

Порядин Г.В.¹, Власов А.П.², Анашкин С.Г.³, Власова Т.И.², Потянова И.В.¹, Турыгина С.А.¹

Системные факторы прогрессирования острого панкреатита

- ¹ — Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
- ² — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» Минобрнауки России, 430005, Саранск, ул. Большевикская, 68
- ³ — Медицинский факультет Обнинского института атомной энергетики — филиал ФГАОУ ВПО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» Минобрнауки России, 249040, Обнинск Калужской обл., Студгородок, 1

В работе на материалах экспериментальных исследований установлена последовательность поражения ряда жизненно важных органов при различных формах острого экспериментального панкреатита (отечный панкреатит, панкреонекроз). Показано, что одним из первых в патологический процесс вовлекается кишечник, затем — печень, далее — почки. Установлено, что в основе поражения органов-мишеней при остром панкреатите выступает мембранодеструктивный процесс за счет избыточной активности процессов перекисного окисления липидов и фосфолипазных систем, что регистрируется не только в плазме крови, но и в тканевых структурах исследованных органов — кишечника, печени, почек (системные дистресс-повреждения оксидативного и фосфолипаз-индуцированного характера).

Ключевые слова: панкреатит, эндотоксикоз, перекисное окисление липидов, кишечник, печень, почки

Poryadin G.V.¹, Vlasov A.P.², Anasskin S.G.³, Vlasova T.I.², Potynova I.V.¹, Turigina S.A.¹

Systemic factors of acute pancreatitis advance

- ¹ — GBOU VPO «Russian National Research Medical University of N.I. Pirogov», 117997, Moscow, Ostrovityanov St., 1
- ² — FGBOU VPO «Mordovian state university of N. P. Ogaryov», 430005, Saransk, Bolshevistskaya St., 68
- ³ — Medical faculty of Obninsk institute of nuclear power — FGAOU VPO branch «National research nuclear university «MIFI», 249040, Obninsk Kaluga Region, Studgorodok, 1

In experimental studies the sequence of vitals series lesion is established at various forms of acute experimental pancreatitis (edematous pancreatitis, a pancreatonecrosis). It is shown that one of the first in pathological process involves an intestine, then — a liver, further — kidneys. It is established that at acute pancreatitis the basis of a target organs lesion is membranodestruktivny process due to excess activity of lipids peroxidation processes and phospholipase systems which are registered not only in a blood plasma, but also in tissue structures of the studied organs — an intestine, a liver, kidneys (systemic distress damages of oxidative and phospholipase induced character) acts.

Key words: pancreatitis, endotoxicosis, lipid peroxidation, intestines, liver, kidneys

За последние 20 лет отмечен более чем двукратный рост заболеваемости острым панкреатитом. Несмотря на совершенствование методов лечения и техники оперативного вмешательства, летальность при этом заболевании сохраняется на высоком уровне [1, 2].

Известно, что при различных заболеваниях, в том числе и остром панкреатите, патологический процесс сопровождается вовлечением всех систем организма [3]. Системные проявления главным образом обусловлены развитием эндогенной интоксикации (ЭИ),

которая является многогранным патологическим процессом [4, 5].

Несмотря на достаточно полное освещение в литературе вопросов, связанных с этиологией острого панкреатита, одной из недостаточно изученных остается проблема сочетанного поражения различных органов, в том числе связанных с интоксикационным синдромом [4].

Цель исследования — установление последовательности вовлечения в патологический процесс жизненно важных органов при различных формах острого экспериментального панкреатита и определение роли перекисного окисления липидов (ПОЛ) и фосфолипазной активности в этом процессе.

Для корреспонденции: Власов Алексей Петрович, зав. каф. факультетской хирургии, д.м.н., проф., ФГБОУ ВПО «Мордовский госуниверситет им. Н.П. Огарева»), e-mail: var.61@yandex.ru

Методика

Хронические опыты выполнены на взрослых беспородных половозрелых собаках обоего пола массой от 5,8 до 14,3 кг, разделенных на 2 группы. В 1-й группе ($n = 16$) моделировали отечную форму, во 2-й ($n = 20$) — некротическую форму панкреатита. Острый панкреатит моделировали по способу В.М. Буянова с соавторами (1989) путем введения желчи в паренхиму поджелудочной железы. В контрольные сроки исследования (12 ч, 1-е, 3-и и 5-е сутки) производили релaparотомию, оценивали состояние органов брюшной полости, определяли характер их поражений, производили биопсию тканей печени, кишечника и почек, осуществляли забор крови и мочи. В послеоперационном периоде животным проводили инфузионную терапию (внутривенные введения 5% раствора глюкозы и 0,89% раствора хлорида натрия из расчета 50 мл/кг массы животного). Исследования выполнены в соответствии с этическими требованиями к работе с экспериментальными животными (Федеральный закон «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. №267) и одобрены локальным этическим комитетом.

Выраженность ЭИ оценивали по следующим показателям: содержание молекул средней массы (МСМ) определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-46 при длинах волн 254 и 280 нм (Пикуза О.И., Шакирова Л.З., 1994); общую и эффективную концентрацию альбумина (ОКА и ЭКА) в сыворотке крови — флуоресцентным методом на специализированном анализаторе АКЛ-01 «Зонд»; резерв связывания альбумина (РСА) определяли по формуле $РСА = ЭКА/ОКА$; индекс токсичности (ИТ) плазмы — по формуле $ИТ = ОКА/ЭКА - 1$ (Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е., 1994). Активность альфа-амилазы исследовали, используя метод ферментативного гидролиза крахмала (Досон Р. и др., 1991). Показатели интенсивности ПОЛ: диеновые конъюгаты (ДК) определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 232—233 нм (Ганстон Ф.Д., 1986); уровень малонового диальдегида (МДА) — спектрофотометрическим методом в реакции с тиобарбитуровой кислотой (Sigma) (Егоров Д.Ю., Козлов А.В., 1988); активность супероксиддисмутазы (СОД) оценивали в реакции с нитросиним тетразолием (Гуревич В.С. и др., 1990). Активность фосфолипазы A_2 (ФЛ A_2) исследовали в среде, содержащей 10 ммоль трис-НСL-буфер (рН 8,0), 150 ммоль тритон Х-100, 10 ммоль $CaCl_2$ и 1,2 ммоль субстрата, в качестве которого использовали фосфатидилхолины яичного желтка (Трофимов В.А., 1999). Вено-ве-

нозный градиент определяли по методу Лендиса: изменение гистогематической проницаемости регистрировалось по капиллярной фильтрации и потере белка (Чернух А.М. и др., 1984). Окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) (редокс-потенциал) для изучения электрогенеза тканей кишечника регистрировали на универсальном ионметре ЭВ-74 (Труфанов Л.А., 1991). Коэффициент диффузии кислорода (КДК) в тканях устанавливали на основе учета темпа падения диффузного тока восстановления по уравнению И. М. Эпштейна (Труфанов Л.А., 1991). В сыворотке крови определяли уровень мочевины, билирубина, креатинина, активность аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз (АЛТ и АСТ) (Досон Р. и др., 1991). Клубочковую фильтрацию рассчитывали унифицированным методом по клиренсу эндогенного креатинина (Шюк О., 1981; Панченко Н.И., 1988). Канальцевую реабсорбцию воды определяли по формуле: клубочковая фильтрация — диурез и выражали в процентах. Минутный диурез определяли посредством забора мочи из мочевого пузыря путем катетеризации.

Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента, корреляционный анализ — критерия г.

Результаты и обсуждение

Опыты показали, что избранная модель патологии была вполне адекватной: у животных 1-й группы развивался острый панкреатит отечной формы с наибольшими морфологическими изменениями в первые трое суток после операции и уменьшением явлений воспаления в последующие сроки; во 2-й группе — острый деструктивный панкреатит с преимущественным очаговым поражением органа (очаговый панкреонекроз), при котором в течение всего периода наблюдения в поджелудочной железе отмечались выраженные морфологические явления — очаги некроза тканей, особенно в местах введения желчи.

Изучение функционального статуса кишечника при остром панкреатите отечной формы показало, что уже в самые ранние сроки в стенке тонкой кишки возникали нарушения микроциркуляции. Это сопровождалось ухудшением трофики и электрогенеза тканей органа. Были зафиксированы достоверное падение ОВП, снижение КДК на фоне повышения проницаемости микроциркуляторного русла для капиллярного фильтрата и белка. Изменения в стенке тонкой кишки имели обратимый характер, о чем свидетельствовала их регрессия к 5-м сут наблюдения.

При панкреонекрозе в тканях кишечника выявлены более значимые нарушения сосудистой проницаемости

и электрогенеза. Так, образование капиллярного фильтра было выше нормы на 64,22—194,83% ($p < 0,05$), потеря белка — на 67,70—291,30% ($p < 0,05$). По сравнению с 1-й группой продукция капиллярного фильтра была выше на 57,76—107,33% ($p < 0,05$). Окислительно-восстановительный потенциал ткани кишечника снижался на 32,86—88,1% ($p < 0,05$), а относительно 1-й группы — на 23,02—64,11% ($p < 0,05$). На этапах динамического наблюдения КДК был ниже нормы на 18,30—48,47% ($p < 0,05$), а по сравнению с 1-й контрольной группой — на 12,54—26,77% ($p < 0,05$).

Подчеркнем, что нарушение трофики и микроциркуляции тканевых структур кишечника при остром деструктивном панкреатите регистрировались уже через 12 ч после моделирования. Отметим, что при панкреонекрозе уровень токсических продуктов в крови, оттекающей от кишечника, был существенно выше, чем в общем кровотоке.

Экспериментально установлено, что при остром панкреатите происходило изменение функционального состояния печени. При деструктивном панкреатите изменения показателей функционального статуса печени были более значимыми: активность АСТ и АЛТ в плазме крови возрастала на 57,14—88,57 и 63,41—120,73% ($p < 0,05$) соответственно. По сравнению с контролем она была выше на 15,24—43,90 и 12,82—36,14% ($p < 0,05$) соответственно. Наблюдалось увеличение содержания общего билирубина и креатинина по сравнению с нормой на 41,68—101,61 и 28,05—96,77% ($p < 0,05$) соответственно, что также было значительно выше, чем при отечной форме панкреатита.

При остром панкреатите выявлены существенные изменения функционального статуса почек. Причем при деструктивном панкреатите нарушение функции почек было более выраженным. Уже с первых суток заболевания выявлялись достоверные отклонения от

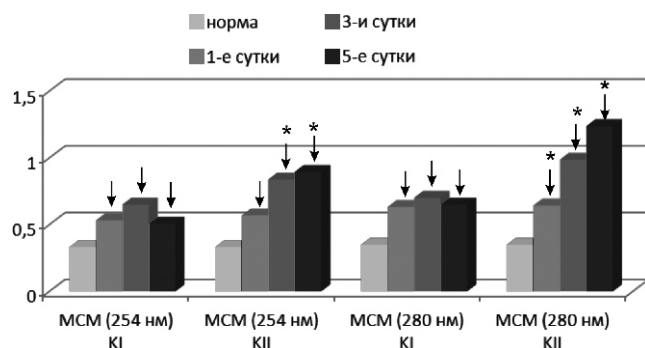
нормальных значений показателей азотистого обмена и функциональных почечных проб. При сравнении показателей с группой контроля содержание креатинина плазмы крови были выше на 11,48—18,03% ($p < 0,05$), мочевины — на 18,06—30,53% ($p < 0,05$). Клубочковая фильтрация при панкреонекрозе снижалась по сравнению с нормой на 23,73—46,37% ($p < 0,05$), а по сравнению с контролем — на 18,83 и 33,94% ($p < 0,05$). Уровень канальцевой реабсорбции у животных с деструктивной формой острого панкреатита был достоверно ниже нормы на 23,27—48,72% ($p < 0,05$), а относительно контроля — на 13,55—28,24% ($p < 0,05$).

Отметим, что через 12 ч после моделирования как отечной, так и деструктивной формы острого панкреатита существенных отклонений показателей функционального статуса печени и почек не возникало.

Лабораторными исследованиями выявлено, что при моделированном панкреатите уровень токсических продуктов в плазме крови возрастал. В патогенезе эндотоксикоза, как показали исследования, важнейшую роль играет не только орган поражения — поджелудочная железа, но и орган-мишень — кишечник. Безусловно, в прогрессировании эндогенной интоксикации на определенном этапе развития патологического процесса играет и нарушение функциональной активности органов детоксикационной системы — печени и почек.

Исследованиями установлено, что при деструктивной форме острого панкреатита проявления эндотоксикоза по сравнению с отечной формой заболевания имели более выраженный характер. Содержание МСМ ($\lambda = 254$ нм) при остром деструктивном панкреатите было выше, чем при отечной форме на 57,70—120,54% ($p < 0,05$), концентрация МСМ ($\lambda = 280$ нм) — на 82,80—169,05% ($p < 0,05$), РСА — ниже на 6,67—29,33% ($p < 0,05$) (рисунок). Прогрессирующее накопление токсинов в крови проявлялось в виде существенного повышения ИТ плазмы крови на всех этапах наблюдения. При деструктивной форме острого панкреатита он был выше на 44,12—285,29% ($p < 0,05$).

Повышение титра токсических продуктов в плазме крови сопровождалось интенсификацией процесса ПОЛ и активизацией фосфолипаз, причем при деструктивном панкреатите указанные процессы были выражены в значительно большей степени. Так, уровень ДК плазмы крови при деструктивном панкреатите превосходил таковой при отечной форме панкреатита на 33,32—57,77% ($p < 0,05$), содержание МДА — на 17,14—67,62% ($p < 0,05$). По сравнению с контролем наблюдалось еще большее (на 12,26—44,21%) снижение активности СОД.



Содержание среднемолекулярных пептидов (МСМ) в плазме крови: KI — отечная форма; KII — деструктивная форма острого панкреатита; значения нормы приняты за 100%; * — достоверность отличия от нормы при $p < 0,05$; — достоверность отличия от данных первой группы при $p < 0,05$

Существенная роль в патогенезе острого панкреатита принадлежит фосфолипазе А₂. При отечной форме ее активность возрастала в 5,3—8,5 раза ($p < 0,05$), а при деструктивной форме — в 8,6—12,1 раза ($p < 0,05$).

Интересно, что интенсификация ПОЛ и повышение фосфолипазной активности отмечается не только в плазме крови, но и в тканевых структурах как органа-поражения, так и органов-мишеней.

При отечной форме острого панкреатита содержание ДК и МДА в тканях кишечника на всех этапах наблюдения было статистически значимо выше нормы. Так, уже через 12 ч концентрация диеновых конъюгатов была выше нормы на 86,95% ($p < 0,05$), а в последующие сроки — на 169,57—313,04% ($p < 0,05$). При деструктивной форме острого панкреатита уровень ДК и МДА возрастал еще в большей степени. Это сопровождалось существенным падением активности СОД на 13,6—23,4% ($p < 0,05$). Активность фосфолипазы А₂ в ткани кишечника при остром отечном панкреатите возрастала: через 12 ч — в 1,8 раза ($p < 0,05$), а в последующие сроки — в 2,3—2,85 раза ($p < 0,05$). При деструктивном панкреатите активность фосфолипазы А₂ была выше, чем при отечной форме острого панкреатита, на 21,95—89,08% ($p < 0,05$).

Повышенная активность ПОЛ и фосфолипаз выявлено и в тканевых структурах печени и почек. От-

метим, что темп их активизации, по сравнению с кишечником, был меньшим.

Таким образом, при остром отечном панкреатите поражение органов-мишеней — кишечника, печени и почек обратимо и не носит угрожающий характера; при остром деструктивном панкреатите возникает существенное их поражение с нарушением функции, которое обуславливает прогрессирующие расстройства гомеостаза, особенно рост эндогенной интоксикации. При панкреонекрозе поражение кишечника возникает одним из первых и проявляется развитием энтеральной недостаточности, что обуславливает существенное повышение уровня токсических продуктов в плазме крови, оттекающей от кишечника.

Для доказательства взаимосвязи между функционально-метаболическими нарушениями со стороны исследуемых органов и выраженностью ЭИ был проведен корреляционный анализ. Выявлена статистически значимая корреляционная взаимосвязь между нарушениями функционального статуса кишечника, печени, почек и выраженностью ЭИ. Статистический анализ показал, что нарушение функционального статуса исследованных органов сопряжено не только с эндогенной интоксикацией, но и с интенсивностью процесса ПОЛ и активностью фосфолипазных систем в их тканевых структурах (!). Отмечено, что корреляционная связь была большей при деструктивной форме острого панкреатита (см. таблицу).

Таблица

Корреляционная зависимость между показателями функционального статуса органов-мишеней, эндогенной интоксикации, интенсивности ПОЛ и фосфолипазы А₂ при остром панкреатите деструктивной формы

Показатель	МСМ (λ254)	МСМ (λ280)	ИТ	РСА	ДК	МДА	ФЛ А ₂	СОД
Функциональные показатели кишечника								
Капиллярный фильтрат	0,940	0,834	0,958	0,859	0,789	0,781	0,964	0,895
Потеря белка	0,846	0,909	0,866	0,787	0,919	0,833	0,767	0,848
ОВП	0,826	0,969	0,942	0,982	0,891	0,921	0,936	0,859
Коэффициент диффузии O ₂	0,931	0,954	0,869	0,954	0,623	0,954	0,990	0,890
Функциональные показатели печени								
АСТ	0,965	0,992	0,895	0,938	0,915	0,819	0,866	0,878
АЛТ	0,972	0,957	0,893	0,955	0,899	0,991	0,964	0,984
Креатинин	0,973	0,961	0,898	0,789	0,987	0,967	0,952	0,934
Общий билирубин	0,987	0,961	0,959	0,966	0,948	0,966	0,931	0,942
Функциональные показатели почек								
Мочевина	0,932	0,948	0,946	0,896	0,999	0,588	0,893	0,983
Остаточный азот	0,977	0,928	0,994	0,831	0,623	0,998	0,969	0,968
Клубочковая фильтрация	0,895	0,958	0,936	0,932	0,921	0,859	0,523	0,936
Канальцевая реабсорбция	0,954	0,973	0,896	0,954	0,961	0,972	0,983	0,934

Примечание. Достоверная корреляционная зависимость выделена жирным шрифтом.

Фактический материал позволяет сделать следующее заключение.

Во-первых, при остром панкреатите интенсификация ПОЛ и активизация фосфолипазных систем отмечается не только в плазме крови, но и в тканевых структурах исследованных органов-мишеней.

Во-вторых, выраженность функциональных расстройств органов-мишеней находится в прямой корреляционной зависимости с интенсивностью процесса ПОЛ и фосфолипазной активностью не только и не столько плазмы крови, сколько в их тканевых структурах.

В-третьих, выявлена закономерность последовательности проявлений указанных патофизиологических явлений на органном уровне: одним из первых в патологический процесс вовлекается кишечник, затем — печень, далее — почки.

Таким образом, при остром панкреатите в развитии альтерации и сосудистых изменений в органах-мишенях — основы острого нарушения их функционального состояния — важную роль играет не только эндогенная интоксикация, но и мембранодеструктивный процесс за счет избыточной активности процессов ПОЛ и фосфолипазных систем в тканевых структурах исследованных органов (системные дистресс-повреждения оксидативного и фосфолипаз-индуцированного характера).

Список литературы

1. Савельев В.С., Филимонов М.И., Бурневич С.З. Панкреонекрозы. М.: МИА; 2008.
2. Lankisch P.G., Warnecke B., Bruns D. et al. The APACHE II score is unreliable to diagnose necrotizing pancreatitis on admission to hospital. *Pancreas*. 2002; 24: 217-22.
3. Благовестнов Д.А., Хватов В.Б., Упырев А.В. и др. Комплексное лечение острого панкреатита и его осложнения. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2004; 5: 68-75.
4. Власов А.П., Трофимов В.А., Крылов В.Г. Системный липидный дистресс-синдром в хирургии. М.: Наука; 2009.
5. Келина Н.Ю., Васильков В.Г., Безручко Н.В. Оценка развития синдрома эндогенной интоксикации при токсической стадии разлитого перитонита: *Вестник интенсивной терапии*; 2001; 3: 51-5.

Поступила 31.03.15

References

1. Savelyev V.S., Filimonov M.I., Burnevich S.Z. *Pancreatic necrosis*. M.: MIA; 2008. (in Russian)
2. Lankisch P.G., Warnecke B., Bruns D. et al. The APACHE II score is unreliable to diagnose necrotizing pancreatitis on admission to hospital. *Pancreas*. 2002; 24: 217-22.
3. Blagovestnov D.A., Hvatov V.B., Upyrev A.V. et al. Complex treatment of acute pancreatitis and its complications. *Surgey. Journal of them. NI Pirogov*. 2004; 5: 68-75. (in Russian)
4. Vlasov A.P., Trofimov V.A., Krylov V.G. *Systemic lipid distress syndrome in surgery*. M.: Science; 2009. (in Russian).
5. Kalin N.Y., Vasil'kov V.G., Bezruchko N.V. Assessment of endogenous intoxication in toxic stage of peritonitis; *Bulletin of intensive care*; 2001; 3: 51-5. (in Russian)

Received 31.03.15

Сведения об авторах:

Порядин Геннадий Васильевич, д.м.н., член-корр. РАН, проф., зав. каф. патофизиологии и клинической патофизиологии; e-mail: gen@rsmu.ru

Власов Алексей Петрович, д.м.н., проф., зав. каф. факультетской хирургии; e-mail: var.61@yandex.ru

Анашкин Сергей Геннадьевич, к.м.н., зав. каф. хирургии; e-mail: asg72@list.ru

Потянова Ирина Владимировна, к.м.н., ассистент каф. госпитальной терапии

Турьгина Светлана Анатольевна, к.биол.н., доцент каф. гистологии