З.Р. ХАЙБУЛИНА, М.М. АЛИМОВ

Республиканский специализированный Центр хирургии им. акад. В.Вахидова,

Республика Узбекистан, г. Ташкент

Введение. В современной хирургии вопрос остановки паренхиматозного кровотечения остается нерешенным. Существующие способы остановки местного кровотечения: механические, термические, химические и фармакологические имеют свои ограничения и не лишены недостатков [1–4]. Токсичность, травматичность, антигенные свойства, а так же местно-раздражающее действие способствуют воспалительному процессу, некрозу паренхимы органов, что предрасполагает к развитию инфекции [5]. Сфера эффективного применения кровоостанавливающих средств местного действия будет расширяться, заменяя традиционные хирургические манипуляции при остановке кровотечения аппликационной процедурой [6]. Применение местных гемостатических средств из биосовместимых, биоразлагаемых полимеров открывает перспективы надежного гемостаза наряду с минимальным повреждением тканей.

Одним из полимеров отвечающим данным требованиям является карбоксиметилцеллюлоза. В литературе описываются ее высокая биоинертность и противоспаечная активность [7,8]. Карбоксиметилцеллюлоза в форме геля на протяжении многих лет используется в качестве барьерного средства («Мезогель») для профилактики спаечного процесса брюшной полости [9,8]. Степень замещения (СЗ) показывает количество гидроксильных групп в ста звеньях молекулы карбоксиметилцеллюлозы, в которых водород замещен группой OCH_2COONa . Степень полимеризации отражает число звеньев в макромолекуле реагента. Na-карбоксиметилцеллюлоза (Na-КМЦ) представляет собой мелкозернистый порошокобразный, содержащий волокна, материал. КМЦ натриевая соль при растворении в воде образует вязкие бесцветные растворы, характеризующиеся псевдопластичностью, а также тиксотропией (способностью восстанавливать исходную структуру, разрушенную механическим воздействием). В водных растворах Na-КМЦ является поверхностно-активным веществом, при этом натриевая соль КМЦ отлично совмещается с другими эфирами целлюлозы, растворимыми в воде, а также природными и синтетическими полимерами и многими солями щелочных, щелочноземельных металлов и аммония. Натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы повышает вязкость, влияет на реологию или свойства текучести водной системы. Она является суспендирующим, пленкообразующим, связующим и водоудерживающим агентом.

Целью исследований является оценка гемостатических свойств имплантата на основе Na – Ca – КМЦ.

Материал и методы исследования. В качестве исследуемого материала использована натрий КМЦ с различной степенью замещения ее кальцием.

В наших исследованиях изучали воздействия Na-Ca-КМЦ на гемостатические свойства цельной крови. Исследования выполнены с нативной кровью 20-ти здоровых доноров – добровольцев. Оценка гемостатических свойств имплантата проводилась в условиях *in vitro*.

Параметры гемостаза в крови доноров определяли согласно современной номенклатуре методов лабораторной диагностики, используя глобальные (скрининговые) методы, включавшие в себя подсчет активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), протромбинового времени (ПВ), концентрации фибриногена. Исходно параметры гемостаза у доноров соответствовали референс интервалам.

Изучение свойств имплантата проводили путем инкубации с донорской плазмой *in vitro*. Для определения АЧТВ, ПВ использовали цитратную бедную тромбоцитами донорскую плазму. Кровь забирали натошак в пластиковую пробирку, содержащую 3,8% раствор цитрата натрия трехзамещенного в соотношении 9:1, центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут. Непосредственно после центрифугирования отбирали плазму для исследования.

В исследовании пленку Na – Ca – КМЦ размером 1см^2 помещали в пробирку, содержащую 2,0 мл плазмы, инкубировали 5 сек, после чего забирали 0,1 мл для определения АЧТВ; 0,1 мл - для ПВ; 1,0 мл - для фибриногена.

Контрольные пробы исследовали аналогично без добавления пленки.

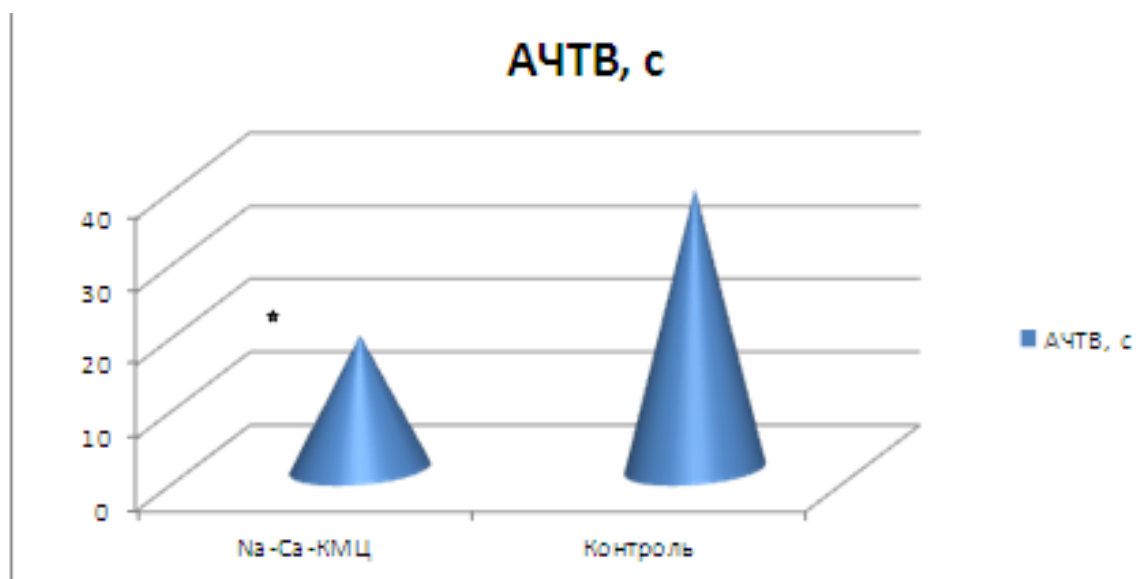
АЧТВ, ПВ определяли по стандартный методике, используя наборы «АЧТВ-тест», «Техпластин-тест» (содержит стандартизированный по МИЧ тромбопластин), «Тромбо-тест» производства «Технология-стандарт», Россия. Общий фибриноген определяли гравиметрически по Р. А. Рутберг (1972) с использованием хлорида кальция 5,54% и раствора техпластина.

Результаты исследований. В контрольных пробах плазмы АПТВ составило $38,3 \pm 1,2$ сек. В присутствии пленки Na-Ca-КМЦ происходило укорочение АЧТВ в 2,1 раза по сравнению с контролем (Диаграмма 1).

ПВ позволяет оценить факторы протромбинового комплекса – II, Y, YII, X. В контрольных пробах плазмы ПВ составило $14,2 \pm 0,8$ с. В присутствии пленки Na-Ca-КМЦ происходило укорочение ПВ в 3,1 раза (Диаграмм 2).

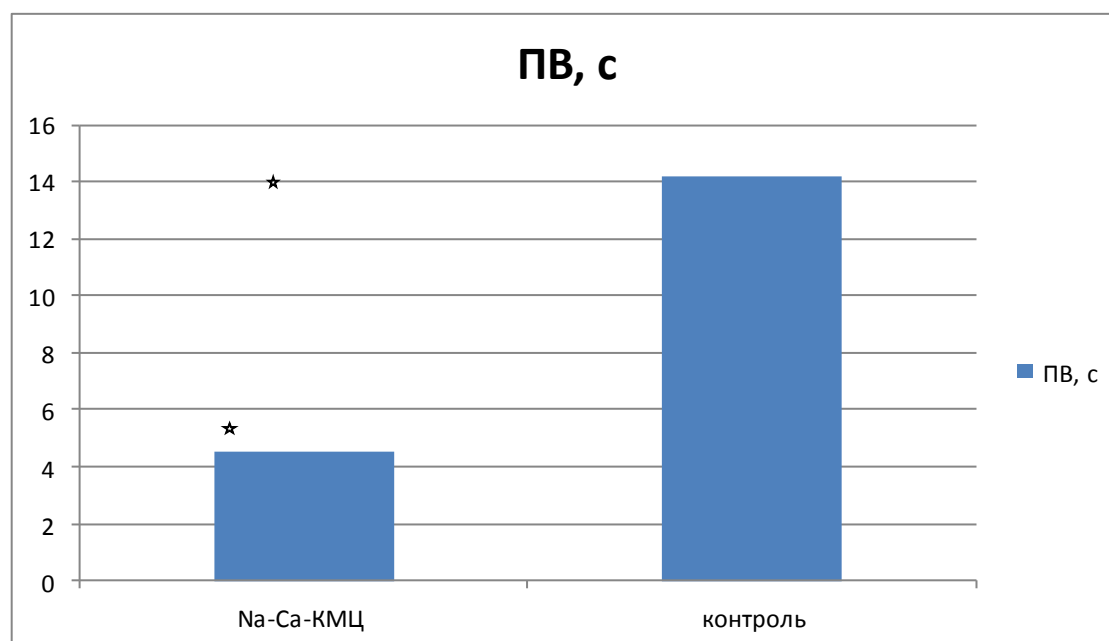
Содержание фибриногена при добавлении пленки достоверно не отличалось от такового в контрольной плазме.

Диаграмма 1 – гемостатическая активность имплантата Na-Ca-КМЦ с воздействием на активированное частичное тромбопластиновое время



*P < 0,05 по отношению к контролю.

Диаграмма 2 - гемостатическая активность имплантата Na-Ca-КМЦ с воздействием на протромбиновое время



*P < 0,05 по отношению к контролю.

Полученные результаты укорочения АЧТВ вместе с ПВ свидетельствуют об активации свертывания крови в целом, как по внутреннему (с участием УШ IX XI факторов), так и по внешнему механизму (с участием УП фактора) с активацией всего комплекса протромбиназы (II,V,X). Эффект пленки может быть обусловлен присутствием ионов кальция – IV плазменный фактор, участвующий во всех фазах коагуляционного гемостаза, чем и обусловлен эффект усиления свертывания крови.

Полученные результаты указывают на усиление процесса свертывания донорской крови in vitro в присутствии поликомпозиционного полимера на ос-

нове производных целлюлозы, возможно, за счет активации внешнего и внутреннего пути коагуляционного гемостаза в присутствии ионов кальция. Наличие подобных свойств у гемостатической пленки Na-Ca-КМЦ открывает перспективу его использования в качестве гемостатического имплантата в хирургии.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что в присутствии гемостатической пленки на основе производных целлюлозы Na-Ca-КМЦ повышается общая коагуляционная активность цельной крови in vitro, что указывает на наличие гемостатических свойств у данного имплантата.

Литература:

1. Журавлев, В.А. Гемостаз при больших и предельно больших резекциях печени / В.А. Журавлев, В.М. Русинов // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2005. – Т. 10, № 3. – С. 129-136.
2. Fluorescent biodegradable PLGA particles with narrow size distributions: preparation by means of selective centrifugation / Gaumet, R. Gurny, F. Delie // *Int. J. Pharm.* – 2007 (342) – 222–230.
3. Bone tissue engineering: state of the art and future trends / A.J. Salgado, O.P. Coutinho, R.L. Reis // *Macromol. Biosci* – 2004 (4) – 743–765.
4. Гемостатические средства местного действия (обзор) / Г.Г. Белозерская, В.А. Макаров, Е.А. Жидков и др. // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2006. – № 7. – С. 9-15.
5. Gabay, M. Absorbable hemostatic agents / M. Gabay // *Am. J. Health Syst. Pharm.* – 2006. – Vol. 63, № 7. – P. 1244-1253.
6. Аппликационное средство гемостаза при капиллярно — паренхиматозном кровотечении / Г.Г. Белозерская, В.А. Макаров, Р.К. Абоянц и др. // *Хирургия*. – 2004. – № 9. – С. 55-59.
7. Эффективность антиспаечного средства с барьерным действием «Мезогель» после рассечения спаек у пациентов с острой спаечной кишечной непроходимостью / Б.С. Суковатых, А.Д. Мясников, А.И. Бежин и др. // *Вестник хирургии*. – 2008. – № 5. – С. 29-36.
8. Arion, H. Carboxymethylcellulose hydrogel-filled breast implants. Our experience in 15 years / H. Arion // *Ann. Chir. Plast. Esthet.* – 2001. – Vol. 46, № 1. – P. 55-59.
9. Ахаладзе, Г.Г. Применение препаратов фибринового клея в гепатобил- диарной хирургии / Г.Г. Ахаладзе // *Consilium medicum: Журнал доказательной медицины для практикующих врачей* [Электронный ресурс]. — № 6 – С. 320-322.