

головного и спинного мозга // Журн. невропатол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. – 1985. – Т. 85. №9. – С.1281-1288.

5. Шутов А.А., Пустоханова Л.В. Вегетативные нарушения в формировании клинических проявлений начальных форм сосудистых поражений головного мозга // Журн. не-

врол. и психиатр. им. С.С. Корсакова. – 1992. – №5. – С.59-61.

6. Ficek S.K., Wittrock D.A. Subjective stress and coping in recurrent tension-type headache // Headache. – 1995. – Vol. 35. №5. – P.455-460.

**Информация об авторе:** 664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера 54, e-mail: eshagdurova@mail.ru, Шагдурова Эржена Анатольевна – аспирант

© ДАНИЛИНА Т.В., БУШМЕНКОВ Д.С., МИРОНОВ А.Н., МАКАРОВА М.Н. – 2011  
УДК 616.37-002:615.24

### ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ ЯДА ГАДЮКИ ОБЫКНОВЕННОЙ В ОТНОШЕНИИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА

Татьяна Викторовна Данилина<sup>1</sup>, Дмитрий Сергеевич Бушменков<sup>1</sup>, Александр Николаевич Миронов<sup>1</sup>, Марина Николаевна Макарова<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>ФГУП «НПО «Микроген» Минздравсоцразвития России, генеральный директор – Л.В. Григорьев, управление регистрации и медицинских исследований, начальник – А.Е. Ершов; <sup>2</sup>ЗАО «Санкт-Петербургский институт фармации», генеральный директор – В.Г. Макаров)

**Резюме.** В данной статье представлены результаты лабораторно-экспериментального изучения препарата Сыворотка против яда гадюки обыкновенной (далее «Сыворотка») на модели острого панкреатита, в результате которого доказана высокая эффективность «Сыворотки» в отношении острого панкреатита, соизмеримая с эффективностью препарата октреатид.

**Ключевые слова:** сыворотка против яда гадюки, острый панкреатит, специфическая активность.

### STUDY OF SPECIFIC ACTIVITY OF SERUM AGAINST POISON OF VIPER ORDINARY CONCERNING ACUTE PANCREATITIS

T.V. Danilina<sup>1</sup>, D.S. Bushmenkov<sup>1</sup>, A.N. Mironov<sup>1</sup>, M.N. Makarova<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>FSUC «SIC «Microgen» MOHSD RF, Moscow; <sup>2</sup>St-Peterburg Institute of Pharmacy)

**Summary.** The results of laboratory-experimental study of the preparation Serum against poison of viper ordinary (further - Serum) on the model of acute pancreatitis have been presented. As a result of research, efficiency of the preparation concerning acute pancreatitis, comparable with the efficiency of preparation Sandostatin has been proved.

**Key words:** serum against poison of viper, acute pancreatitis, specific activity.

Острый панкреатит – одно из самых частых хирургических заболеваний органов брюшной полости. Несмотря на применение современных методов консервативного и оперативного лечения, летальность при остром панкреатите остается очень высокой, поэтому разработка эффективных методов лечения остается актуальной. Клинически и патогенетически острый панкреатит сходен с состоянием, которое развивается при отравлении змеиным ядом (сем. гадюковых). Химически яд гадюки представляет собой высококонцентрированный раствор пищеварительных ферментов, которые напоминают по своей структуре ферменты секрета поджелудочной железы (сериновые протеазы – трипсин, химотрипсин, эластазу). В литературе описаны случаи возникновения острого панкреатита после укуса змеи [9]. Учитывая эти данные, проведено лабораторно-экспериментальное исследование по изучению специфической активности «Сыворотки» в отношении острого панкреатита.

Цель работы: изучение специфической активности Сыворотки против яда гадюки обыкновенной в отношении острого панкреатита.

#### Материалы и методы

Исследование проводили на лабораторно-экспериментальной базе – ЗАО «СПб институт фармации» в соответствии с требованиями нормативной документации Российской Федерации. Перед началом исследования протокол рассматривался и утверждался Комиссией по биоэтике на предмет соответствия принципам гуманного обращения с лабораторными животными. Исследование проводили на Калифорнийских кроликах-самцах. Количество животных, используемое в исследовании, было достаточно для получения стати-

стически значимых результатов. В течение 14 дней до включения в исследование животные проходили период адаптации. В экспериментальные группы отбирали животных без признаков отклонения внешнего вида методом рандомизации. Индукцию острого панкреатита осуществляли путем перевязки большого протока поджелудочной железы с одновременной стимуляцией функции поджелудочной железы пероральным введением метформина. Оперативное вмешательство по перевязке большого протока поджелудочной железы проводили под наркозом. В качестве анестезирующего вещества был использован «Золетил-50». В течение первых суток после операции животные находились под наблюдением, на 4 сутки было начато введение исследуемых препаратов. В качестве препарата сравнения был использован Сандостатин, который используется в хирургической практике для лечения острого панкреатита. Дизайн исследования представлен в таблице 1.

Исследуемые препараты вводили в течение трех дней, начиная с 4 суток после оперативного вмешательства. Дозы для введения препаратов рассчитывали на основании данных массы тела животных. Внутривенное введение осуществляли в краевую вену уха кролика. Подкожное введение производили в область холки. Клинический осмотр каждого животного проводили один раз до начала введения и ежедневно в последующем.

В течение эксперимента производили определение биохимических показателей сыворотки крови – АСТ, АЛТ,  $\alpha$ -амилазы, билирубина, щелочной фосфатазы, компонентов калликреин-кининовой системы крови ( $\alpha$ -1-протеиназный ингибитор,  $\alpha$ -2-макроглобулин, 12- $\alpha$ -калликреин зависимый фибринолиз); гематологических показателей – СОЭ, лейкоцитарной формулы. Забор крови на лабораторные исследования осуществляли из краевой вены уха.

Таблица 1

## Характеристика экспериментальных групп

№ группы	Количество животных	Способ введения	Препарат/ схема лечения
1 группа (интактная)	3	Подкожно	Раствор NaCl, 0,9% 3 раза/сут в течение 3 сут
2 группа (контрольная)	4	Внутривенно	Раствор NaCl, 0,9% 1 раз/сут – 3 сут
3 группа (контрольная)	4	Подкожно	Раствор NaCl, 0,9% 3 раза/сут в течение 3-х дней
4 группа (сравнения)	6	Подкожно	«Сандостатин» 100 мкг 3 раза/сут по 100 мкг в течение 3 сут
5 группа (опытная)	6	Внутривенно	«Сыворотка против яда гадюки обыкновенной» по схеме: 1 сут – 900 АЕ 2 сут – 750 АЕ 3 сут – 600 АЕ
6 группа (опытная)	6	Внутривенно	«Сыворотка против яда гадюки обыкновенной» по схеме: 1 сут – 750 АЕ 2 сут – 600 АЕ 3 сут – 450 АЕ
7 группа (опытная)	6	Внутривенно	«Сыворотка против яда гадюки обыкновенной» по схеме: 1 сут – 600 АЕ 2 сут – 450 АЕ 3 сут – 300 АЕ
8 группа (опытная)	6	Внутривенно	«Сыворотка против яда гадюки обыкновенной» по схеме: 1 сут – 450 АЕ 2 сут – 300 АЕ 3 сут – 150 АЕ
9 группа (опытная)	6	Внутривенно	«Сыворотка против яда гадюки обыкновенной» по схеме: 1 сут – 900 АЕ 2 сут – 600 АЕ 3 сут – 300 АЕ
10 группа (опытная)	6	Внутривенно	«Сыворотка против яда гадюки обыкновенной» по схеме: 1 сут – 750 АЕ 2 сут – 450 АЕ 3 сут – 150 АЕ

На 8 сутки исследования экспериментальных животных подвергали эвтаназии методом воздушной эмболии, после чего проводили патоморфологическое исследование.

Для комплексной оценки экспериментальных данных вводили ранжирование: интактной группе присваивали минимальный ранг, далее ранги присваивались по мере негативного сдвига показателя.

Для проведения статистической обработки полученных результатов были использована программа Statistica 6.0. Для всех данных была применена описательная статистика. Статистически значимые отличия определялись при уровне  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

Во всех экспериментальных группах, за исключением интактной, наблюдались клинические симптомы интоксикации: пониженная активность, ослабление мышечного тонуса, вялость, выпадение шерсти. Реакция на взятие в руки была у всех низкой, вокализация при перемещении у всех отсутствовала. Прирост массы тела животных в течение эксперимента в интактной группе животных не прекращался, в экс-

периментальных группах с острым панкреатитом прирост массы тела был равен нулю или же отрицателен. У животных, получавших «Сыворотку», наблюдалась менее выраженная потеря массы тела.

Гибель животных регистрировалась в четырех экспериментальных группах. В таблице 2 приведены данные по гибели экспериментальных животных.

Как видно из таблицы 3, в экспериментальных группах показатель смертности был несколько ниже, за исключением группы животных, получавших исследуемый препарат «Сыворотка против яда гадюки обыкновенной» по схеме «900/750/600». В группах животных, получавших препарат Сандостатин и «Сыворотку» согласно схемам 750/600/450, 600/450/300, 450/300/150 и 900/600/300, летальных случаев зарегистрировано не было.

По данным лабораторных исследований установлено, что моделирование острого панкреатита в асептических условиях приводило к развитию асептического воспаления, которое характеризовалось слабо выраженным сдвигом в лейкоцитарной формуле крови и увеличением СОЭ. Применение исследуемых препаратов (Сандостатина и «Сыворотки») не оказывало существенных изменений в картине клинического анализа крови, однако в некоторых исследуемых группах показатели СОЭ и лейкоцитарный сдвиг были менее выраженными.

По данным биохимического анализа, отмечалась тенденция к снижению уровня а-амилазы при применении «Сыворотки» согласно схемам 900/750/600 и 450/300/150. Наиболее эффективен оказался исследуемый препарат, применяемый по схеме 750/600/450. Данные по оценке этого показателя представлены в таблице 3.

Таблица 2

## Уровень смертности животных в течение 7 суток эксперимента

№	Группа	Пало		Выжило	% смертности до введения	% смертности в период введения препаратов	Ранг * 10
		1-3 сутки	4-7 сутки		1-3 сутки	4-7 сутки	4-7 сутки
1	Интактная	0	0	3	0	0	10
2	Контроль 1	2	0	2	50	0	10
3	Контроль 2	1	0	3	25	0	10
4	Сандостатин	0	0	6	0	0	10
5	900/750/600	1	1	4	33	25	20
6	750/600/450	0	0	6	0	0	10
7	600/450/300	0	0	6	0	0	10
8	450/300/150	0	0	6	0	0	10
9	900/600/300	0	0	6	0	0	10
10	750/450/150	1	0	5	17	0	10

*Примечание:* ранжирование влияния препаратов на уровень смертности производили по показателям гибели животных, начиная с 4 суток исследования (первый день введения препаратов). Показатель смертности в данной работе является критическим, поэтому ранг был умножен на 10 соответственно уровню значимости показателя.

Уровень билирубина и щелочной фосфатазы в крови экспериментальных животных с острым панкреатитом был намного выше, чем у интактных животных. Применение исследуемых препаратов приводило к

Таблица 3

Уровень а-амилазы в крови экспериментальных животных в динамике, МЕ/л, М±m

№	Группа	Сроки, сутки					
		0	3	4	5	6	7
1	Интактная	653±31 n=3	678±28 n=3	726±8 n=3	680±26 n=3	694±32 n=3	669±29 n=3
2	Контроль 1	946±211 n=3	2867±880 n=3	1896±625 n=2	1110±413 n=2	1259±263 n=2	639±279 n=2
3	Контроль 2	753±18 n=3	1952±630 n=3	2241±533 n=3	1742±489 n=3	1590±339 n=3	852±61 n=2
4	Сандостатин	735±101 n=6	3824±417 n=6	3220±437 n=6	1563±306 n=6	1424±245 n=4	902±58 n=5
5	900/750/600	689±57 n=5	2386±690 n=5	2445±838 n=4	1365±209 n=4	869±146 n=4	888±47 n=6
6	750/600/450	746±64 n=6	2115±467 n=6	1308±179 n=6	1417±243 n=6	1538±208 n=6	799±152 n=6
7	600/450/300	1009±101 n=6	1731±352 n=6	1261±323 n=6	1907±452 n=6	1683±298 n=6	1267±156 n=6
8	450/300/150	631±53 n=6	2365±372 n=6	2299±699 n=6	2361±687 n=6	978±45 n=5	1287±276 n=6
9	900/600/300	619±25 n=6	2613±460 n=6	2629±538 n=6	2255±580 n=5	2392±643 n=6	1539±597 n=5
10	750/450/150	566±23 n=5	1299±186 n=6	1377±543 n=3	1586±404 n=6	1102±277 n=5	889±801 n=5

снижению данных показателей с 3 по 7 сутки наблюдения. Наиболее эффективным оказалось введение

Таблица 4

Уровень билирубина в крови экспериментальных животных в динамике, мкмоль/л, М±m

№	Группа	Сроки, сутки					
		0	3	4	5	6	7
1	Интактная	8±1 n=3	7±2 n=3	6±1 n=3	8±1 n=3	7±1 n=3	6±1 n=3
2	Контроль 1	5±2 n=3	11±1 n=3	13±1 n=3	14±2 n=2	10±1 n=2	12±4 n=2
3	Контроль 2	6±1 n=4	12±1 n=4	13±1 n=4	14±1 n=3	10±2 n=3	11±1 n=2
4	Сандостатин	7±2 n=6	10±1 n=6	13±3 n=5	10±2 n=5	11±3 n=4	10±2 n=3
5	900/750/600	5±1 n=6	11±1 n=5	9±3 n=4	12±1 n=3	14±4 n=2	10±0 n=2
6	750/600/450	7±1 n=6	12±1 n=5	6±1 n=6	5±1 n=4	9±2 n=4	12±2 n=4
7	600/450/300	7±1 n=6	12±1 n=6	9±2 n=6	11±3 n=5	10±1 n=6	9±1 n=6
8	450/300/150	7±1 n=6	10±2 n=6	7±2 n=6	8±2 n=5	12±2 n=5	8±2 n=6
9	900/600/300	6±1 n=6	11±2 n=6	8±2 n=6	12±1 n=4	8±1 n=6	8±2 n=5
10	750/450/150	6±1 n=6	10±2 n=5	13±1 n=5	12±2 n=5	5±1 n=5	7±2 n=5

«Сыворотки» по схемам: 750/600/450 и 750/450/150. Результаты представлены в таблицах 4, 5.

Для оценки действия препарата на калликреин-кининовую систему использовалось определение альфа-2-макроглобулина. Наибольшей эффективностью в отношении уровня альфа-2-макроглобулина обладал препарат Сандостатин и «Сыворотка», применяемая согласно схемам 900/750/600 и 600/450/300.

По данным патоморфологического исследования установлено отсутствие патологических изменений в состоянии внутренних органов в интактной, контрольной и исследуемых группах, за исключением поджелудочной железы. Поджелудочная железа животных интактной группы не имела патологических изменений. В экспериментальных группах, наблюдались сходные изменения в поджелудочной железе. Макроскопически она выглядела в виде уплотненных белесовато-серых узлов в брыжейке двенадцатиперстной кишки. Панкреатический

проток был увеличен в размере, при разрезе выше лига-туры вытекало несколько капель мутноватой жидкости. Микроскопически поджелудочная железа имела дольчатое строение, между дольками наблюдались прослойки соединительной ткани. Жировая ткань была представлена в минимальном количестве, претерпевая дегенеративно-дистрофические или некротические изменения, по-видимому, вследствие активации ферментов поджелудочной железы (в частности липаз) и разрушении ими адипоцитов (жировой некроз или стеатонекроз). В участках стеатонекроза наблюдались очертания стенок адипоцитов в виде их теней, без ядер, часто разрушенных, обрывками лежащих вокруг долек поджелудочной желе-зы. Цитопротекторного дей-

ствия на ткань поджелудочной железы Сандостатина или «Сыворотки».

Таким образом, в ходе эксперимента установлена эффективность препарата Сыворотка против яда гадюки обыкновенной в отношении острого панкреатита, более выраженная в схемах: 900/600/300 АЕ и 750/600/450 АЕ. В этих схемах наблюдалась менее выраженная потеря массы тела, стабилизация гематологических и биохимических показателей, таких как билирубин, щелочная фосфатаза, альфа-2-макроглобулин.

Эффективность исследуемого препарата в отношении моделируемой патологии сравнимой с препаратом сравнения Сандостатин.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Земсков В.С. Стандарты (протоколы) диагностики и лечения заболеваний поджелудочной железы. – Киев, 2000. – 32 с.
2. Шлапак И.П., Мищенко Д.Л., Васильев Г.А. Острый панкреатит: профилактика и лечение панкреатической инфекции // Клиническая антибиотикотерапия. – 2004. – Т. 30. №4. – С.10-14.
3. Guideline for the format and content of nonclinical pharmacology/toxicology section of the application», U.S.A., U.S. department of health and human services. – U.S. government printing office, 1987. – 27 p.
4. Methods of determination of chemical substances toxicity and danger / Ed. by I.V. Sanotsky. – M.: Medicine, 1986. – 343 p.
5. Martikainen P., Nyman K., Nevalainen T.J. Toxic effects of human pancreatic and snake and bee venom phospholipases A2 on MCF-7 cells in culture // Toxicol. – 1993. – Vol. 31. №7. – P.835-843.
6. Rau B., Steinbach G., Gansauge F., et al. The potential role of procalcitonin and interleukin 8 in the prediction of infected necrosis in acute pancreatitis // Gut. – 1997. – Vol. 41. №6. – P.832- 840.
7. Takeda K., Takada T., Kawarada Y., et al. JPN Guidelines for the management of acute pancreatitis: medical management of acute pancreatitis // J Hepatobiliary Pancreat Surg. – 2006. – Vol. 13. – P.42-47.
8. Bergstrom K., et al. An Automated Turbidimetric Immunoassay for Plasma Proteins // J. Clin. Lab. Invest. – 1999. – Vol. 40. – P.637.
9. J. Toxicol. «Clin. Toxicol». – 2003. – Vol. 41. №4. – P.517-518, US.

Информация об авторах: 115088, г. Москва, ул. 1-ая Дубровская ФГУП «НПО Микроген» Минздравсоцразвития

Таблица 5  
Уровень щелочной фосфатазы в крови экспериментальных животных в динамике, Ед/л, М±m

№	Группа	Сроки, сутки					
		0	3	4	5	6	7
1	Интактная	105±7 n=3	106±8 n=3	106±3 n=3	95±5 n=3	95±3 n=3	104±11 n=2
2	Контроль 1	172±27 n=3	112±11 n=3	133±36 n=3	141±36 n=2	142±50 n=2	101±23 n=2
3	Контроль 2	171±5 n=4	155±7 n=4	154±16 n=4	155±18 n=3	144±13 n=3	134±5 n=2
4	Сандостатин	128±14 n=6	118±7 n=6	113±8 n=5	115±11 n=6	117±15 n=4	131±27 n=3
5	900/750/600	178±8 n=6	130±15 n=5	160±19 n=4	149±25 n=3	159±23 n=4	158±24 n=4
6	750/600/450	155±18 n=6	125±16 n=6	147±27 n=6	136±10 n=4	145±15 n=4	108±21 n=6
7	600/450/300	156±11 n=6	124±7 n=6	126±6 n=6	134±4 n=6	135±5 n=6	105±9 n=6
8	450/300/150	148±17 n=6	134±11 n=6	124±14 n=6	129±7 n=5	86±11 n=5	127±11 n=5
9	900/600/300	158±26 n=6	112±18 n=4	121±7 n=6	87±9 n=4	118±8 n=5	137±9 n=5
10	750/450/150	203±11 n=6	135±2 n=5	106±5 n=5	139±6 n=5	131±8 n=5	128±8 n=5

© ПУРЛИК И.Л., ПЕРЕЛЬМУТЕР В.М., БЕЛОБОРОДОВА Е.В. – 2011  
УДК 616.36-002.2-06-006.327-036-076

#### ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИЗБЫТОЧНОГО ФИБРОЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ С ПО ПЕРВИЧНОЙ БИОПСИИ

Игорь Леонидович Пурлик, Владимир Михайлович Перельмутер, Екатерина Витальевна Белобородова  
(Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, ректор – член-корр. РАМН, д.м.н., проф. В.В. Новицкий, кафедра патологической анатомии, зав. – д.м.н., проф. В.М. Перельмутер)

**Резюме.** Исследовался биопсийный материал от 201 больного хроническим вирусным гепатитом С в форме моноинфекции. Методом логистической регрессии определены морфологические признаки, определяющие будущий тяжелый склероз. Установлено, что сегментальный фиброз ассоциирован с выраженностью внутриклеточного холестаза, перигепатоцеллюлярного фиброза, мелкокапельной жировой дистрофией, пролиферацией желчных протоков.

**Ключевые слова:** хронический вирусный гепатит С, прогнозирование фиброза, морфология.

#### THE POSSIBILITY OF PREDICTION OF EXCESS FIBROSIS WITH THE HELP OF FIRST BIOPSY IN CHRONIC VIRAL HEPATITIS C

I.L. Purlik, V.M. Perelmuter, E.V. Beloborodova  
(Siberian State Medical University, Tomsk)

**Summary.** We studied biopsy material taken from 201 patients with chronic hepatitis C in the form of mono-infection. The morphological features, determining future severe sclerosis have been defined by the method of logistic regression. It has been established that septal fibrosis is associated with the expressiveness of intracellular cholestasis, perisinusoidal fibrosis, microvesicular steatosis and proliferation of bile ducts.

**Key words:** chronic viral hepatitis C, alcoholic disease, prediction of fibrosis, morphology.

Эпидемиологическую ситуацию с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) в Российской Федерации следует считать неблагоприятной [1,2,4]. Течение заболевания становится все менее предсказуемым, что часто не позволяет прогнозировать течение патологического процесса. Это касается характера и темпов предцирротической, цирротической трансформаций.

В настоящее время уточнено, что основными факторами скорого фиброза является возраст инфицирования, мужской пол, способ инфицирования, вирусная нагрузка, перегрузка железом и генотип вируса [10,13]. Возможности прижизненного морфологического исследования, к сожалению, чаще всего ограничиваются регистрацией степени активности и стадии хронизации, нередко с констатацией уже имеющегося цирроза. Используемая шкала оценки (METAVIR) биопсий печени подразумевает учет только ступенчатых, зональных некрозов, характера фиброза, игнорируя при этом дру-

гие дистрофические, воспалительные и прочие составляющие всего многообразия обнаруживаемых морфологических изменений в биоптате [12].

В этой связи существует настоятельная необходимость в уточнении возможности прогнозирования прогрессирующего фиброза по данным первичной, часто единственной, биопсии с выявлением морфологических параметров, определяющих избыточное коллагенообразование.

Цель работы: установить прогностические морфологические признаки избыточного коллагенообразования при ХВГС при изолированном течении по данным первичной биопсии.

#### Материалы и методы

Изучался биопсийный материал, полученный от 201 больного ХВГС за период наблюдения на базе отделе-