

ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ЕФЕКТИВНОСТІ ПЕРИТОНЕОСОРБЦІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАНКРЕАТОГЕННОМУ ПЕРИТОНІТІ

І.Ю.Полянський, О.Г.Харабара

Кафедра хірургії (зав. – проф. І.Ю.Полянський) Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. На моделі панкреатогенного перитоніту вивчено ефективність розроблених методів інтраперитонеальної пролонгованої сорбції. Розроблені методи пригнічують активацію процесів пероксидного окиснення, протеолізу та фібринолізу, що сприяє зменшенню деструктивних процесів у підшлунковій залозі.

Ключові слова: панкреатогенний перитоніт, інтраперитонеальна сорбція, пероксидне окиснення, антиоксидантний захист, протеоліз, фібриноліз.

Гострому панкреатиту (ГП) належить третє місце серед гострих захворювань органів черевної порожнини. Основною причиною летальності при ГП є розвиток перитоніту, частота якого при панкреонекрозі коливається від 19,3 до 51,4 % [1-4]. Панкреатогенний перитоніт (ПП) суттєво змінює характер захворювання, його перебіг, сприяє розвитку поліорганної недостатності, зумовлює високу (до 85 %) летальність [5-8].

При ГП спостерігаються значні порушення кровообігу в підшлунковій залозі та прилеглих тканинах, зумовлені порушенням згортальної та протизгортальної систем крові, що призводить до гіпоксії [7-9]. Провідна роль у патогенезі ГП належить окиснювальному стресу, суть якого полягає в посиленні вільнорадикальних процесів за умов гострої локальної гіпоксії, підвищенні активності пероксидного окиснення та недостатності функції антиоксидантного захисту, що в подальшому призводить до внутрішньоацинарної активації панкреатичних ферментів, розвитку ферментемії [7, 9].

Важливе місце в патогенетичних механізмах ГП належить дисбалансу протеолітичної системи, яка бере участь у неспеци-

фічному розпаді білкових молекул і є одним з механізмів біологічного контролю функції органів і тканин організму [4, 10]. В нормі протеїнази знаходяться під контролем інгібіторів, між якими існує рівновага, однак при запальних процесах може виникати дисбаланс між цими системами, що призводить до активації протеолізу та неконтрольованого його прогресування. В такому разі порушуються захисні процеси, пошкоджується рецепторний апарат клітин, гідролізуються біологічно активні білки та пептиди, що призводить до множинних функціональних розладів організму [4, 7, 8]. У зв'язку з цим стає очевидним актуальність розробки методів лікування, спрямованих на пригнічення процесів пероксидного окиснення, корекцію порушень системи протеолізу та фібринолізу при деструктивному панкреатиті.

Мета дослідження. Вивчити вплив розроблених методів пролонгованої інтраперитонеальної сорбції на процеси пероксидного окиснення, антиоксидантного захисту та активність протеолізу і фібринолізу при експериментальному ПП.

Матеріал і методи. Експеримент про-

ведено на 180 білих щурах лінії Вістар масою 0,15-0,2 кг. Оперативні втручання виконували відповідно до вимог Ванкуверських конвенцій (1974, 1994) щодо гуманного ставлення до лабораторних тварин. ПГП моделювали завдяки введенню у товщу підшлункової залози 0,1 мл 40 % етилового спирту за умови попередньої перев'язки її вивідної протоки [6]. Тварини поділені на три групи. Перша група – 70 тварин, яким моделювали ПГП. Друга і третя групи – по 40 тварин, яким до поверхні підшлункової залози підводили пористий біоінертний контейнер із сорбентом з антибактеріальними та антиферментними властивостями: в II групі тварин – 1 г силіксу (гідроксил-апатиту), в III – 1 г ентеросгелю (гідрогелю метилкремнієвої кислоти). Сорбентам надавали антиферментні та антибактеріальні властивості методом послідовної експозиції в розчинах, що містять антиферментні препарати (апрокал) та антисептик (декасан) упродовж 24 год [11]. Контрольну групу становили 15 тварин, яким проводили лапротомію без маніпуляцій на підшлунковій залозі.

Через 12 та 24 год визначали ступінь окиснювальної модифікації білків плазми крові (ОМБ) (І.Ф.Мецишен, 1998) та вміст малонового альдегіду в еритроцитах крові (І.Ф.Мецишен, Н.В.Васильєва, 1997). Визначали активність каталази та церулоплазмину в сироватці крові (М.І.Ревіна, 1987). Протеоліз, ферментативний та неферментативний фібриноліз у сироватці крові визначали за допомогою наборів реактивів фірми "Simko Ltd" (Україна) за методом О.Л.Кухарчука (1996).

Одержані результати обробляли методами варіаційної статистики з визначенням критеріїв Шапіро-Уїлка та Стьюдента з використанням прикладної статистичної програми BioStat 2007.

Результати дослідження та їх обговорення. У всіх тварин дослідних груп через 12 год з часу моделювання спостерігали

морфологічні зміни, характерні для ПГП: набряк підшлункової залози з субкапсулярними крововиливами, численні вогнища стеатонекрозів на сальнику, брижі, парієнтальній та вісцеральній очеревині. Через 24 год у тварин I групи виявлені ознаки деструктивних змін підшлункової залози: некроз паренхіми, наявність ексудату в очеревинній порожнині, стеатонекрози та набряк прилеглих тканин. З 70 щурів I групи впродовж 24 год загинула 31 тварина (44,3 %), у II групі – загинуло 12 (30 %), у III – 9 (22,5 %).

При дослідженні динаміки параметрів перикисного окиснення (табл. 1) встановлено, що моделювання ПГП супроводжується вірогідним зростанням концентрації малонового альдегіду та ОМБ упродовж всього періоду спостереження. У тварин I групи концентрація малонового альдегіду через 12 год зростала на 56 %, а через 24 год – на 73 % у порівнянні з інтактними тваринами. Ступінь ОМБ через 12 год зростав в 2,6 раз, через 24 год – майже втричі.

У тварин II та III груп концентрація малонового альдегіду за період спостереження вірогідно не відрізнялася в порівнянні з контрольною групою, а у порівнянні з групою інтактних тварин була вірогідно вища через 12 год (відповідно на 20 % та 25 %), а через 24 год зростала тільки у II групі (на 30 %). Розміщення в очеревинній порожнині контейнера з сорбентом призводить до суттєвого пригнічення процесів пероксидного окиснення: у тварин II та III груп концентрація малонового альдегіду через 12 год була нижча, ніж у I групі відповідно на 22 % та 19 %, через 24 год – на 25 % та 40 %. Параметри ОМБ у тварин II та III груп хоч і зростали, але були вірогідно нижчими, ніж у I групі впродовж всього часу спостереження.

При аналізі показників антиоксидантного захисту (табл. 2) встановлено, що у тварин I групи активність каталази вірогідно зростала впродовж перших 12 год з часу моделювання ПГП, при цьому у тварин II та III груп цей показник був вірогідно нижчим у порівнянні

Таблиця 1

Динаміка показників пероксидного окиснення в сироватці крові щурів (M±m)

Показники	Інтактні n=7	12 годин			24 годин				
		контроль n=6	I, n=10	II, n=8	III, n=10	контроль n=6	I, n=7	II, n=7	III, n=7
Малоновий альдегід, кмоль/л	13,38±1,38	16,23±1,09 P ₁₋₂ **	20,91±2,56 P ₁₋₃ *** P ₂₋₃ ***	16,24±1,81 P ₁₋₄ ** P ₃₋₄ ***	16,95±1,36 P ₁₋₅ *** P ₃₋₅ ***	15,96±1,43 P ₁₋₆ **	23,17±1,75 P ₁₋₇ *** P ₃₋₇ * P ₆₋₇ ***	17,27±1,27 P ₁₋₈ *** P ₇₋₈ ***	13,90±1,64 P ₃₋₉ ** P ₆₋₉ * P ₇₋₉ *** P ₈₋₉ **
ОМБ, кмоль/г	0,91±0,07	1,04±0,19	2,41±0,33 P ₁₋₃ *** P ₂₋₃ ***	2,01±0,11 P ₁₋₄ *** P ₂₋₄ *** P ₃₋₄ **	1,93±0,13 P ₁₋₅ *** P ₂₋₅ *** P ₃₋₅ ***	0,95±0,20	2,68±0,13 P ₁₋₇ *** P ₃₋₇ * P ₆₋₇ ***	2,50±0,06 P ₁₋₈ *** P ₄₋₈ *** P ₆₋₈ *** P ₇₋₈ *	1,97±0,22 P ₁₋₉ *** P ₆₋₉ *** P ₇₋₉ *** P ₈₋₉ ***

Примітка: * – коефіцієнт вірогідності P<0,05; ** – P<0,01; *** – P<0,001 (наведені тільки статистично вірогідні відмінності).

Таблиця 2

Динаміка показників антиоксидантного захисту в сироватці крові щурів (M±m)

Показники	Інтактні, n=7	12 годин			24 годин				
		контроль, n=6	I, n=10	II, n=8	III, n=10	контроль, n=6	I, n=7	II, n=7	III, n=7
Каталаза мкмоль* 104/хв.*л	4,94±0,41	4,91±0,53	5,71±0,23 P ₁₋₃ ** P ₂₋₃ *	5,28±0,22 P ₃₋₄ **	5,07±0,39 P ₃₋₅ ***	4,59±0,09	5,12±0,60 P ₃₋₇ *** P ₆₋₇ ***	4,78±0,23 P ₄₋₈ *** P ₇₋₈ **	4,87±0,27 P ₆₋₉ * P ₇₋₉ *
Церулоплазмін, мг/л	178,88±7,39	161,73±29,69	208,95±24,62 P ₁₋₃ ** P ₂₋₃ **	192,06±33,51	172,03±20,84 P ₃₋₅ **	166,54±29,73	244,00±24,29 P ₁₋₇ *** P ₃₋₇ * P ₆₋₇ ***	211,88±31,55 P ₁₋₈ * P ₆₋₈ *	203,38±35,25 P ₇₋₉ *

Примітка: * – коефіцієнт вірогідності P<0,05; ** – P<0,01; *** – P<0,001 (наведені тільки статистично вірогідні відмінності).

з I групою відповідно на 7 % та 11 %, а через 24 год активність цього фермента в усіх групах прогресивно знижувалася.

При аналізі динаміки концентрації церулоплазміну встановлено, що у тварин I групи вона вірогідно зростала через 12 та 24 год (відповідно на 40 % та 50 %). У II та III групах через 12 год показники змінювались невірогідно, а через 24 год у II групі концентрація церулоплазміну зростала на 30 %. У тварин III групи концентрація церулоплазміну була вірогідно нижчою, ніж у I групі впродовж всього періоду спостереження.

При аналізі протеолітичної активності сироватки крові у тварин (табл. 3) встанов-

лено, що в порівнянні з контролем у I групі активність за азоальбуміном зросла через 12 год на 43 %, а через 24 год – на 112 %; за азоказеїном – відповідно на 46 % і 63 %, за азоколом – в 2,2 і 4,4 раза. З наведених даних очевидна виражена інтенсивність протеолітичного розпаду низькомолекулярних білків та колагену, що може бути зумовлено активацією протеолітичних систем не тільки сироватки крові, але й безпосереднім попаданням у судинне русло активованих протеїназ підшлункової залози. Оцінка активності протеолізу низькомолекулярних білків може бути використана в клінічній практиці як один з діагностичних критеріїв

Динаміка показників протеолітичної активності сироватки крові щурів (M±m)

Показники	Інтактні, n=7	12 годин			24 годин				
		контроль, n=6	I, n=10	II, n=8	III, n=10	контроль, n=6	I, n=7	II, n=7	III, n=7
Азоальбумін, мл/год	5,22±0,67	5,46±0,67	7,81±1,11 P ₁₋₃ *** P ₂₋₃ ***	7,55±0,84 P ₁₋₄ *** P ₂₋₄ ***	4,74±0,69 P ₃₋₅ *** P ₄₋₅ ***	5,11±0,59	11,61±1,16 P ₁₋₇ *** P ₃₋₇ *** P ₆₋₇ ***	10,53±1,34 P ₁₋₈ *** P ₄₋₈ *** P ₆₋₈ ***	5,97±0,18 P ₁₋₉ * P ₅₋₉ ** P ₆₋₉ ** P ₇₋₉ *** P ₈₋₉ ***
Азоказеїн, мл/год	6,88±0,53	6,99±0,55	10,24±0,87 P ₁₋₃ *** P ₂₋₃ ***	9,82±1,32 P ₁₋₄ ** P ₂₋₄ **	7,85±0,41 P ₁₋₅ ** P ₂₋₅ ** P ₃₋₅ *** P ₄₋₅ *	6,83±0,69	11,36±0,97 P ₁₋₇ *** P ₃₋₇ * P ₆₋₇ ***	9,87±0,42 P ₁₋₈ *** P ₆₋₈ *** P ₇₋₈ **	6,52±0,69 P ₅₋₉ ** P ₇₋₉ *** P ₈₋₉ ***
Азокол, мл/год	0,62±0,15	0,70±0,19	1,52±0,11 P ₁₋₃ *** P ₂₋₃ ***	1,31±0,16 P ₁₋₄ *** P ₂₋₄ *** P ₃₋₄ *	1,15±0,14 P ₁₋₅ *** P ₂₋₅ *** P ₃₋₅ ***	0,53±0,17	1,66±0,22 P ₁₋₇ *** P ₆₋₇ ***	1,33±0,17 P ₁₋₈ *** P ₆₋₈ *** P ₇₋₈ ***	1,12±0,26 P ₁₋₉ ** P ₆₋₉ ** P ₇₋₉ **

Примітка: * – коефіцієнт вірогідності P<0,05; ** – P<0,01; *** – P<0,001 (наведені тільки статистично вірогідні відмінності).

Динаміка показників фібринолітичної активності сироватки крові щурів (M±m)

Показники	Інтактні, n=7	12 годин			24 годин				
		контроль, n=6	I, n=10	II, n=8	III, n=10	контроль, n=6	I, n=7	II, n=7	III, n=7
СФА, мл/год	2,02±0,36	2,15±0,38	2,83±0,22 P ₁₋₃ *** P ₂₋₃ ***	2,74±0,12 P ₁₋₄ ** P ₂₋₄ **	2,22±0,21 P ₃₋₅ *** P ₄₋₅ ***	2,04±0,37	2,64±0,56 P ₁₋₇ * P ₆₋₇ *	2,39±0,27 P ₄₋₈ *	2,05±0,19 P ₇₋₉ * P ₈₋₉ *
ФА, мл/год	0,97±0,20	1,05±0,23	1,36±0,11 P ₁₋₃ ** P ₂₋₃ **	1,37±0,05 P ₁₋₄ ** P ₂₋₄ **	1,05±0,11 P ₃₋₅ *** P ₄₋₅ ***	0,99±0,21	1,29±0,31 P ₁₋₇ * P ₆₋₇ *	1,28±0,29 P ₁₋₈ *	0,97±0,09 P ₇₋₉ * P ₈₋₉ *
НФА, мл/год	1,05±0,16	1,11±0,17	1,47±0,11 P ₁₋₃ *** P ₂₋₃ ***	1,37±0,09 P ₁₋₄ ** P ₂₋₄ **	1,17±0,10 P ₃₋₅ *** P ₄₋₅ **	1,04±0,17	1,35±0,27 P ₁₋₇ * P ₆₋₇ *	1,11±0,18 P ₄₋₈ **	1,08±0,10 P ₇₋₉ *

Примітка: * – коефіцієнт вірогідності P<0,05; ** – P<0,01; *** – P<0,001 (наведені тільки статистично вірогідні відмінності).

деструктивного процесу в підшлунковій залозі.

Про ефективність попередження активації протеолізу методом перитонеосорбції свідчить динаміка показників протеолітичної активності у тварин II та III груп. У тварин II групи ці показники хоч вірогідно й зростали, але були нижчими, ніж у I групі впродовж всього періоду спостереження.

У тварин III групи макроскопічні ознаки свідчили про зменшення проявів деструктивного процесу, що виражалось зменшенням кількості та обмеженням стеатонекрозів, зменшенням набряку та некрозу підшлункової залози, і супроводжувались незначною активацією протеолізу. Активність за азоальбуміном майже не змінювалася, перевищуючи контрольні показники

на 9 % лише через 24 год, за азоказеїном вірогідно зростала впродовж 12 год, а через 24 год мала вірогідну тенденцію до зниження. Активність за азоколом через 12 год вірогідно зростала у порівнянні з контролем і в подальшому майже не змінювалася. Одержані результати свідчать про можливість практичного використання при ППП розроблених методів перитонеосорбції.

При аналізі фібринолітичної активності сироватки крові у тварин (табл. 4) встановлено, що сумарна фібринолітична активність (СФА) у тварин I групи вірогідно зростала через 12 год (на 30 %) за рахунок як ферментативної (ФА) так і неферментативної активності (НФА), а через 24 год хоч і знижувалася, однак зберігалася вірогідно (на 22 %) вищою за контрольні показники. У II групі СФА вірогідно зростала через 12 год на 25 %, а через 24 год показники були на рівні контрольних даних. У III групі показники СФА, ФА та НФА вірогідно не змінювалися впродовж всього періоду дослідження.

Отже, дослідження свідчить, що розміщення в очеревинній порожнині контейнера із сорбентом з антиферментними властивостями суттєво знижує прогресування деструктивних процесів у підшлунковій залозі, запобігає активації процесів пероксидного окиснення, сприяє пригніченню проте-

олізу і фібринолізу, зменшує патогенний вплив панкреатичних ферментів на прилеглі тканини завдяки зниженню ферментемії.

Додамо, що при збереженні загальної тенденції до позитивного впливу виразніший ефект виявлено при використанні ентеросгелю. Розміщення його в очеревинній порожнині призводило до вираженого пригнічення процесів пероксидного окиснення, протеолізу і фібринолізу.

Висновки. 1. Панкреатогенний перитоніт у експериментальних тварин супроводжується вираженою активацією процесів пероксидного окиснення з неадекватною реакцією ферментів антиоксидантного захисту, що свідчить про дисбаланс про- та антиоксидантних систем. 2. При панкреатогенному перитоніті спостерігається виражена активація процесів протеолізу, більше виражена до низькомолекулярних пептидів, що може слугувати діагностичним критерієм деструктивного процесу в підшлунковій залозі. 3. Розміщення в очеревинній порожнині контейнера із сорбентом з антиферментними та антибактеріальними властивостями запобігає прогресуванню процесів пероксидного окиснення, пригнічує протеоліз і фібриноліз у сироватці крові експериментальних тварин, що сприяє зменшенню деструктивних процесів у підшлунковій залозі.

Література

1. *Peritoneal fibrinolytic activity in peritonitis* / A.Ince, A.Eroglu, O.Tarhan, M.Bulbul // *Am. J. Surg.* – 2002. – Vol. 183, № 1. – P. 67-69.
2. Криворучко И.А. Роль оксида азота и перекисного окисления липидов в патогенезе экспериментального перитонита / И.А.Криворучко, А.А.Федорович // *Клін. хірургія.* – 2005. – № 1. – С. 58-62.
3. *The effects of somatostatin and octreotide on experimental and human acute pancreatitis* / R.Greenberg, R.Illadad, H.Kashan, O.Kaplan // *J. lab. Clin. Med.* – 2000. – Vol. 135, № 2. – P. 112-121.
4. *The significance of the dosage adjustment of octreotide in the treatment of acute pancreatitis of moderate severity* / G.C.Nikou, T.P.Arnaoulis, E.J.Giamarellos-Bourboulis [et al.] // *Hepatogastroenterology.* – 2001. – Vol. 48, № 42. – P. 1754-1757.
5. *Efficacy of somatostatin and its analogues in the treatment of acute pancreatitis clinical retrospective study* / G.Cilone, S.Perri, M.Jr.Nardi [et al.] // *J. Chir.* – 2001. – Vol. 22, № 4. – P. 139-149.
6. Кебкало А.Б. Зміни в системі регуляції агрегатного стану крові у морських свинок з моделлю панкреонекрозу / А.Б.Кебкало // *Шпит. хірургія.* – 2005. – № 3. – С. 101-103.
7. *Octreotide treatment in patients with severe acute pancreatitis* / H.Paran, A.Mayo, D.Paran [et al.] // *Dig. Dis. Sci.* – 2000. – Vol. 45, № 11. – P. 2247-2251.
8. *Результаты применения синтетических антиоксидантов в лечении больных деструктивным панкреатитом* / Н.А.Кузнецов, Г.В.Родоман, А.Т.Бронтвейн [и др.] // *Хирургия.* – 2005. – № 3. – С. 36-39.
9. *Лечение больных панкреонекрозом* / Н.А.Кузнецов, Г.В.Родоман, А.Т.Бронтвейн [и др.] // *Хирургия.* – 2004. – № 12. – С. 22-27.
10. Короткий В.М. Сучасний етіопатогенетичний підхід у лікуванні гострого панкреатиту / В.М.Короткий, Р.Ю.Спицин, І.В.Колосович // *Шпит. хірургія.* – 2004. – № 1. – С. 32-36.
11. Пат. 30930 UA

А61В 17/00. Спосіб лікування деструктивних форм гострого панкреатиту / І.Ю.Полянський (UA), В.В.Максим'юк (UA), О.Г.Харабара (UA), В.В.Андрієць (UA), Я.В.Гирла (UA). – Заявл. 11.07.05, № 200506859. Опубл. 15.01.07, Бюл. № 1.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРИТОНЕОСОРБЦИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАНКРЕАТОГЕННОМ ПЕРИТОНИТЕ

Резюме. На модели панкреатогенного перитонита изучена эффективность разработанных методов интраперитонеальной пролонгированной сорбции. Разработанные методы угнетают активацию пероксидного окисления, протеолиза и фибринолиза, что способствует уменьшению деструктивных процессов в поджелудочной железе.

Ключевые слова: панкреатогенный перитонит, интраперитонеальная сорбция, пероксидное окисление, антиоксидантная защита, протеолиз, фибринолиз.

PATHOGENETIC ASPECTS OF THE EFFECTIVITY OF PERITONEOSORPTION UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL PANCREATOGENIC PERITONITIS

Abstract. The efficacy of elaborated methods of intraperitoneal prolonged sorption has been studied on a model of pancreatogenic peritonitis. The elaborated methods inhibit the activation of peroxidation, proteolysis and fibrinolysis, contributing to a decrease of the destructive process in the pancreas.

Key words: pancreatogenic peritonitis, intraperitoneal sorption, peroxidation, antioxidant protection, proteolysis, fibrinolysis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Надійшла 20.06.2008 р.

Рецензент – проф. В.М.Коновчук (Чернівці)