

ООО «НИИ Митоинженерии МГУ»

"УТВЕРЖДАЮ"

Директор ООО "НИИ Митоинженерии МГУ"

Скулачев И.В.



23 марта 2012 г.

ОТЧЕТ

О ДОКЛИНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

Исследование влияния введения препарата под рабочим названием
«Панкреол» на течение острого панкреатита у крыс Wistar.

№22. КОММЕРЧЕСКАЯ ТАЙНА	
ООО "АлексАни"	
141707, М.О., г. Долгопрудный, ул. Виноградная, д.13	
Распорядитель. Давыденков Валерий Николаевич	
Допуск	<i>Научной группой</i>
Дата <i>23.03.12</i>	Кол-во экз. <i>170/300 экз.</i>

Москва

2012

Название исследования: Исследование влияния введения препарата под рабочим названием «Панкреол» на течение острого панкреатита у крыс Wistar.

Цель исследования: Получить данные о влиянии введения препарата под рабочим названием «Панкреол» по результатам биохимического и гистологического исследований на модели острого панкреатита у крыс Wistar.

Задачи исследования:

- 1) Отработка модели развития острого панкреатита путем однократного внутрибрюшинного введения аргинина в дозе 100 мг/100 гр.
- 2) Оценить биохимические эффекты данного введения на 2,4 и 6 сутки после введения аргинина.
- 3) Оценить влияние введения препарата с помощью гистологического исследования печени, поджелудочной железы.

Заказчик исследования:

ООО «АлексАнн»

Адрес: 141707, Московская область, Московская область, г. Долгопрудный, ул. Виноградная, д.13.

Центр исследования:

ВЭК НИИ Митоинженерии МГУ,

Адрес: 119992, г. Москва, Ленинские горы, вл.1, стр. 73, тел.930-10-67,
e-mail: vek.msu@gmail.com

Сроки проведения исследования: 1 февраля – 23 марта 2012 г.

Руководитель исследования:

Ст. преп. кафедры физиологии человека и животных

биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова,

заведующий ВЭК «НИИ Митоинженерии МГУ»,

к.б.н.

23.03.12 Ловат Ловат М.Л.

дата, подпись

Исследователи:

Ведущий научный сотрудник НИИ

ООО «НИИ Митоинженерии МГУ»,

к.б.н.

23.03.12 Белопольская Белопольская М.В.

дата, подпись

Старший научный сотрудник кафедры

высшей нервной деятельности

биологического факультета МГУ

им. М.В. Ломоносова, к.б.н.

23.03.2012 Рудько Рудько О.И.

дата, подпись

Стажер ООО «НИИ Митоинженерии МГУ»,

аспирант кафедры ФЧЖ биологического факультета

МГУ им. М.В. Ломоносова

23.03.12 Ефимова Ефимова Е.В.

дата, подпись

Зав. лаборатории патоморфологии

ООО «НИИ Митоинженерии МГУ»,

ст.н.с., к.м.н.

23.03.2012 Манских Манских В.Н.

дата, подпись

Экспериментальное исследование проведено в соответствии с:

- Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies (FDA, 21 CFR Part 58, 22 декабря 1978 г.),
- OECD Principles on Good Laboratory Practice (OECD, ENV/MC/CHEM(98)17, 1997 г.).
- Приказ МЗ РФ N 708 от 23 августа 2010 г. Об утверждении правил лабораторной практики (GLP);
- «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», Москва, 2005 г.,
- СОП № 11И, 15И, 17И, 18И, 6Ж

В процессе эксперимента были зарегистрированы отклонения, влияющие на ход исследования:

№ отклонения	Тип отклонения	Описание отклонения	Подпись Дата	Влияние на ход исследования (Да\Нет)
1	Отклонение от протокола исследования	После введения первой дозы аргинина погибла часть животных. В связи с этим было решено не вводить вторую дозу аргинина.		Нет

Реферат

Острый панкреатит, модель, аргинин, панкреол, лечение

Несмотря на лечение, летальность острых тяжелых форм панкреатита все еще остается высокой (20-30 %). Поэтому в настоящее время актуальность поиска эффективных лекарственных средств для лечения острого панкреатита представляется весьма актуальной.

Острый панкреатит моделировали однократным внутривенным введением Аргинина в дозе 100 мг/100 грамм веса крысы.

В рамках исследования использован препарат «Панкреол», содержащий в своем составе биологически активные соединения растений *Berberis vulgaris*, *Lycoperidium*, *Taraxacum*, *Chamomilla*, *Belladonna* (а именно, берберин, ликоподин, хамазулен, атропин, фитостерины, инулин, холин, никотиновую кислоту, глицериды олеиновой, стеариновой, пальмитиновой кислот) и кальция карбонат. Активные компоненты находятся в сверхмалых дозах. По степени воздействия на организм лекарственный препарат относится к веществам малоопасным (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), не обладает местно-раздражающим и сенсibiliзирующим действием.

По результатам проведенного исследования препарат под рабочим названием «Панкреол» в дозе 0,1 мл/100 гр. нормализует состояние животных после моделирования состояния острого панкреатита. Введение препарата в дозе 0,35 мл/100 гр. способствует восстановлению уровня липазы до контрольных значений, что косвенно может свидетельствовать о нормализации экзокринной функции поджелудочной железы.

Содержание:

	Стр.
1. Реферат	5
2. Введение	7
3. Материалы и методы	8
3.1. Приборы и материалы	8
3.2. Экспериментальные животные	8
3.3. Дизайн исследования	9
3.4. Статистическая обработка результатов	11
4. Результаты и обсуждение	11
5. Выводы	19
6. Протокол эксперимента	20
7. Список литературы	21

2. Введение:

Несмотря на лечение, летальность острых тяжелых форм панкреатита все еще остается высокой (20-30 %). Отдельной проблемой является высокая вероятность последующего развития экзокринной и эндокринной недостаточности поджелудочной железы. Поэтому в настоящее время актуальность поиска эффективных лекарственных средств для лечения острого панкреатита и профилактики последующей экзокринной недостаточности представляется весьма актуальной.

В 1984, Mizunuma и др. описал новую модель экспериментального панкреонекроза, вызванную внутрибрюшинным введением большей дозы L-аргинина крысам. Эта модель нетравматична, очень хорошо воспроизводится и приводит к дозозависимому некрозу ацинарных клеток. После однократного интраперитонеальной инъекции Аргинина в дозе 500 мг/100гр массы тела, клетки печени демонстрировали вакуолярную дегенерацию. В жировых тканях вокруг поджелудочной железы возникал жировой некроз. В то же время, в почках не наблюдалось дегенеративных изменений. Не было никаких изменений в весе различных органов (печень, почка, селезенка, тимус), за исключением поджелудочной железы. Из-за развития панкреатита вес поджелудочной железы практически удвоился к концу первых 24 часов после введения Аргинина. Никаких патологических признаков не наблюдалось в легком, сердце, кишечнике, яичках, селезенке и тимусе [1]. После первого эксперимента Kishino и др. исследовал поджелудочную железу с помощью электронного микроскопа [2]. Они обнаружили, что дегенерация органа началась с разрушения эндоплазматического ретикулума. Спустя сорок восемь часов после введения Аргинина наблюдалось диссоциация и некроз ацинарных клеток. Впоследствии, некротические клетки были заменены интраститиальной тканью, содержащей лейкоциты и фибробласты. Ранние морфологические изменения ацинарных клеток могут быть связаны с разрушением эндоплазматического ретикулума. Тапи и др. продолжал эту работу, наблюдая эффект введения Аргинина на поджелудочную железу [3]. Они доказали, что высокие дозы Аргинина могут вызвать тяжелый острый панкреонекроз. Тапи и др. попробовали использовать более высокие дозы Аргинина, но оказалось, что

Аргинин в дозе больше, чем 500 мг/100 гр. приводил к гибели большинства крыс в течение нескольких часов [3]. Однократное введение Аргинина в дозе 500 мг/100 гр приводило к гибели 70-80 % панкреатических ацинарных клеток в течение трех дней [3]. Когда крысам ввели дополнительные 3 инъекции Аргинина в дозе 250 мг/100гр. наблюдалась ацинарная деструкция до 90 % клеток [4]. Самое длительное введение Аргинина выполнил Weaver et al. Ежедневное назначение Аргинина в дозе 350 мг/100 гр. в течение 30 дней заканчивался тяжелым панкреатическим некрозом [5]. Большинство авторов, которые изучали патологические механизмы острого панкреатита использовали дозу Аргинина 250 мг/100 гр. дважды в интервале одного часа [6-8]. Для изучения лечения панкреатита с помощью введения различных лекарственных средств дозу Аргинина снижали до 200 мг/100 гр. внутривенно, дважды с интервалом в 1 час [9,10].

3. Материалы и методы:

3.1. Приборы и материалы

Для проведения исследования были использованы следующие приборы и материалы:

Весы лабораторные электронные AJ-CE/AJH-CE, Vibra, Japan

Пробирки полипропиленовые 1,5 мл., Scientific Specialties Inc, USA

Пробирки полипропиленовые 50 мл., SPL, China

Автоматические дозаторы 10 – 100 мкл и 10-100 мкл Eppendorf, Germany

Шприцы одноразовые 5,6,10 мл производство Becton Dickinson (Испания)

Вода (CAS 7732-18-5, Millipore Milli-Q PLUS ($R \geq 18,2$ МОм·см))

Фосфатный буфер (Helicon, Am-E404-100, LOT 3600C172)

L-аргинин (Merck, K40829187)

3.2. Экспериментальные животные

В работе использованы половозрелые самцы крыс, сток Wistar, количество – 40 особей. Вес 300-400 гр., возраст при поставке: 12-14 недель. Животные содержались группами по 5-6 животных в клетке, в условиях свободного доступа к воде и корму при световом режиме 12/12, в хорошо вентилируемых помещениях (кратность 10-12 об/ч стерильным ламинарным потоком) с температурой воздуха 20-24С, влажностью 30-70%. В первые сутки эксперимента был ограничен доступ крыс к корму. Для исключения появления патогенной флоры в помещениях ежедневно проводились мероприятия по дезинфекции с помощью профессиональных дезинфицирующих средств (Лайна-Мед, Россия).

3.3. Дизайн исследования:

Для получения адекватных результатов необходимо было произвести ранжирование животных на 5 групп, гомогенных по весу и уровню биохимических показателей плазмы крови. Взвешивание животных проводили на технических весах с точностью ± 0.1 г. согласно СОП «Процедура взвешивания животных» (СОП № 11И).

За сутки до моделирования острого панкреатита проводили биохимический анализ крови, взятой из хвоста согласно СОП № 15И «Процедура взятия проб крови путем ампутации кончика хвоста у мышей и крыс» и ранжирование крыс по уровню ферментов в крови (см. приложение).

Острый панкреатит моделировали двукратным внутрибрюшинным введением Аргинина в дозе 100 мг/100 грамм веса крысы (всего 200 мг/100 грамм). Второе введение Аргинина должно осуществляться через 12 часов после первого. Аргинин вводили в виде 20% раствора, приготовленного на фосфатном буфере рН 6.8 (объеме примерно 2,5 мл).

Экспериментальные группы:

1. «**Интактная группа**» (n=5) – животным проведена инъекция физ. раствора, внутрибрюшинно. Объем вводимого раствора аналогичен объему, вводимому животным экспериментальных групп.
2. «**Контрольная группа**» (n=9) – животным через 6 часов после второго введения Аргинина вводится физ.р-р подкожно, в две точки спины за передней лапой, в дозе 1 мл/100 грамм веса два раза в день, ежедневно, в течение 6 суток.
3. «**Экспериментальная группа 0,035**» (n=8) – животным через 6 часов после второго введения Аргинина вводится препарат Панкреол подкожно, в две точки спины за передней лапой, в дозе 0,035 мл/100 гр. (0,12 мл на крысу), два раза в день, ежедневно, в течение 6 суток.
4. «**Экспериментальная группа 0,1**» (n=9) – животным через 6 часов после второго введения Аргинина вводится препарат Панкреол подкожно, в две точки спины за передней лапой, в дозе 0,1 мл/100 гр. (0,3 мл на крысу), два раза в день, ежедневно, в течение 6 суток.
5. «**Экспериментальная группа 0,35**» (n=9) – животным через 6 часов после второго введения Аргинина вводится препарат Панкреол подкожно, в две точки спины за передней лапой, в дозе 0,35 мл/100 гр. (1,2 мл на крысу), два раза в день, ежедневно, в течение 6 суток.

Первый раз Панкреол вводят через 6 часов после второго введения аргинина. После первого введения Панкреола через 6 часов следует второе введение Панкреола (первые сутки два раза в день - примерно в 13.00 и 18-19.00). Далее введение Панкреола производилось каждый день два раза в день, (утром и вечером) в течение 4-х дней. На второй и четвертый день после введения аргинина проводилось взятие крови из хвоста на биохимический анализ согласно СОП № 15И «Процедура взятия проб крови путем ампутации кончика хвоста у мышей и крыс», а также эвтаназия одного животного из каждой группы и забор печени, поджелудочной железы и тонкого кишечника на гистологический анализ.

На 6-е сутки после введения аргинина животных эвтаназировали согласно СОП № 6Ж «Процедура эвтаназии грызунов углекислым газом». Кровь отбиралась из сердца животных согласно СОП № 17И «Процедура взятия проб крови из камер сердца у мышей и крыс». У 3-5 крыс из каждой группы отбирали печень, поджелудочную железу и тонкий кишечник для гистологического исследования, определяли соотношение массы поджелудочной железы к массе тела.

Методы исследования:

Биохимический анализ

Собранная в пробирку кровь отстаивается при комнатной температуре в течение 30 минут. После этого центрифугируется при 5000 об. в течение 5 минут. После этого отбирается супернатант и, при необходимости, хранится при -80 °С. Анализ проводится при помощи Биохимического автоматического анализатора А-25 (Biosystems). Определяемые биохимические параметры: амилаза, глюкоза, триглицериды, аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза.

Гистологический анализ

Для гистологического исследования брались образцы и фиксировались в 10% растворе формалина. Образцы обрабатывали с помощью общепринятых методов: после стандартной проводки по спиртам образцы заливают парафином и готовят срезы толщиной 5-6 мкм, которые окрашивают гематоксилин-эозином. Анализ гистологических препаратов проводили под световым микроскопом.

3.4. Статистический анализ

Статистическая обработка данных проводилась с помощью непараметрических (критерии Манна-Уитни, Вилкоксона, Фишера).

4. Результаты и обсуждение

В процессе исследования произошло два отклонения от протокола проведения эксперимента. Они были связаны с гибелью 5 животных после внутрибрюшинного введения им первой дозы аргинина 100 мг/100 грамм веса. В связи с этим вторую дозу аргинина было решено не вводить. Соответственно первую дозу Панкреола животные экспериментальных групп получили через 12 часов после введения аргинина.

На первые сутки после введения аргинина погибло трое животных, по одной из групп интактного контроля, Панкреола в дозах 0,035, 0,35 мл/100 гр.

После внутрибрюшинного введения аргинина у животных экспериментальных групп наблюдались заторможенность, оглушение, нарушение дыхания, судороги. Во все дни эксперимента у экспериментальных животных, в отличие от группы интактного контроля, отмечались заторможенность, вялость, диарея, взъерошенность шерсти, кифоз, бледность кожных покровов, общее состояние слабости. У большинства животных наблюдался болевой синдром (вокализация при прикосновении и манипуляциях).

На второй день после введения аргинина были оценены биохимические параметры в сыворотке крови экспериментальных животных (Рис.1, Табл. 1).

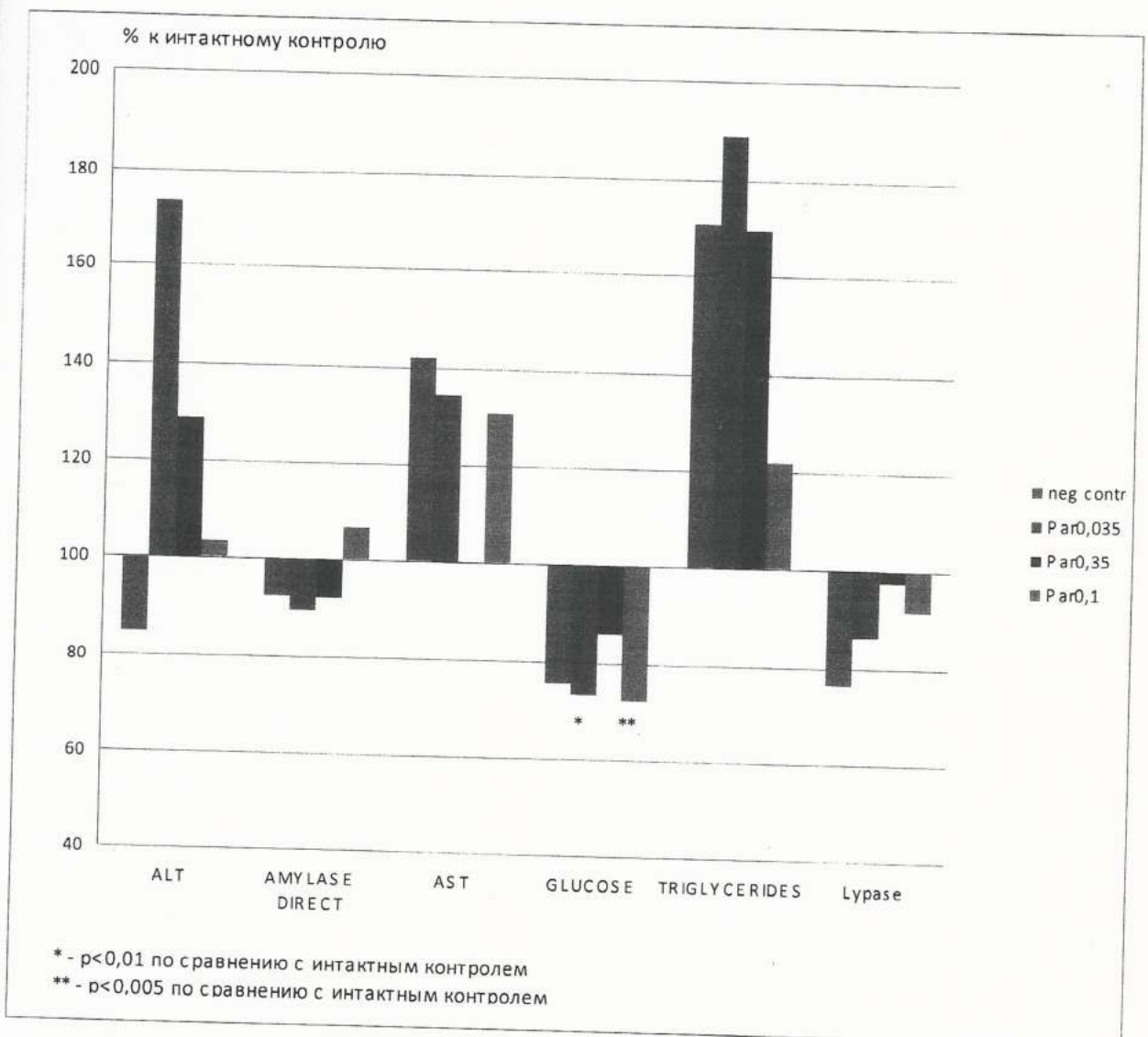
Таблица 1. Уровень биохимических параметров в крови животных после лечения Панкреолом на 2-е сутки (через 36 часов) после моделирования острого панкреатита (u/L±станд.ошибка среднего).

	ALT	AMYLASE DIRECT	AST	GLUCOSE (mmol/L)	TRIGLY CERIDES (mmol/L)	Lypase
Интактный контроль	70,4000 ±8,05978	608,2 ±23,62499	210,800 ±32,96574	7,0400 ±0,24617	1,0700 ±0,06892	28,6600 ±9,3912
Негативный контроль	59,6000 ±7,44715	562,800 ±46,72515	299,400 ±24,18801	5,3400 ±0,46217	1,8260 ±0,40066	21,9600 ±6,11037
Группа 0,035	68,7500 ±11,9399 5	544,200 ±22,84601	283,800 ±45,43941	5,2000 ±0,41352 *	2,0260 ±0,53193	24,8 ± 1,43788
Группа 0,1	72,7143 ±11,7751	648,8571 ±71,44943	275,8571 ±35,32194	5,1143 ±0,68502 **	1,3057 ±0,26006	26,3143 ± 5,63946
Группа 0,35	90,8333 ±17,1589	559,6667 ±62,27395	210,500 ±55,46936	6,0667 ±0,41687	1,8133 ±0,63700	27,9167 ±9,55219

*- $p < 0,01$ по сравнению с интактным контролем

** - $p < 0,005$ по сравнению с интактным контролем

Рис. 1. Уровень биохимических показателей (u/L и mmol/L для глюкозы и триглицеридов) в крови животных после лечения Панкреолом в дозе 0,035, 0,35 и 0,1 мл/100 гр на 2-е сутки (через 36 часов) после моделирования острого панкреатита.



Из рисунка видно, что достоверно снижен уровень глюкозы у крыс, которым вводили аргинин и Панкреол в дозах 0,035 ($p < 0,01$) и 0,35 ($p < 0,05$) мл /100 гр. А уровень глюкозы в группе крыс, получавших Панкреол в дозе 0,35 мл/100 грамм, приближен к уровню интактного контроля.

Уровень амилазы после введения аргинина снизился во всех группах, кроме группы животных, которые получали Панкреол в дозе 0,1 мл/100 гр. В этой группе животных уровень амилазы был незначительно повышен по сравнению со всеми группами и был сравним с уровнем амилазы у интактного контроля. Известно, что снижение уровня амилазы наблюдается при некрозе клеток поджелудочной железы.

Уровень АЛТ был недостоверно повышен во всех трех экспериментальных группах, которым вводили Панкреол, по сравнению с негативным контролем и был сравним с уровнем АЛТ в интактном контроле, что свидетельствует о благотворном влиянии всех трех дозировок Панкреола на уровень данного фермента.

Уровень АСТ несущественно повысился во всех группах животных, которым вводили аргинин, кроме группы, которая получала Панкреол в дозе 0,35 мл/100 гр. Повышение уровня АСТ, сопряженное с разрушением клеток, свидетельствует о состоянии острого панкреатита у крыс, которым вводили аргинин.

Уровень триглицеридов недостоверно повысился после введения аргинина. Однако в группе крыс, которые получали Панкреол в дозе 0,1 мл/100 гр. уровень триглицеридов был приближен к уровню интактных животных.

Уровень липазы снижался в группе крыс, которым вводили аргинин и Панкреол в дозе 0,035 мл/100 гр., что может свидетельствовать о тяжелой степени интоксикации организма. В группах крыс, которым вводили аргинин и Панкреол в дозах 0,35 и 0,1 мл/100 гр., уровень липазы был сходен с интактным контролем. В группе негативного контроля было отмечено незначительное снижение уровня этого фермента в крови относительно интактного контроля. (Во всех остальных группах не было отмечено влияния на уровень данного фермента). По-видимому, повышение уровня липазы, являющееся маркером состояния острого панкреатита, наблюдалось в первые сутки после введения аргинина, а снижение уровня этого фермента в крови может быть связано с повреждением ацинарных клеток под действием аргинина.

Таким образом, на второй день после введения аргинина, биохимические показатели крови свидетельствуют о развитии острого панкреатита, сопровождающегося повреждением ацинарных клеток (некрозом), и тяжелой интоксикации у животных. При введении высоких доз Панкреола - 0,35 и 0,1 мл/100 гр – отмечается тенденция к нормализации состояния крыс.

На четвертый день после введения аргинина состоялся следующий забор крови у животных для проведения биохимического анализа. Сводные результаты представлены в таблице 2 и рис.2.

Различия в показателях между группами весьма незначительны. Можно отметить, что уровень амилазы снижен относительно интактного контроля во всех группах после введения аргинина, кроме животных, которые получали Панкреол в дозе 0,1 мл/100 гр.

Таблица 2. Уровень биохимических параметров в крови животных после лечения Панкреолом на 4 сутки (через 84 часа) после моделирования острого панкреатита ($u/L \pm$ станд.ошибка среднего).

Группы	ALT	AMYLASE DIRECT	AST	GLUCOSE (mmol/L)	TRIGLYCERIDES (mmol/L)	Lypase
Интактный контроль	61,4 \pm 6,38	577,6 \pm 44,99	217,6 \pm 16,95	6,72 \pm 0,27	0,59 \pm 0,23	25,15 \pm 7,606740
Негативный контроль	54,0 \pm 5,67	529,5 \pm 48,73	207,8 \pm 8,34	6,65 \pm 0,50	1,23 \pm 0,82	15,15 \pm 1,759498
Группа 0,035	61,2 \pm 9,60	545,2 \pm 28,95	213,8 \pm 29,85	6,66 \pm 0,13	1,3 \pm 0,94	19,64 \pm 1,208967
Группа 0,1	56,0 \pm 8,61	611,8 \pm 83,95	201,0 \pm 33,05	6,73 \pm 0,35	2,14 \pm 1,02	20,30 \pm 2,900575
Группа 0,35	51,0 \pm 5,59	515,6 \pm 25,46	214,7 \pm 18,53	5,89 \pm 0,37	0,6 \pm 0,28	17,14 \pm 4,232

В группе негативного контроля продолжается снижение уровня липазы в крови, и на 4-й день после введения аргинина это был самый низкий уровень этого фермента в крови по сравнению с другими группами. В группе животных, которым вводили Панкреол в дозе 0,35 мл/100 гр. веса также отмечается тенденция к снижению уровня липазы, но при этом уровень триглицеридов в крови был сходен с показателями группы интактного контроля. Изменение уровня липазы у животных, которым вводили Панкреол в дозе 0,1 и 0,35 мл/100 гр. по сравнению с интактным контролем было менее значимым.

Уровень глюкозы во всех группах находился в пределах физиологической нормы.

Таким образом, также наблюдается тенденция к нормализации состояния животных после введения Панкреола в дозе 0,35 и 0,1 мл/100 гр.

На шестой день после введения аргинина проводилась эвтаназия животных и забор крови для оценки биохимических показателей. Сводные результаты представлены в таблице 3 и на рисунке 3.

Из таблицы видно, что достоверно снижен уровень АСТ в группе животных, получавшей Панкреол в дозе 0,35 мл/100 гр. по сравнению интактным контролем. В группе животных, получавшей Панкреол в дозе 0,1 мл/100 гр., достоверно повышен уровень глюкозы по сравнению с интактным и негативным контролем. Следует отметить, что уровень АСТ у животных интактного контроля был выше, чем в предыдущие дни наблюдения. Кроме того, у интактных животных уровень глюкозы был ниже по сравнению с предыдущими значениями. Повышение уровня глюкозы в пределах

физиологически нормальных значений у крыс, получавших Панкреол, может свидетельствовать о нормализации функции поджелудочной железы (по сравнению с группой негативного контроля).

Таблица 3. Уровень биохимических параметров в крови животных после лечения Панкреолом на 6 сутки (через 132 часа) после моделирования острого панкреатита (u/L±станд.ошибка среднего).

Группы	ALT	AMYLASE DIRECT	AST	GLUCOSE (mmol/L)	TRIGLYCE RIDES (mmol/L)	Lypase
Интактный контроль	69,4 ±4,3197	630,3 ± 110,9304	301,8 ±10,2662	5,4600±0,2227	0,64±0,06	22,05± 2,534594
Негативный контроль	63,0 ±5,29150	555,5 ±43,5	263,7 ±17,94745	6,2333±0,23333	0,7±0,02	10,60± 2,345918 *
Группа 0,035	69,3 ±8,08977	559,5 ±52,5	271,0 ±38,00000	6,5667±0,70553	0,85±0,005	13,55± 0,050000
Группа 0,1	67,0 ±5,03322	615,7 ±10,8985	258,5 ±69,50000	7,8333±0,43333 * #	1,05±0,035	14,40± 1,217237 *
Группа 0,35	55,5 ±10,09208	450,8 ±52,7272	209,0 ±13,66748 *	6,1833±0,20883	0,48±0,008	23,98± 5,689372 #

*- $p < 0,05$ по сравнению с интактным контролем

- $p < 0,05$ по сравнению с негативным контролем

Уровень амилазы по-прежнему был снижен относительно интактного контроля во всех группах после введения аргинина, кроме животных, которые получали Панкреол в дозе 0,1 мл/100 гр.

Уровень триглицеридов значимо не отличается от уровня интактного контроля ни в одной их групп. Однако при введении Панкреола в дозе 0,035 и 0,1 мл 100 гр. отмечена тенденция к увеличению уровня триглицеридов, тогда как при введении Панкреола в дозе 0,35 мл/100 гр. содержание триглицеридов в крови животных было несколько меньше, чем в группе интактного контроля. В свою очередь, повышение уровня триглицеридов сопровождается снижением уровня липазы, что мы наблюдаем у животных в данном эксперименте.

Самый низкий уровень липазы наблюдался в группе негативного контроля (достоверно ниже, чем у интактных животных). Введение Панкреола в дозах 0,035 и 0,1 мл/100 гр незначительно повышало уровень липазы по сравнению с негативным

контролем. Только в группе крыс, получавших Панкреол в дозе 0,35 мл/100 гр, уровень липазы был сходен с группой интактного контроля и достоверно превышал уровень негативного контроля.

Таким образом, ведение Панкреола оказало наибольшее влияние на следующие биохимические показатели: уровень глюкозы, липазы и триглицеридов. Именно эти биохимические показатели расцениваются как маркеры функциональной активности поджелудочной железы.

Следует отметить, что введение Панкреола в дозе 0,1 мл/100 гр. массы тела животного способствовало поддержанию амилазы на уровне показателей интактного контроля в течение всего периода наблюдений.

Анализ динамики изменений уровня липазы в группах животных после моделирования острого панкреатита выявил следующую закономерность: в группе негативного контроля уровень липазы постепенно снижался в течение всего периода наблюдений и на 6 сутки после введения аргинина был значимо ниже, чем в контроле ($10,60 \pm 2,34$ u/L против $22,05 \pm 2,53$, u/L соответственно, $p < 0,05$). Это может свидетельствовать о повреждении ацинарных клеток поджелудочной железы и развитии внешнесекреторной недостаточности. В тех группах, где животным вводили Панкреол в дозе 0,1мл и 0,35 мл на 100 гр. массы тела животного, уровень липазы на 2-е сутки после введения аргинина значимо не отличался от контрольного уровня. На 6 сутки после моделирования острого панкреатита (после введения аргинина) уровень липазы в крови животных, получавших лечение Панкреолом в дозе 0,35 мл/100 гр., был значимо выше, чем в группе негативного контроля ($23,98 \pm 5,69$ u/L против $10,60 \pm 2,34$ u/L соответственно, $p < 0,05$) и соответствовал значению в контрольной группе. Это может свидетельствовать о протекторном действии Панкреола.

Необходимо отметить, что на основании только биохимических показателей сложно оценивать степень повреждения поджелудочной железы при введении аргинина. Поэтому окончательное заключение о характере повреждений поджелудочной железы, спровоцированных введением аргинина, и протекторном действии Панкреола необходимо делать с учётом данных гистологического исследования.

Максимальная смертность животных к моменту эвтаназии наблюдалась на первые – третьи сутки после введения аргинина в группе интактного контроля и Панкреола в дозе 0,35мл/100 гр. (Табл. 4).

Таблица 4. Смертность животных после введения аргинина для моделирования острого панкреатита.

Группы	Смертность, %
Интактный контроль	0
Негативный контроль	28,5714
Группа 0,035	14,2857
Группа 0,1	14,2857
Группа 0,35	28,5714

Взвешивание животных проводили перед эвтаназией (Таблица 5). После эвтаназии у животных отбирали печень и поджелудочную железу для гистологического анализа и помещали в 10% р-р формалина. Как видно из таблицы 5, общий вес крыс снижаются по сравнению с интактным контролем после моделирования острого панкреатита путем внутрибрюшинного введения аргинина. Вес крыс, которым вводили Панкреол во всех трех дозах, незначительно отличается от негативного контроля.

Таблица 5. Вес крыс и поджелудочной железы на 6 сутки после моделирования острого панкреатита.

Группы	вес крыс, гр.	поджелудочная железа, гр.	% к массе поджелудочной железы
Интактный контроль	372,80±12,8623	1,53±0,089588	0,411481
Негативный контроль	349,60±16,58192	1,05±0,124130 *	0,298913
Группа 0,035	350,67±23,28185	1,56±0,200734	0,443441
Группа 0,1	320,29±21,98020 *	1,62±0,319891	0,506839 @
Группа 0,35	344,80±14,38888	1,84±0,144305 #	0,532918

*- $p < 0,05$ по сравнению с интактным контролем

- $p < 0,05$ по сравнению с негативным контролем

@ - $p = 0,05$ по сравнению с негативным контролем

Масса поджелудочной железы в группе негативного контроля была достоверно ниже на 6-е сутки после введения аргинина ($p < 0,05$). Поскольку использовался зафиксированный в формалине материал, снижение массы поджелудочной железы

косвенно отражает некротические процессы, прошедшие в ней. В то же время, во всех трех группах животных, получавших Панкреол, снижение веса данного органа не наблюдалось. Более того, в группе крыс, получавших максимальную дозу Панкреола 0,35 мл/100 гр, наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) увеличение массы поджелудочной железы относительно негативного контроля. Это может косвенно свидетельствовать о протективном действии препарата Панкреол в дозе 0,35 мл/100 гр.

Соотношение массы поджелудочной железы к общей массе тела в группе контроля также снижается по сравнению с интактными животными. У крыс, получавших Панкреол во всех трех дозах, не наблюдалось снижения соотношения массы поджелудочной железы к общей массе тела, и данное соотношение было на уровне интактного контроля. В группе животных, получавших Панкреол в дозе 0,1 мл/100 гр. это изменение было близко к достоверному ($@- p = 0,05$).

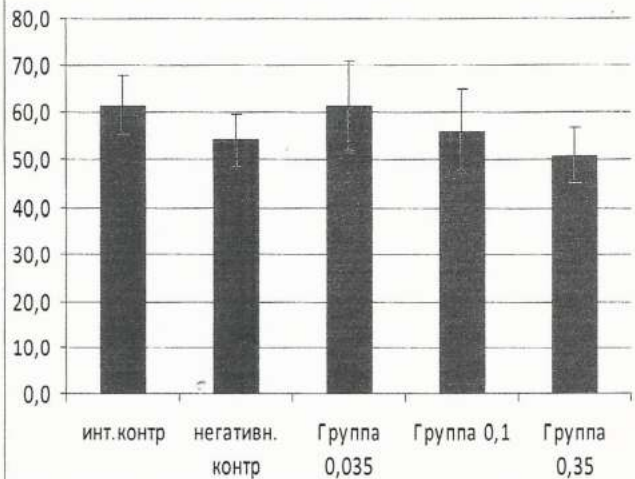
Данные гистологического исследования см. приложение.

2. Уровень биохимических показателей (u/L) в крови животных после лечения Панкреолом в дозах 0,035, 0,35 и 0,1 мл/100 гр на 4 сутки (через 84 часа) после моделирования острого панкреатита.

AMYLASE DIRECT-SER



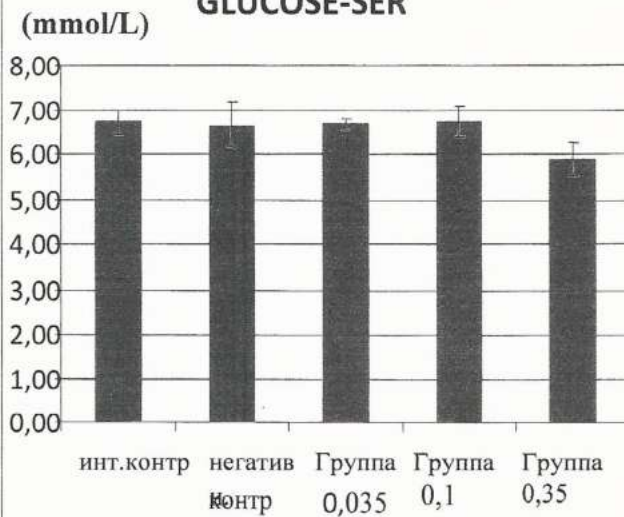
ALT-SER



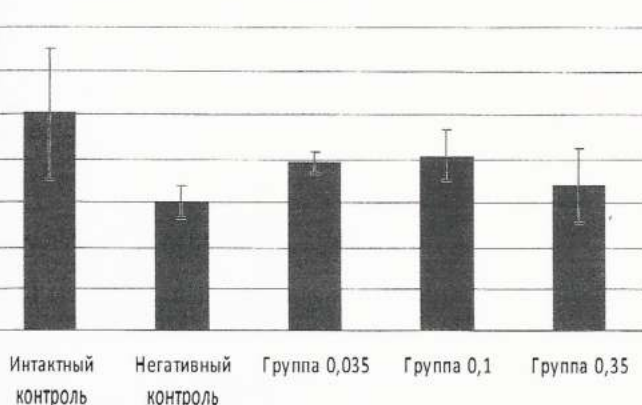
AST-SER



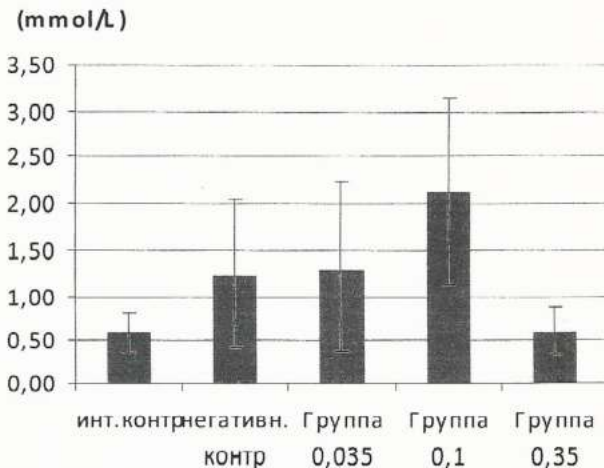
GLUCOSE-SER



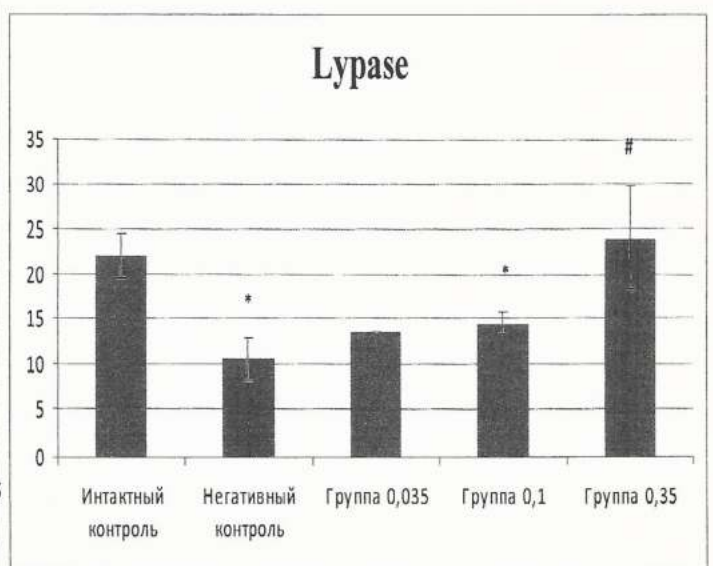
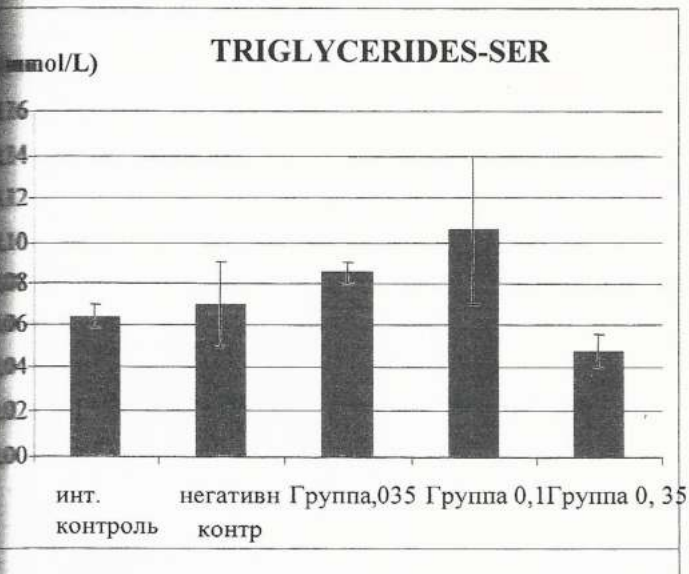
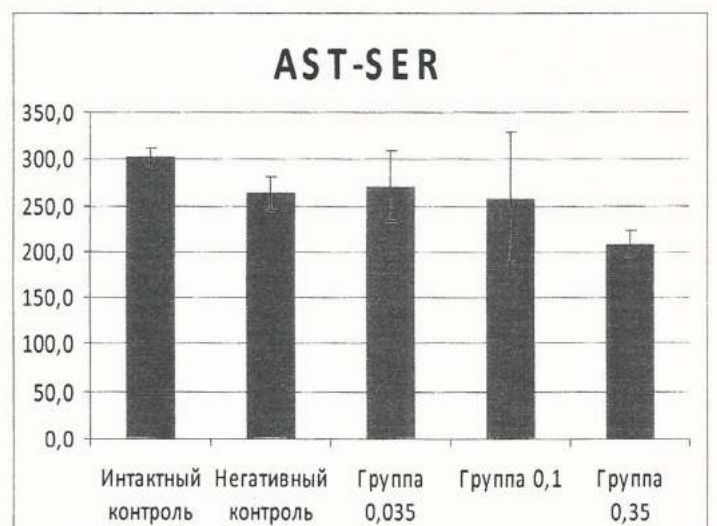
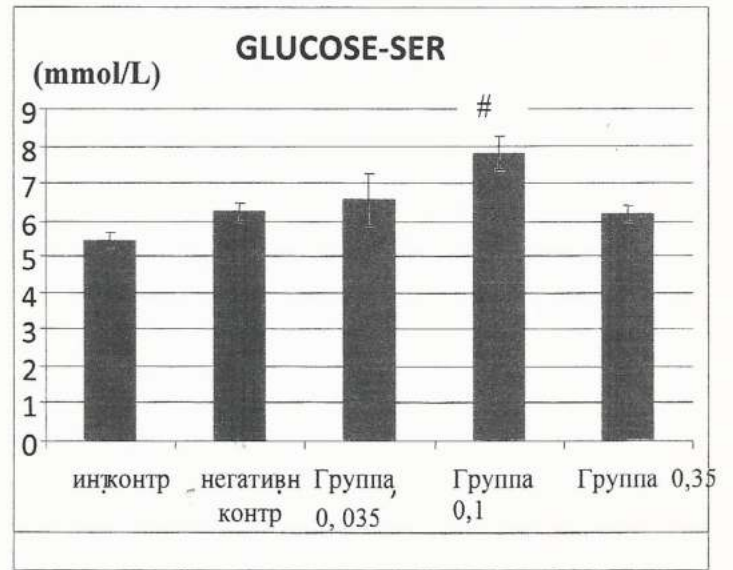
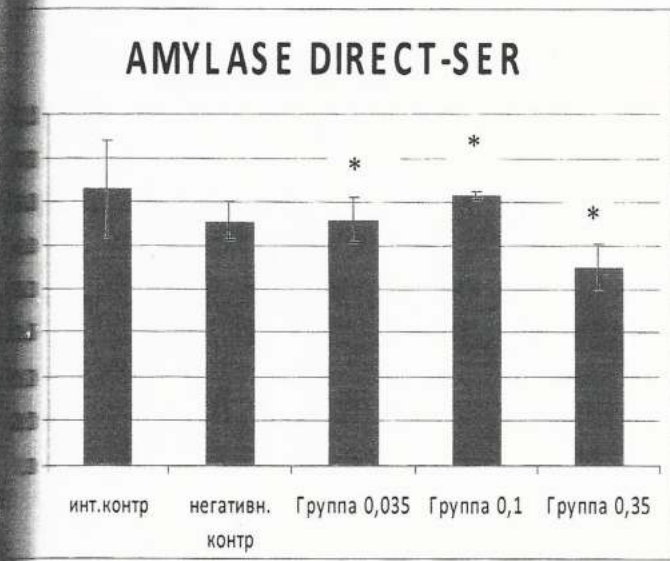
Lypase



TRIGLYCERIDES-SER



3. Уровень биохимических показателей (u/L) в крови животных после лечения Панкреолом в дозах 0,035, 0,35 и 0,1 мл/100 гр на 6 сутки (через 132 часа) после моделирования острого панкреатита.



*- $p < 0,05$ по сравнению с интактным контролем; # - $p < 0,05$ по сравнению с негативным контролем

6. Выводы:

1. Введение Панкреола в дозе 0,35 мл на 100 гр. массы тела достоверно препятствует снижению уровня липазы на 6-е сутки после моделирования состояния острого панкреатита у животных.
2. Введение Панкреола в исследованных дозах после моделирования состояния острого панкреатита способствует нормализации уровня глюкозы в крови животных.
3. Введение Панкреола в дозе 0,1 мл/100 гр. после моделирования состояния острого панкреатита способствует поддержанию амилазы на уровне показателей интактного контроля.
4. Исходя из результатов оценки веса крыс и поджелудочной железы, лучше всего нормализует состояние животных после моделирования состояния острого панкреатита введение Панкреола в дозе 0,1 мл/100 гр. и 0,35 мл/100 гр.

7. Протокол эксперимента

День эксперимента	День недели	Дата	Часы работы	Манипуляции
-2	четверг	02.02.2012	11:00 – 17:00	Осмотр животных, подготовка помещений и оборудования, взвешивание, маркировка
-1	пятница	03.02.2012	11:00 – 17:00	Взятие крови на биохимический анализ
0	вторник	14.02.2012	21:00	1-е введение аргинина
1	среда	15.02.2012	9:00 18:00	Введение веществ животным всех экспериментальных групп Введение веществ животным всех экспериментальных групп
2	четверг	16.02.2012	9:00 -11:00 18:00	Взятие крови на биохимический анализ, введение веществ животным всех экспериментальных групп Введение веществ животным всех экспериментальных групп, взвешивание
3	пятница	17.02.2012	9:00 18:00	Введение веществ животным всех экспериментальных групп Введение веществ животным всех экспериментальных групп
4	суббота	18.02.2012	9:00-11:00	Взятие крови на биохимический анализ, эвтаназия по 1 животному из всех экспериментальных групп

			18:00	Введение веществ животным всех экспериментальных групп Введение веществ животным всех экспериментальных групп
5	воскресенье	19.02.2012	9:00 18:00	Введение веществ животным всех экспериментальных групп Введение веществ животным всех экспериментальных групп
6	понедельник	20.02.2012	11:00 – 21:00	Взвешивание, взятие крови на биохимический анализ, эвтаназия, взятие образцов на гистологический анализ
7-30	вторник-пятница	21.02.- 23.03.2012	10:00-18:00	Обработка результатов, подготовка отчета

8. Список литературы:

1. Mizunuma T, Kawamura S, Kishino Y. Effects of injecting excess arginine on rat pancreas. J Nutr 1984; 114: 467-471
2. Kishino Y, Kawamura S. Pancreatic damage induced by injecting a large dose of arginine. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol 1984; 47: 147-155
3. Tani S, Itoh H, Okabayashi Y, Nakamura T, Fujii M, Fujisawa T, Koide M, Otsuki M. New model of acute necrotizing pancreatitis induced by excessive doses of arginine in rats. Dig Dis Sci 1990; 35: 367-374
4. Delaney CP, McGeeney KF, Dervan P, Fitzpatrick JM. Pancreatic atrophy: a new model using serial intra-peritoneal injections of L-arginine. Scand J Gastroenterol 1993; 28: 1086-1090
5. Weaver C, Bishop AE, Polak JM. Pancreatic changes elicited by chronic administration of excess L-arginine. Exp Mol Pathol 1994; 60: 71-87

6. Takacs T, Czako L, Jarmay K, Farkas G Jr, Mandi Y, Lonovics J. Cytokine level changes in L-arginine-induced acute pancreatitis in rat. *Acta Physiol Hung* 1996; 84: 147-156
7. Varga IS, Matkovics B, Hai DQ, Kotorman M, Takacs T, Sasvari M. Lipid peroxidation and antioxidant system changes in acute L-arginine pancreatitis in rats. *Acta Physiol Hung* 1997; 85: 129-138
8. Czako L, Takacs T, Varga IS, Tizslavicz L, Hai DQ, Hegyi P, Matkovics B, Lonovics J. Involvement of oxygen-derived free radicals in L-arginine-induced acute pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1998; 43: 1770-1777
9. Hegyi P, Takacs T, Jarmay K, Nagy I, Czako L, Lonovics J. Spontaneous and cholecystokinin-octapeptide-promoted regeneration of the pancreas following L-arginine-induced pancreatitis in rat. *Int J Pancreatol* 1997; 22: 193-200
10. Takacs T, Hegyi P, Jarmay K, Czako L, Gog C, Rakonczay Z Jr, Nemeth J, Lonovics J. Cholecystokinin fails to promote pancreatic regeneration in diabetic rats following the induction of experimental pancreatitis. *Pharmacol Res* 2001; 44: 363-372

Приложение к эксперименту.

«Исследование влияния введения препарата под рабочим названием
«Панкреол» на течение острого панкреатита у крыс Wistar».

Результаты гистологического исследования.

В приложении представлены микрофотографии гистологических срезов поджелудочной железы крыс Wistar интактной группы (интактный контроль) и крыс Wistar после моделирования острого панкреатита путем введения аргинина (негативный контроль, аргинин) и последующего применения Панкреола (Панкреол 0,035, Панкреол 0.1; Панкреол 0,35). Препараты окрашены гематоксилин-эозином, увеличение $\times 100$, $\times 200$.

Поджелудочная железа (интактный контроль) Рис.1.

Общая структура железы не нарушена. Ацинусы в основном состоят из типичных, морфологически интактных экзокриноцитов с эозинофильными секреторными гранулами в апикальной части, базофильной цитоплазмой и круглым ядром в базальной. Протоки поджелудочной железы выстланы кубическим эпителием без морфологических изменений, наличие оксифильных масс в просвете выводных протоков. Интима, медия и адвентиция стенок внутриорганных артерий и вен без патологических изменений.

Островки Лангерганса нормального размера и формы, состоят из полигональных клеток с широкой мелкозернистой цитоплазмой, расположенных в центре (В-клетки) и относительно небольших клеток по периферии островка (А-клетки), между которыми видны выстланные эндотелием синусоиды.

Поджелудочная железа (негативный контроль, аргинин) Рис.2-3.

Архитектоника железы нарушена, основная масса железистой ткани с явлениями дистрофического и некробиотического поражения панкреоцитов. В дольках железы, сохранивших ацинарное строение, панкреоциты с явлениями дистрофии и некробиоза: уменьшены в размерах, повышена базофилия цитоплазмы, уменьшена в размерах зимогенная зона, часты очаги ацинусов с вакуолизированной цитоплазмой с пикнотичными ядрами. Единичные вакуоли наблюдаются в отдельных панкреатических островках (островках Лангерганса).

Кровеносные сосуды и капилляры как внутри дольки, так и междольковые расширены и полнокровны. Стенки сосудов утолщены, отечны. Наблюдался отек между ацинусами внутри дольки и междольковой соединительной ткани.

Поджелудочная железа (Панкреол) Рис.4-6.

Структура железы сохранена. Среди общей массы сохранившихся ацинусов наблюдаются отдельные островки дистрофических изменений виде фокальной вакуолярной дистрофии экзокриноцитов, единичные признаки диффузной эозинофилии цитоплазмы, потери

визуализации секреторных гранул и стирания контуров ядер. Большая часть экзокриноцитов с эозинофильными секреторными гранулами в апикальной части, базофильной цитоплазмой и круглым ядром в базальной. Основная часть островков Лангерганса нормального размера и формы, без признаков дистрофии. В единичных случаях отмечают некоторое разрежение ткани островка Лангерганса.

Пространства между дольками железы выглядят умеренно расширенными.

Протоки поджелудочной железы выстланы кубическим эпителием без морфологических изменений. Просветы отдельных выводных протоков содержат оксифильно окрашенные гомогенные массы.

Рис.1. Гистоструктура поджелудочной железы. Контроль.

Общая структура железы не нарушена. Ацинусы в основном состоят из типичных экзокриноцитов с эозинофильными секреторными гранулами в апикальной части. Островки Лангерганса без изменений.

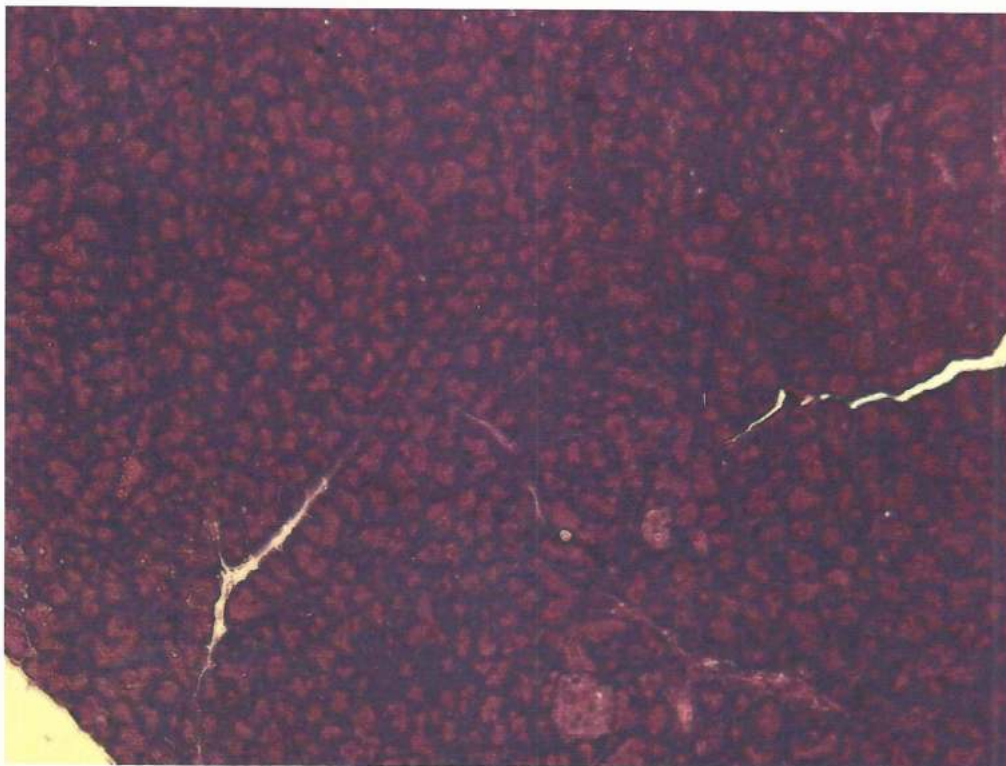


Рис.2. Гистоструктура поджелудочной железы. Негативный контроль. Некробиотические изменения ацинарных клеток, вакуолизация цитоплазмы.

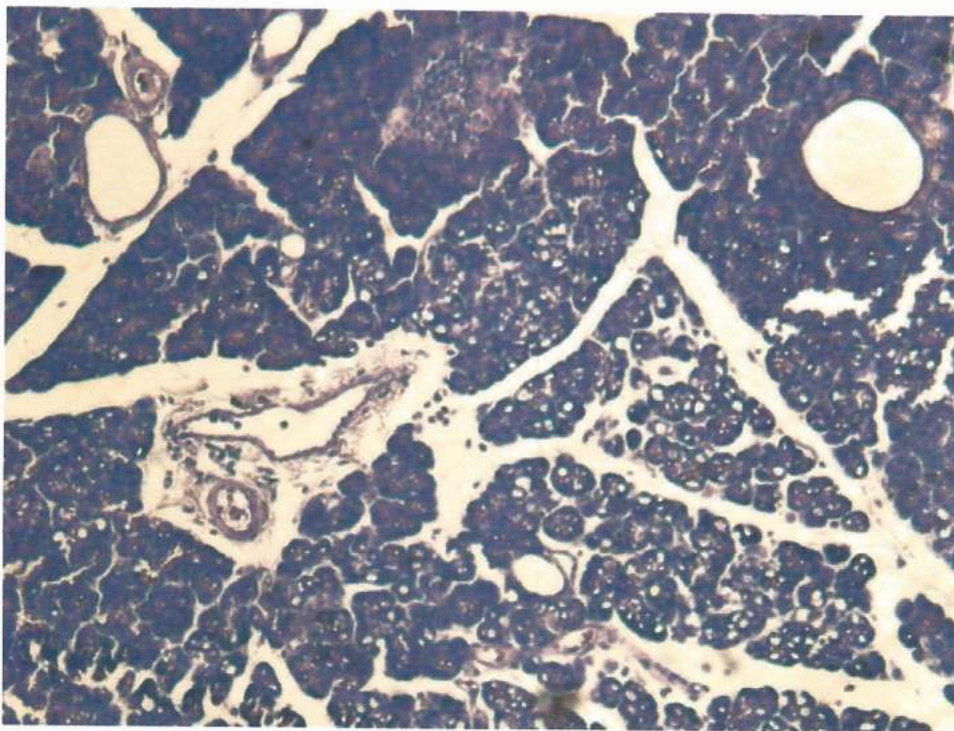


Рис.3 Гистоструктура поджелудочной железы. Негативный контроль. Некробиотические изменения ацинарных клеток, вакуолизация цитоплазмы. Разрежение островка Лангерганса.

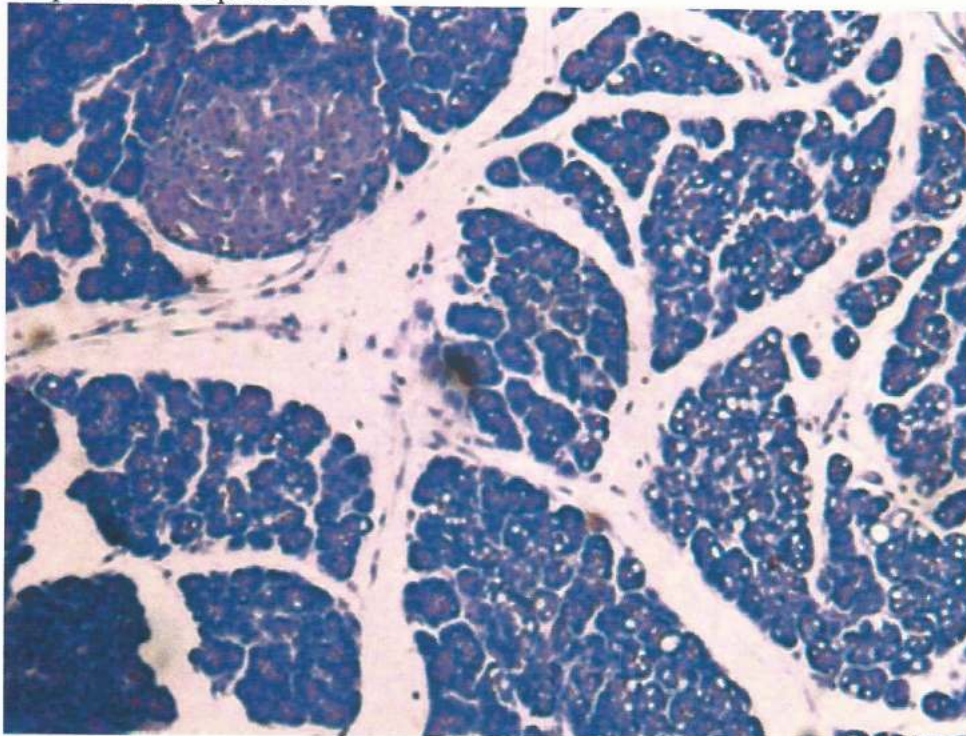


Рис. 4. Гистоструктура поджелудочной железы. Группа Панкреол 0,035. Сохранение структуры поджелудочной железы. Очаговые дистрофические изменения ацинарных клеток. Островки Лангерганса не затронуты. Гранулоцитарная реакция (инфильтраты) не обнаружена.

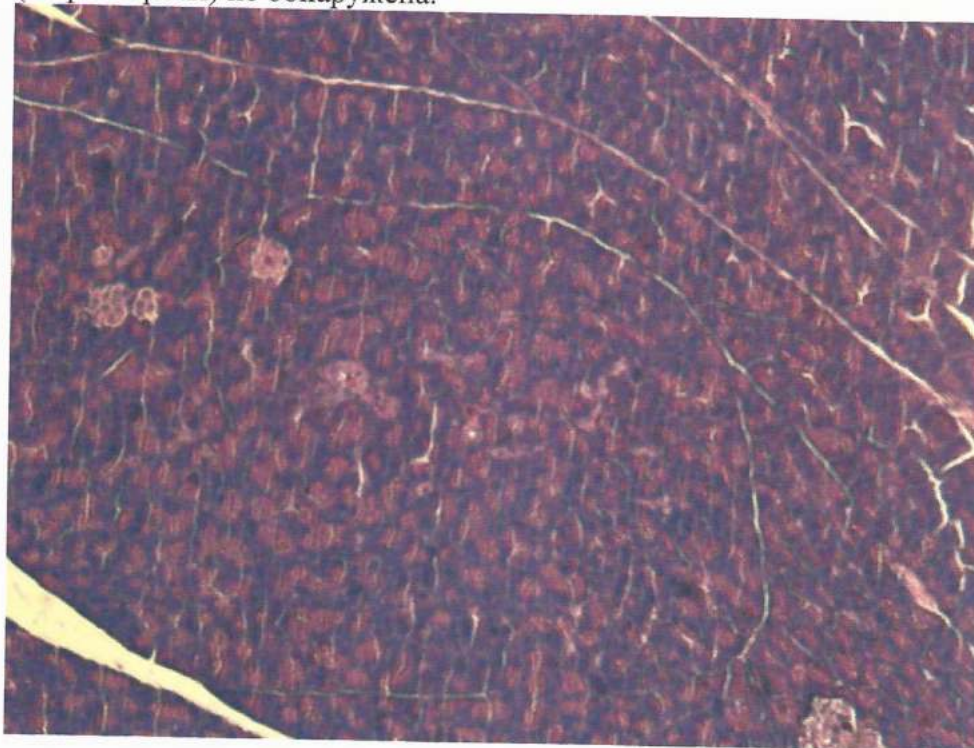


Рис. 5. Гистоструктура поджелудочной железы. Группа Панкреол 0,1. Сохранение структуры поджелудочной железы. Среди общей массы сохранившихся ацинусов локальные очаги с признаками вакуольной дистрофии панкреатоцитов. Островки Лангерганса не затронуты. Гранулоцитарная реакция не обнаружена.

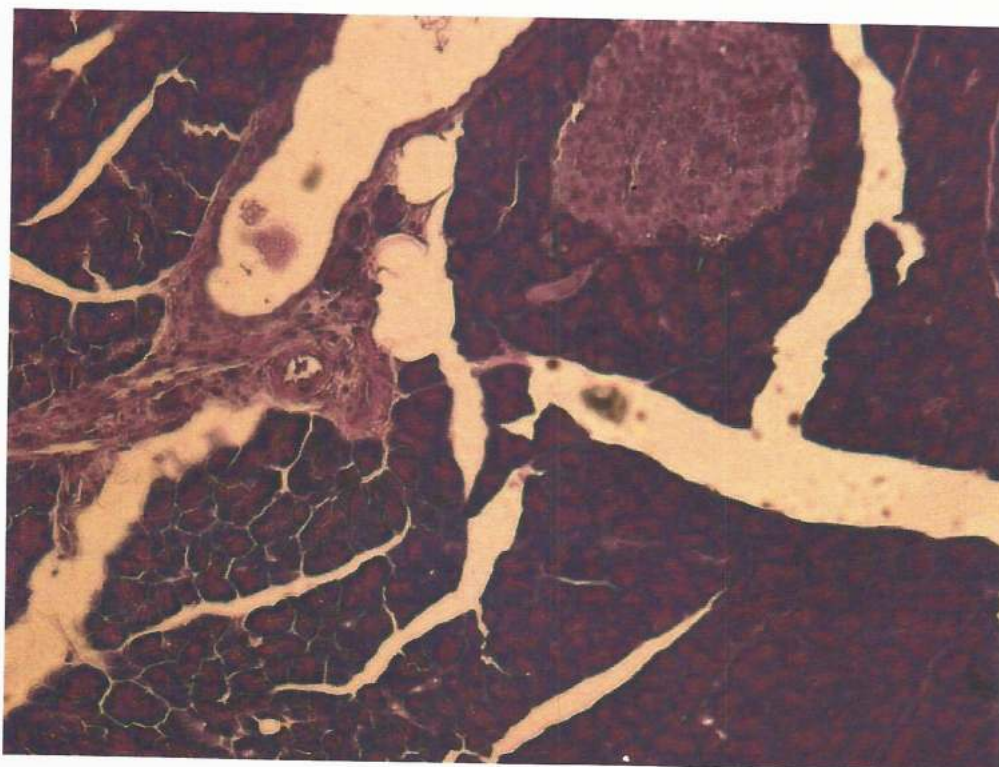
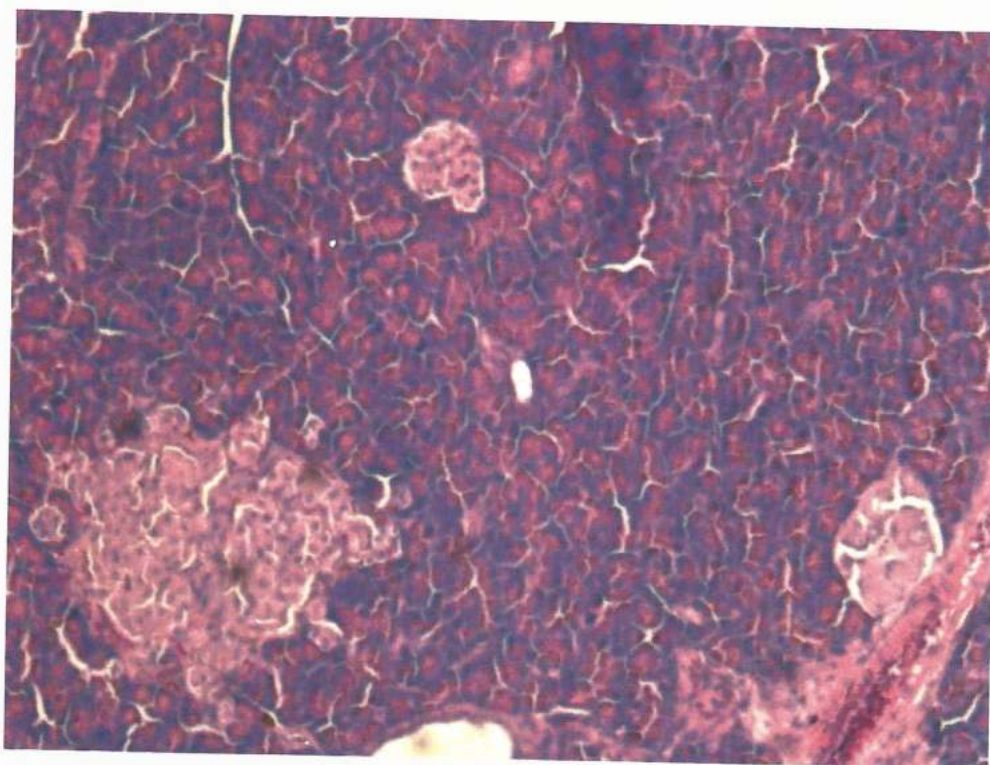


Рис. 6. Гистоструктура поджелудочной железы. Группа Панкреол 0,35. Сохранение структуры поджелудочной железы. Среди общей массы сохранившихся ацинусов единичные островки дистрофических изменений. Островки Лангерганса сохранены. Гранулоцитарная реакция не обнаружена.



Заключение:

Результаты гистологического исследования демонстрируют, что введение аргинина вызывает обширное повреждение ацинарной зоны поджелудочной железы. В группах с применением препарата Панкреол тяжесть и объем дистрофических изменений экзокриноцитов были существенно меньше, основная масса ацинусов была сохранена.

Приложение к эксперименту

«Исследование влияния введения препарата под рабочим названием
«Панкреол» на течение острого панкреатита у крыс Wistar»

№23, <u>КОММЕРЧЕСКАЯ ТАЙНА</u>	
ООО "АлексАнн"	
141707, М.О., г. Долгопрудный, ул. Виноградная, д.13	
Распорядитель. Давыденков Валерий Николаевич	
Допуск	<u>Научный от.</u>
Дата. _____	Кол-во экз. <u>1 экз. 16.08</u>

**Исследование влияния введения препарата под рабочим названием «Панкреол» на т
острого панкреатита у крыс Wistar. Руководитель Ловать М.Л.**

Ранжирование крыс по биохимическим параметрам

1	ALT-SER	AMYLASE DIREC	AST-SER	GLUCOSE-SE	TRIGLYCERIDES-SER
11	88	649	205	7,4	0,99
14	56	547	116	6,9	0,64
15	72	599	143	6,4	1,32
21	66	582	111	7	1,54
39	75	491	134	7,9	0,65
47	78	603	131	6,9	0,56
48	88	584	125	7	0,62
	74,7	579,3	137,9	7,07	0,903
3	ALT-SER	AMYLASE DIREC	AST-SER	GLUCOSE-SE	TRIGLYCERIDES-SER
6	86	537	142	5,8	1,34
16	62	557	144	7,6	2,88
18	76	597	141	6,4	1
20	69	520	138	7,2	0,83
35	70	570	121	7,8	0,82
37	66	685	116	7,2	0,67
49	70	491	142	7,4	0,64
	71,3	565,3	134,9	7,06	1,169
4	ALT-SER	AMYLASE DIREC	AST-SER	GLUCOSE-SE	TRIGLYCERIDES-SER
4	84	635	204	7,4	1,94
7	76	380	146	6,2	1,15
19	73	580	158	7,1	1,5
36	68	616	143	7	1,2
43	65	500	133	7,7	0,57
44	85	685	154	6,8	1,05
45	58	491	104	8,4	0,53
	72,7	555,3	148,9	7,23	1,134
5	ALT-SER	AMYLASE DIREC	AST-SER	GLUCOSE-SE	TRIGLYCERIDES-SER
2	74	598	203	7,3	0,84
3	66	611	101	6,9	0,77
9	86	558	121	7	1,17
13	87	560	161	7,1	1,95
30	63	800	101	7,8	0,74
32	89	476	130	7,6	0,4
42	75	541	179	9,1	1,64
	77,1	592,0	142,2857	7,54	1,073
2	ALT-SER	AMYLASE DIREC	AST-SER	GLUCOSE-SE	TRIGLYCERIDES-SER
12	59	551	119	7,1	0,63
23	57	663	116	7,3	1,52
31	74	508	189	7,5	0,85
33	78	587	160	7,7	1,03
50	81		137	7,8	0,48
	69,8	577,3	144,2	7,48	0,902

Ранжирование по весу 15.02.2012

вес		вес		вес		вес	
11	420	6	400	4	368	2	322
14	346	16	380	7	344	3	300
15	430	18	390	19	396	9	342
21	386	20	360	36	348	13	324
39	326	35	390	43	364	30	470
47	380	37	330	44	324	32	300
48	268	49	362	45	370	42	380
ср	365,1429	ср	373,1429	ср	359,1429	ср	348,2857

Ранжирование 15.02.2012

вес	Доза 0.035/1	
11	420	0,15
14	346	0,12
15	430	0,15
21	386	0,14
39	326	0,11
47	380	0,13
48	268	0,09
ср	365,1429	1,82571429

вес	Негативный контроль	
6	400	0,40
16	380	0,38
18	390	0,39
20	360	0,36
35	390	0,39
37	330	0,33
49	362	0,36
ср	373,1429	1,86571429

вес	Доза 0.35/100	
4	368	1,29
7	344	1,20
19	396	1,39
36	348	1,22
43	364	1,27
44	324	1,13
45	370	1,30
ср	359,1429	1,79571429

вес	Доза 0,1/100	
2	322	0,32
3	300	0,30
9	342	0,34
13	324	0,32
30	470	0,47
32	300	0,30
42	380	0,38
ср	348,2857	1,74142857

Исследование влияния введения препарата под рабочим названием «Панкреол» на течение острого панкреатита у крыс Wistar.
Руководитель Ловать М.Л.

Введение тестируемых веществ (СОП № 12И, СОП № 25И)

№ крысы	вес, 16.02	вещество, мл	15.02.2012	16.02.2012	17.02.2012	18.02.2012	вес, 18.02	19.02.2012	Примечания
инт.контр									
31	348						362		
33	306						364		
23	400						414		
50	322						370		
12	360						392		
Среднее	347,2						380,4		
Контроль (физ.р-р)									
6	400	0,4	x	x	x	x	358		забой 18.02
16	380	0,38							
18	390	0,39	x	x	x	сдох	392		x
20	360	0,36	x	x	x	сдох	330		x
35	390	0,39							
37	330	0,33	x	x	x	сдох	312		x
49	362	0,362	x	x	x	сдох	346		x
Среднее	373,142857	1,86571429					347,6		
Группа 0,035									
11	420	0,147	x	x	x	сдох	426		x
14	346	0,1211	x	x	x	сдох	326		x
15	430	0,1505	x	x	x	сдох	394		x
21	386	0,1351							
39	326	0,1141	x	x	x	сдох	302		x
47	380	0,133	x	x	x	сдох	366		забой 18.02
48	268	0,0938	x	x	x	сдох	284		x
Среднее	365,142857	1,82571429					349,666667		

Исследование влияния введения препарата под рабочим названием «Панкреол» на течение острого панкреатита у крыс Wistar.

Руководитель исследования Ловать М.Л.

Введение тестируемых веществ (СОП № 12И, СОП № 25И)

№ крысы	30.01.12 вес, гр	вещество и способ введения	объем вещества	14.02.2012	15.02.2012	Примечания
Инт.контр						
31	348	физ.р-р в/б				
33	306	физ.р-р в/б				
23	400	физ.р-р в/б				
50	322	физ.р-р в/б				
12	360	физ.р-р в/б				
Среднее	347,2					
Аргинин 200 мл/100 гр.(20% р-р в фосфатном буфере, рн 6,8), 2 в/б вв-я по 100 мл/100 гр с интервалом в 12 ч						
Контроль						
6	400	Аргинин в/б	0,4	x		
16	380	Аргинин в/б	0,38	x		сдох 16:00 14.02
18	390	Аргинин в/б	0,39	x		
20	360	Аргинин в/б	0,36	x		
35	390	Аргинин в/б	0,39	x		сдох 15.02
37	330	Аргинин в/б	0,33	x		
49	362	Аргинин в/б	0,36	x		
Среднее	373,1429					
группа 0,035						
11	420	Аргинин в/б	0,15	x		
14	346	Аргинин в/б	0,12	x		
15	430	Аргинин в/б	0,15	x		
21	386	Аргинин в/б	0,14	x		сдох 15.02
39	326	Аргинин в/б	0,11	x		
47	380	Аргинин в/б	0,13	x		
48	268	Аргинин в/б	0,09	x		
Среднее	365,1429					

№ крысы	вес	вещество и способ введения	объем вводимого вещества	14.02.2012	15.02.2012	Примечания
группа 0,1						
2	322	Аргинин в/б	0,32	x	=	
3	300	Аргинин в/б	0,3	x	=	
9	342	Аргинин в/б	0,34	x	=	
13	324	Аргинин в/б	0,32	x	=	
30	470	Аргинин в/б	0,47	x	=	
32	300	Аргинин в/б	0,3	x	=	
42	380	Аргинин в/б	0,38	x	=	
Среднее	348,286					
Группа 0,35						
4	368	Аргинин в/б	1,29	x	=	
7	344	Аргинин в/б	1,2	x	=	
19	396	Аргинин в/б	1,39	x	=	
36	348	Аргинин в/б	1,22	x	=	сдох 15.02
43	364	Аргинин в/б	1,27	x	=	
44	324	Аргинин в/б	1,13	x	=	
45	370	Аргинин в/б	1,3	x	=	
Среднее	359,1429					

Ловать М.Л. Асф Рудько О.И. Асф

Исследование влияния введения препарата под рабочим названием «Панкреол» на течение острого панкреатита у крыс Wistar. Руководитель Ловать М.Л.

Забор крови на биохимию, эвтаназия

№ крысы инт.контр	вводимое вещество	16.02.2012	18.02.2012	20.02.2012	эвтаназия	вес крысы	печень	поджелудочная железа, 20.02	поджелудочная железа, 18.02
31					20.фев	348	x	1,52	
33					20.фев	350	x	1,77	
23					20.фев	406	x	1,22	
50					20.фев	358	x	1,55	
12					20.фев	402	x	1,61	
Среднее						372,8		1,534	
Контроль (физ. р-р)									
6	0,4	x	x		18.02	358	x		1,97
16	0,38				сдох				
18	0,39	x	x	x	20.фев	392	x	0,75	
20	0,36	x	x	x	20.фев	330	x	1,16	
35	0,39				сдох				
37	0,33	x	x	x	20.фев	312	x	0,95	
49	0,362	x	x	x	20.фев	346	x	1,32	
Среднее						347,6		1,05	
Группа 0,035									
11	0,147	x	x	x	20.фев	426	x	1,67	
14	0,1211	x	x	x	20.фев	326	x	1,15	
15	0,1505	x	x	x	20.фев	394	x	1,23	
21	0,1351				сдох				
39	0,1141	x	x	x	20.фев	302	x	2,28	
47	0,133	x	x	x	18.02	366	x		1,85
48	0,0938	x	x	x	20.фев	284	x	1,56	
Среднее						349,66667		1,58	

Руководитель исследования Ловать М.Л.

Смертность

№	вес, гр	15.02.2012	16.02.2012	17.02.2012	18.02.2012	19.02.2012	20.02.2012	%
Инт контроль								
	31	348	0	0	0	0	0	0
	33	306	0	0	0	0	0	0
	23	400	0	0	0	0	0	0
	50	322	0	0	0	0	0	0
	12	360	0	0	0	0	0	0
Среднее		347,2	0	0	0	0	0	0
отр контр								
	6	400	0	0	0	0	0	0
	16	380	1	0	0	0	0	0
	18	390	0	0	0	0	0	0
	20	360	0	0	0	0	0	0
	35	390	1	0	0	0	0	0
	37	330	0	0	0	0	0	0
	49	362	0	0	0	0	0	0
ср		373,1428571	0,2857143	0	0	0	0	0 28,5714
Доза 0.035/100								
	11	420	0	0	0	0	0	0
	14	346	0	0	0	0	0	0
	15	430	0	0	0	0	0	0
	21	386	1	0	0	0	0	0
	39	326	0	0	0	0	0	0
	47	380	0	0	0	0	0	0
	48	268	0	0	0	0	0	0
ср		365,1428571	0,1428571	0	0	0	0	0 14,2857
доза 0.35/100								
	4	368	0	0	0	0	0	0
	7	344	0	0	1	0	0	0
	19	396	0	0	0	0	0	0
	36	348	1	0	0	0	0	0
	43	364	0	0	0	0	0	0
	44	324	0	0	0	0	0	0
	45	370	0	0	0	0	0	0
ср		359,1428571	0,1428571	0	0,1428571	0	0	0 28,5714

№	вес, гр	15.02.2012	16.02.2012	17.02.2012	18.02.2012	19.02.2012	20.02.2012	%
Доза 0,01/100								
2	322	0	0	0	0	0	0	0
3	300	0	0	0	0	0	0	0
9	342	0	0	0	0	0	0	0
13	324	0	0	0	0	0	0	0
30	470	0	0	0	0	0	0	0
32	300	0	0	0	0	0	0	0
42	380	0	0	0	0	0	0	1
ср	348,2857143	0	0	0	0	0	0,1428571	14,2857

Группы Смртность, %

Интактный контроль	0
Негативный контроль	28,5714286
Группа 0,035	14,2857143
Группа 0,1	14,2857143
Группа 0,35	28,5714286

Уровень биохимических параметров в крови животных после лечения Панкреолом на 2-е сутки (через 36 часов) после моделирования острого панкреатита (u/L±станд.ошибка среднего).

Группа	ALT	AMYLASE DIRECT	AST	GLUCOSE (mmol/L)	TRIGLYCERIDES (mmol/L)	Lypase
Группа 0,035						
#14	38	586	234	3,8	3,26	11,9
#15	335*	492	463	4,9	1,04	68,2
#39	64	609	227	6,2	3,33	12,6
#47	79	505	227	5,3	1,61	18,2
#48	94	529	268	5,8	0,89	13,1
ср	68,75	544,2	283,8	5,2	2,026	24,8
ме	68,75	536,6	251	5,25	1,818	15,65
ст. ошибка	11,93995	22,84601	45,439	0,41352	0,53193	1,43788
т-т к интакт	0,601509	0,075801	0,07580	0,00902	0,296271	0,347208
т-т к негативн	0,250593	0,834532	0,25059	0,83453	0,754023	0,601509
Негатив. контроль						
#18	77	613	299	5,1	0,93	22,6
#20	60	505	240	5,3	1,42	45,4
#37	40	722	254	4,5	2,38	14,5
#49	75	465	369	7,1	1,29	12,4
#06	46	509	335	4,7	3,11	14,9
ср	59,6	562,8	299,4	5,34	1,826	21,96
ме	60	509	299	5,1	1,42	14,9
ст. ошибка	7,44715	46,72515	24,188	0,46217	0,40066	6,11037
т-т к интакти	0,296271	0,347208	0,07580	0,07580	0,117186	0,754023
Группа 0,35						
#19	62	580	111	6,9	4,73	15,8
#4	158	523	19	6,2	0,92	19,2
#43	76	382	412	6,9	1,19	17
#44	92	614	243	6,5	2,45	15,2
#45	40	442	204	5,7	0,79	75,1
#07	117	817	274	4,2	0,8	25,2
ср	90,833333	559,66667	210,5	6,06667	1,813333	27,91667
ме	84	551,5	223,5	6,35	1,055	18,1
ст. ошибка	17,15890	62,27395	55,469	0,41687	0,63700	9,55219
т-т к интакти	0,465209	0,273323	0,855132	0,100349	1,000000	0,361311

м-в к неагтивн	0,170904	1,000000	0,201244	0,361311	0,361311	0,273323
Группа 0,1						
#13	58	510	194	5,8	1	15,9
#02	78	491	432	5,7	0,78	17,8
#03	97	698	328	1,1	0,83	21,3
#30	30	985	184	6,1	1,18	52,6
#32	103	542	256	6,2	1,39	20,8
#42	105	805	338	5	1,17	42,1
#09	38	511	199	5,9	2,79	13,7
ср	72,714286	648,85714	275,85714	5,114286	1,305714	26,31429
ме	78	542	256	5,8	1,17	20,8
ст. ошибка	11,77510	71,44943	35,322	0,68502	0,26006	5,63946
м-в к интактн	0,807541	0,807541	0,167466	0,004484	0,684744	0,684744
м-в к негативн	0,464903	0,291153	0,569765	0,464903	0,167466	0,464903
Интактный контроль						
#12	51	592	164	6,9	0,98	14,4
#23	61	653	208	6,9	1,11	38,1
#31	98	539	339	6,8	0,89	61,5
#33	77	669	169	6,6	1,3	15,1
#50	65	588	174	8	1,07	14,2
ср	70,4	608,2	210,8	7,04	1,07	28,66
ме	65	592	174	6,9	1,07	15,1
ст. ошибка	8,05978	23,62499	32,966	0,24617	0,06892	9,39120

Уровень биохимических параметров в крови животных после лечения Панкреолом на 4 сутки (через 84 часа) после моделирования острого панкреатита ($\mu/L \pm$ станд.ошибка среднего).

№	Группы	ALT-SER	AMYLASE DIRECT-SER	AST-SER	GLUCOSE-SER (mmol/L)	TRIGLYCERIDES-SER (mmol/L)	Lypase
	Интактный контроль						
12		56	693	224	6,6	0,03	33,70
23		79	429	251	7,4	0,79	42,10
31		71	642	196	7	1,15	8,6*
33		42	547	164	5,8	0,05	14,50
50		59	577	253	6,8	0,92	10,30
	Ср	61,4	577,6	217,6	6,72	0,59	25,15
	ст. ошибка	6,38	44,99	16,95	0,27	0,23	7,606740

	Негативный контроль						
6		37	454	213	6	3,53	19,60
18		60	639	201	6,5	1,28	11,20
20		59	441	228	6	0,08	15,80
37		60	584	189	8,1	0,04	14,00
	Среднее	54,0	529,5	207,8	6,65	1,23	15,15
	ст. ошибка	5,67	48,73	8,34	0,50	0,82	1,759498
	М-W к инт контролю	0,713303	0,624206	0,624206	0,624206	0,462433	0,563703
	Группа 0,035						
11		58	567	292	6,4	1,1	16,70
14		38	496	203	6,6	4,01	18,10
39		48	531	147	6,4	0	23,20
47		94	486		7,1	0,1	21,70
48		68	646	213	6,8		18,50
	Среднее	61,2	545,2	213,8	6,66	1,30	19,64
	ст. ошибка	9,60	28,95	29,85	0,13	0,94	1,208967
	М-W к инт контролю	0,754023	0,464703	0,806496	0,601509	0,806496	1,000000
	М-W к нег контролю	0,806496	0,624206	0,885234	0,462433	1,000000	0,086412
	Группа 0,1						
2		68	588		7,3	0,84	19,50
3		35	594	147	5,9	5,16	32,60
9		49	429	195	6,4	1,61	17,20
13		72	836	261	7,3	0,93	14,20
							14,10
							24,20
	Среднее	56,0	611,8	201,0	6,73	2,14	20,30
	ст. ошибка	8,61	83,95	33,05	0,35	1,02	2,900575
	М-W к инт контролю	0,624206	0,713303	0,654721	1,000000	0,086412	0,669816
	М-W к нег контролю	0,772830	0,563703	0,723674	1,000000	0,386477	0,200826
	Группа 0,35						
4		55	421	253	6,3	1,02	33,30
19		47	541	143	6,6	0,04	10,30
43		60	526	286	7,3	0,04	14,40
44		70	614	240	5,8	0,04	10,60
45		35	438	213	5,9	1,76	17,10
30		29	558	174	4,9	0,03	
32		61	511	194	4,4	1,29	
	Среднее	51,0	515,6	214,7	5,89	0,60	17,14
	ст. ошибка	5,59	25,46	18,53	0,37	0,28	4,232092
	М-W к инт контролю	0,291153	0,167466	0,870991	0,122881	1,000000	0,391268
	М-W к нег контролю	0,850107	0,570751	0,776814	0,256840	0,395092	0,806496

Уровень биохимических параметров в крови животных после лечения Панкреолом на 6 сутки (через 132 часа) после моделирования острого панкреатита (u/L \pm станд.ошибка среднего).

Группы	№	ALT-SER	AMYLASE DIRECT-SER	AST-SER	GLUCOSE-SER (mmol/L)	TRIGLYCERIDE S-SER (mmol/L)	Lypase
Интактный контроль							
	12	73	929		5,2	0,07	20,10
	23	56	617	294	5,9	0,08	17,20
	31	71	394	309	4,8	0,05	3,3*
	33	82	581	326	5,4	0,05	29,10
	50	65		278	6	0,07	21,80
Среднее		69,4	630,3	301,8	5,4600	0,6400	22,05
ст. ошибка		4,3197	110,9304	10,2662	0,2227	0,0060	2,534594
Негативный контроль							
	18	61	599	234	6	0,09	9,50
	20	73	512	296	6,7		7,20
	37	55		261	6	0,05	15,10
Среднее		63,0	555,5	263,7	6,2333	0,7000	10,60
ст. ошибка		5,29150	43,50000	17,94745	0,23333	0,02000	2,345918
M-W к инт контролю		0,37109 4	0,643429	0,157300	0,052633	0,698536	0,033896
Группа 0,035							
	11	83	507		5,5	0,08	13,60
	14	70	612	309	6,3	0,09	13,50
	39	55		233	7,9		6,5*
Среднее		69,3	559,5	271,0	6,5667	0,85000	13,55
ст. ошибка		8,08977	52,50000	38,00000	0,70553	0,00500	0,050000
M-W к инт контролю		0,88149 8	0,643429	0,487454	0,101051	0,081362	0,064078
M-W к контролю		0,66252 1	1,000000	1,000000	0,827259	0,698536	0,563703
Группа 0,1							
	2	77	632	328	7,4		15,60
	9	63	595	189	7,4	0,07	5,5*
	13	61	620		8,7	0,14	11,60
							13,30
							17,10
Среднее		67,0	615,7	258,5	7,8333	1,0500	14,40
ст. ошибка		5,03322	10,89852	69,50000	0,43333	0,03500	1,217237
M-W к инт контролю		0,65472 1	0,479501	1,000000	0,025348	0,245279	0,020922
M-W к		0,38273	0,248214	1,000000	0,049535	0,438579	0,157300

контролю		4					
Группа 0,35							
	4	45	380	186	5,6		20,10
	19	75	590	250	6,9	0,05	19,30
	30	30	487	175	6,6	0,02	
	32	57	346	206	5,7	0,07	15,70
	44	93			6,3	0,05	40,80
	45	33		228	6	0,05	
Среднее		55,5	450,8	209,0	6,1833	0,4800	23,98
ст. ошибка		10,0920 8	55,28920	13,66748	0,20883	0,00800	5,689372
М-W к инт контролю		0,36131 1	0,148916	0,014306	0,055235	0,174526	0,665006
М-W к контролю		0,60557 7	0,164916	0,052633	0,796254	0,332922	0,033896