

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА В КОРРЕКЦИИ ИММУННЫХ И ОКСИДАНТНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

В.А. РАГУЛИНА¹
А.Л. ЛОКТИОНОВ¹
А.И. КОНОПЛЯ¹
М.В. ПОКРОВСКИЙ²
С.А. АЛЕХИН¹
Т.Г. ПОКРОВСКАЯ²
О.С. ГУДЫРЕВ²
М.В. КОРОКИН²
В.И. КОЧКАРОВ²

¹⁾ Курский государственный
медицинский университет

²⁾ Белгородский государственный
национальный
исследовательский университет

e-mail: ala-loc@yandex.ru

В условиях экспериментального острого панкреатита отмечается супрессия гуморального и клеточного иммунного ответа, снижается функциональная активность нейтрофилов периферической крови, активность каталазы, повышаются процессы перекисного окисления липидов. Производные 3-гидроксипиридина – мексидол, этоксидол и соединение с лабораторным шифром ХС-9 – обладают иммуномодулирующей, антиоксидантной активностью, располагаясь по убыванию степени фармакологической эффективности в следующем порядке: ХС-9 →этоксидол →мексидол.

Ключевые слова: производные 3-гидроксипиридина, экспериментальный острый панкреатит, мексидол, этоксидол.

Введение. Острый панкреатит (ОП) остается одной из наиболее актуальных проблем современной хирургии, с неизменно высокими цифрами летальности при его деструктивных, в особенности инфицированных, формах [9]. Современные представления о патогенезе этого заболевания свидетельствуют о том, что основу составляет синдром системной воспалительной реакции, характеризующийся как трудно контролируемая гиперэргическая реакция организма на повреждение поджелудочной железы, сопровождаемая лавинообразным выделением медиаторов воспалительной реакции, активацией процессов перекисного окисления липидов и вовлечением в патологический процесс клеток иммунной системы [12].

При этом впоследствии развивается вторичный иммунодефицит, являющийся причиной развития поздних гнойных осложнений панкреонекроза. В то же время, недостаточно изученными остаются вопросы рациональной патогенетической фармакотерапии на всех этапах развития ОП [4]. Все это дает основания для экспериментального поиска новых фармакологических препаратов, сочетающих в себе антиоксидантные и иммуномодулирующие эффекты.

Одним из этапов оценки эффективности препаратов является их доклиническое испытание на экспериментальных животных. В настоящее время предложено множество способов моделирования ОП у крыс, однако не все они отражают всю сложность патогенеза этого заболевания у человека. В связи с этим, авторы отдают предпочтение комбинированным моделям, учитывающим сразу несколько звеньев патогенеза – создание протоковой гипертензии и стимуляция секреции поджелудочной железы [2], что и было использовано в настоящей работе.

Интерес авторов в настоящее время привлекают препараты-производные 3-гидроксипиридина (3-ГП). Некоторые авторы указывают на их иммунокорригирующую эффективность при патологии печени, основываясь на антиоксидантных и мембраностабилизирующих свойствах некоторых производных 3-ГП [1]. Это дает основание предполагать иммуномодулирующие эффекты производных 3-ГП в условиях ОП, важным патогенетическим звеном в развитии и течении которого, независимо от этиологии, являются вторичный иммунодефицит и окислительный стресс.

Цель – оценка иммуномодулирующих и антиоксидантных эффектов некоторых производных 3-гидроксипиридина при остром экспериментальном панкреатите.



Материалы и методы исследования. Эксперименты выполнены на крысах Вистар массой 180-200 г. Эксперименты проводили на 118 здоровых половозрелых крысах линии Вистар, массой 150-200 г. В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария Курского государственного медицинского университета и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Все исследования проводили в одно и то же время суток, с 8 до 12 ч, с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986) и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.).

Производные 3-ГП вводили пятикратно, через 24 часа, внутривентриально в экспериментально подобранных дозах: ХС-9 – 35 мг/кг, этоксидол – 50 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали производное оксипиридина – мексидол, который вводили внутривентриально, в дозе 50 мг/кг, по той же схеме, что и исследуемые соединения.

Экспериментальный острый панкреатит (ЭОП) моделировали путем перевязки протоков поджелудочной железы с последующим подкожным введением прозерина [2].

Крыс иммунизировали эритроцитами барана (ЭБ) однократно, внутривентриально в дозе 10^8 клеток на 1 кг массы тела. Через 5 суток после иммунизации определяли выраженность гуморального иммунного ответа (ГИО) по количеству иммунных антителообразующих клеток (АОК) в селезенке [6]. О выраженности гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на ЭБ судили по разнице масс (РМ) регионарного и контрлатерального лимфатических узлов через 24 часа после введения разрешающей дозы ЭБ (на 6-е сутки после сенсibilизации ЭБ) [11]. Иммунизацию или сенсibilизацию животных ЭБ проводили соответственно за 5 и 6 суток до выведения животных из эксперимента. Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови оценивалась по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитоза (ИАФ) [8]. Кислородзависимую активность оценивали фотометрически в реакции восстановления нитросинего тетразолия по показателям оптической плотности (mOD) в НСТ сп. (спонтанный НСТ-тест), НСТ ст. нз (стимулированный неопсонизированным зимозаном НСТ-тест), НСТ ст. оз (стимулированный опсонизированным зимозаном НСТ-тест) и вычисляли коэффициенты функционального резерва – КАо (отношение опсонизированного НСТ-теста к спонтанной реакции), КАН (отношение неопсонизированного НСТ-теста к спонтанной реакции) и КО (соотношение опсонизированного и неопсонизированного НСТ-теста) [13]. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов оценивали по содержанию в плазме крови ацилгидроперекисей (АГП) и малонового диальдегида (МДА) [10]. Кроме этого, определяли активность каталазы [7].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя параметрический коэффициент Стьюдента и непараметрические критерии Вилкоксона-Манна и Уитни [5]. Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$.

Результаты. В предыдущих исследованиях было установлено, что максимальная иммуносупрессия при ЭОП наблюдается на 5-7-е сутки моделирования ОП как в отношении показателей, характеризующих формирование гуморальной и клеточной форм иммунитета, так и в отношении функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов [3]. В связи с этим животные выводились из опыта на 7-е сутки после моделирования ОП.

При изучении показателей, характеризующих формирование гуморальной и клеточной форм иммунного ответа, фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови у крыс через 7 суток после изолированной лапаротомии установлено, что ни один из показателей статистически не отличался от данных группы контрольных животных (табл. 1).

Через 7 суток после развития ЭОП у животных наблюдалось снижение количества иммунных АОК в селезенке, РМ регионарного и контрлатерального лимфатических узлов и фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови (снижение ФП, ФЧ и ИАФ). Введение мексидола, этоксидола и соединения ХС-9 нормализовало формирование ГИО и ГЗТ на ЭБ. Этоксидол и мексидол корректировали, а соединение ХС-9 – нормализовало фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови (табл. 1).



Таблица 1

Влияние производных 3-ГП на показатели гуморального, клеточного иммунитета и фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови у крыс с ЭОП (M±m)

№ п/п	Условия опыта	АОК, тыс./орг.	PM, мг	ФП, %	ФЧ, абс.	ИАФ
1	Контроль (здоровые животные)	26,3±2,4	5,6±0,3	73,6±2,1	2,2±0,12	1,6±0,10
2	Изолированная лапаротомия	27,1±3,3	5,5±0,2	72,4±3,7	2,1±0,1	1,5±0,09
3	ЭОП	7,0±2,0* ^{1,2}	2,5±0,1* ^{1,2}	50,3±2,8* ^{1,2}	1,2±0,08* ^{1,2}	0,6±0,04* ^{1,2}
4	ЭОП + мексидол	14,3±1,8* ¹⁻³	5,8±0,6* ³	65,1±2,9* ¹⁻³	1,9±0,07* ¹⁻³	1,2±0,09* ¹⁻³
5	ЭОП + этоксидол	24,9±2,0* ⁴	5,5±0,35* ³	63,4±3,1* ¹⁻³	1,8±0,06* ¹⁻³	1,1±0,04* ¹⁻³
6	ЭОП + ХС-9	26,1±5,2* ³⁻⁵	5,7±0,2* ³	75,3±4,1* ³⁻⁵	2,3±0,11* ³⁻⁵	1,7±0,1* ³⁻⁵

Примечание: здесь и в последующих таблицах: * – p<0,05; цифра рядом со звездочкой означает, по отношению к какой группе значение достоверно отличается.

Исследование кислородзависимых механизмов активности нейтрофилов периферической крови крыс, подвергнутых изолированной лапаротомии, не выявило изменений по сравнению с контролем. В группе животных с ЭОП установлено снижение метаболической активности гранулоцитов. Возможно, это связано с массивным перераспределением в пораженный орган активных клеток в ответ на выделение большого количества медиаторов воспаления, в результате чего периферическое кровеносное русло обедняется полиморфноядерными лейкоцитами и, в связи с персистированием воспаления, не успевает пополняться. Введение мексидола и этоксидола корригирует, а соединения ХС-9 нормализует показатели кислородзависимой активности нейтрофилов периферической крови (табл. 2).

Таблица 2

Влияние производных 3-ГП на показатели кислородзависимой активности нейтрофилов периферической крови при ЭОП (M±m)

№ п/п	Условия опыта	сНСТ	НСТ н/з	НСТ о/з	КАн	КАо	КО
1	Контроль	1037,5 ±62,6	1111,0 ±70,7	1310,63 ±112,9	1,08 ±0,07	1,30 ±0,05	1,24 ±0,03
2	Изолированная лапаротомия	1122,4 ±52,6	1193,1 ±80,8	1294,5 ±86,7	1,07 ±0,06	1,15 ±0,06	1,09 ±0,06 ¹
3	ОП	554,3 ±28,9* ^{1,2}	743,3 ±60,5* ^{1,2}	856,3 ±70,6* ^{1,2}	1,38 ±0,10* ^{1,2}	1,54 ±0,08* ^{1,2}	1,24 ±0,04* ²
4	ОП + мексидол	701,8 ±33,2* ¹⁻³	921,6 ±45,1* ¹⁻³	992,3 ±36,6* ¹⁻³	1,33 ±0,09* ^{1,2}	1,44 ±0,09* ¹⁻³	1,09 ±0,06* ¹⁻³
5	ОП + этоксидол	797,8 ±32,2* ¹⁻⁴	912,8 ±43,9* ¹⁻³	987,5 ±35,0* ¹⁻³	1,15 ±0,04* ¹⁻⁴	1,25 ±0,05* ^{3,4}	1,09 ±0,04* ¹⁻³
6	ОП + ХС-9	1137 ±51,9* ³⁻⁵	1188,0 ±34,9* ³⁻⁵	1336,1 ±81,7* ³⁻⁵	1,06 ±0,05* ³⁻⁵	1,21 ±0,05* ³⁻⁵	1,14 ±0,03* ¹⁻³

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности препаратов – производных 3-ГП в коррекции формирования гуморальной и клеточной форм иммунитета и функциональной активности нейтрофилов периферической крови, причем мексидол и этоксидол оказались примерно одинаковыми по эффективности, а максимальные фармакологические эффекты наблюдались у соединения ХС-9.

Учитывая то, что процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) играют существенную роль в развитии повреждения в ткани поджелудочной железы, было изучено влияние этих фармакологических средств на содержание в плазме крови продуктов ПОЛ и активность основного фермента антиоксидантной системы – каталазы в условиях ЭОП.



Установлено, что на 7-е сутки после моделирования ОП в плазме крови повышается концентрация продуктов ПОЛ (АГП и МДА) по сравнению с контрольной группой животных, при снижении активности каталазы. Введение мексидола снижает концентрацию МДА и АГП (но не до уровня здоровых крыс) и нормализует активность каталазы. Этоксидол и соединение ХС-9 нормализует содержание МДА, снижает более существенно уровень АГП по сравнению с мексидолом, но не до значений контроля и повышает активность каталазы по сравнению с здоровыми животными (табл. 3).

Таблица 3

**Влияние производных 3-ГП на содержание продуктов ПОЛ
и активность каталазы при ЭОП (M±m)**

№ п/п	Условия опыта	МДА, мкмоль/л	АГП, мкмоль/л	Каталаза, мкат/л
1	Контроль	7,28±0,01	0,27±0,08	12,4±1,7
2	Изолированная лапаротомия	9,45±1,2	0,35±0,08	10,8±1,5
3	ОП	19,11±1,93 ^{*1,2}	7,20±0,07 ^{*1,2}	4,0±1,8 ^{*1,2}
4	ОП + мексидол	14,4±0,43 ^{*1-3}	2,3±0,12 ^{*1-3}	15,5±1,1 ^{*2,3}
5	ОП + этоксидол	8,42±1,62 ^{*3,4}	1,4±0,14 ^{*1-4}	17,2±1,3 ^{*1-3}
6	ОП + ХС-9	6,14±1,99 ^{*3,4}	1,32±0,08 ^{*1-4}	18,5±1,2 ^{*1-3}

Резюмируя полученные результаты, можно констатировать, что большей эффективностью в отношении изученных параметров адаптивного и врожденного иммунитета, оксидантных показателей обладает соединение под лабораторным шифром ХС-9, а по степени убывания эффективности за ним, соответственно, следуют этоксидол и мексидол.

Таким образом, применение мексидола и этоксидола, а после до- и клинических испытаний соединения ХС-9 позволит скорректировать иммунные и оксидантные нарушения у больных с острым панкреатитом и, как следствие, снизить число гнойных осложнений острого панкреатита.

Литература

1. Авдеева, Е.В. Влияние производных оксиникотиновой кислоты и 3-оксипиридина на функциональную активность полинуклеаров крыс / Е.В. Авдеева, А.И. Конопля, Л.Н. Сернов // Вестн. Уральской мед. академ. науки. – 2006. – № 3-1(14). – С. 102-104.
2. Алехин, С.А. Моделирование острого панкреатита у крыс / С.А. Алехин, Д.П. Назаренко, Р.А. Емельянов. – Курск, 2006. – 78 с.
3. Анишева, Т.Н. Иммунокорректирующие эффекты препаратов нуклеиновых кислот при экспериментальном остром панкреатите / Т.Н. Анишева, Н.А. Конопля // Человек и его здоровье. – 2005. – № 2. – С. 55-64.
4. Багненко, С.Ф. Острый панкреатит (протоколы диагностики и лечения) / С.Ф. Багненко. – СПб. : С.-Петербург. науч.-исслед. ин-т скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, 2004. – 35 с.
5. Гублер, Е.В. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях / Е.В. Гублер, А.А. Генкин. – Л. : Медицина, 1973. – 141 с.
6. Зауэр, Х. Метод иммунных розеток / Х. Зауэр // Иммунологические методы : пер. с нем. ; под ред. Г. Фримеля. – М. : Мир, 1987. – С. 273-282.
7. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова и др. // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19.
8. Медведев, А.Н. Способ исследования поглотительной фазы фагоцитоза / А.Н. Медведев, В.В. Чаленко // Лаб. дело. – 1991. – № 2. – С. 19-20.
9. Савельев, В.С. Руководство по неотложной хирургии органов брюшной полости / В.С. Савельев // Триада X, 2006. – 640 с.
10. Стальная, И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
11. Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях / Т.В. Федосеева, Л.В. Порядин, Л.В. Ковальчук и др. – М., 1993. – 319 с.



12. Шабанов, В.В. Роль цитокинов и других молекул в патогенезе острого панкреатита / В.В. Шабанов // Вестн. Рос. акад. мед. наук. – 2003. – № 9. – С. 44-47.

13. Щербаков, В.И. Применение НСТ-теста для оценки чувствительности нейтрофилов к стимуляторам / В.И. Щербаков // Лаб. дело. – 1989. – № 1. – С. 30-33.

EFFECTS OF DERIVATIVES 3-HYDROXYPIRIDIN IN CORRECTION OF THE IMMUNE AND OXYDANT INFRINGEMENTS AT THE EXPERIMENTAL ACUTE PANCREATITIS

V.A. RAGULINA¹

A.L. LOKTIONOV¹

A.I. KONOPLJA¹

M.V. POKROVSKY²

S.A. ALEHIN¹

T.G. POKROVSKAYA²

O.S. GUDYREV²

M.V. KOROKIN²

V.I. KOCHKAROV²

¹Kursk State Medical University

²Belgorod National Research University

e-mail: ala-loc@yandex.ru

At an experimental acute pancreatitis develops suppression of humoral and the cellular immune answer, functional activity of neutrophils of a peripheral blood, activity of a catalase decreases, processes peroxidations of lipids raise. Derivatives of 3-hydroxypyridin – meksidol, ethoksidol and bond with laboratory code number XC-9 possess immunomodulating, antioxidatic activity and on decrease of degree of efficiency settle down in a following order: XC-9 → ethoksidol → meksidol.

Key words: derivatives 3-hydroxypyridina, an experimental acute pancreatitis, meksidol, ethoksidol.