

**В.В. Максим'юк,
І.Ю. Полянський**

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ГЕНЕРАЛІЗАЦІЇ ПАНКРЕАТИЧНОЇ α-АМІЛАЗИ ПРИ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Ключові слова: α-амілаза, гострий панкреатит.

Резюме. В експерименті при гострому панкреатиті вивчено особливості змін активності α-амілази в крові, сечі, тканинах підшлункової залози, печінки та легень. Встановлено, що перебіг захворювання характеризується вираженим наростанням активності панкреатичної α-амілази в тканинах підшлункової залози з наступною її генералізацією в систему портальної та нижньої порожнистої вен. Це призводить до запуску захисних бар'єрних механізмів легень та печінки, що попереджує наростання α-амілаземії в периферичному венозному руслі. При оцінці діагностичної інформативності рівня α-амілаземії в різних венозних руслах встановлено, що найбільш інформаційним та специфічним для гострого панкреатиту є визначення активності панкреатичної α-амілази в крові портальної вени.

Вступ

Сучасні підходи до діагностики гострого панкреатиту та прогнозування його перебігу включають обов'язкову динамічну оцінку активності α-амілази крові та сечі [1,3,9]. Разом із тим, діагностична чутливість та специфічність цього показника при різних формах ураження підшлункової залози, за даними різних дослідників, може коливатися в межах від 30 до 80 % [1,2,5,7,8,12]. Основною причиною таких розбіжностей є те, що в нормі панкреатична α-амілаза (Р-тип) визначає тільки 35-45% загальної активності цього ферменту в сироватці крові, а решту її частину складає непанкреатична α-амілаза, яка синтезується, в основному, у слинних залозах (S-тип) та, у незначній кількості, в печінці, тонкій кишці, нирках та маткових трубах [3,4,8,10,11]. Окрім того, α-амілаза може продукуватися злякисними пухлинами легень, стравоходу, молочної залози та матки [3,10]. Відповідно, така політопічність джерел, які визначають сумарну активність α-амілази крові та сечі, може призводити до суттєвих змін її рівня не тільки при гострому панкреатиті, а й при багатьох інших захворюваннях (кишкова непрохідність, проривна виразка, мезентеріальний тромбоз, алкогольна інтоксикація, діабетичний кетоацидоз, паротит та ін.) [3,8,10].

Незважаючи на це, патогенетичні механізми, які визначають рівень активності α-амілази сироватки крові, шляхи її генералізації та можливий патологічний дистанційний вплив на органи-мішені (печінка, легені) при гострому

панкреатиті залишаються практично не вивченими. Проведення таких досліджень, на нашу думку, може не тільки поглибити уяву про патогенез гострого панкреатиту, а й напрацювати нові підходи до оцінки діагностичної значимості визначення активності α-амілази на різних стадіях перебігу гострого панкреатиту.

Мета дослідження

Дослідити в експерименті нові ланки патогенезу гострого панкреатиту, шляхом вивчення особливостей змін активності α-амілази крові в різних венозних руслах та визначення провідних шляхів її системної генералізації.

Матеріал і методи

Об'єктом експериментальних досліджень стали 63 статевозрілих сірих кроликів, вагою від 8 до 10 кг, в яких перед ініціацією панкреатиту виконували катетеризацію стегнової, портальної та грудного відділу нижньої порожнистої вен. Експериментальний панкреатит моделювали за власною методикою, суть якої полягає у відтворенні протокової гіпертензії шляхом перев'язки вивідної біліопанкреатичної протоки з наступним введенням у тканини підшлункової залози розчину медичної жовчі з трипсином (заявка на корисну модель № u 2011 08099). Забір крові та сечі проводили до моделювання панкреатиту, а також на 1-у, 3-ю, 5-у та 7-у доби з моменту його ініціації. У ці ж терміни проводили забір тканин підшлункової залози, печінки та легень, після чого готували 10 % розчин гомогенату тканин на буферному розчині. Паралельно проводили

оцінку морфологічних проявів гострого панкреатиту.

Активність α -амілази в біологічних рідинах (кров, сеча, 10% буферний розчин гомогенату тканин) визначили за методом W.T. Saraway (1959) [6].

При виконанні досліджень дотримувалися загальноприйнятих світових та вітчизняних норм здійснення досліджень у галузі біології та медицини, а саме: положеннями Гельсінської декларації з прав людини, Ванкуверської конвенції про біомедичні дослідження (1979, 1994) та інших законодавчих актів, що діють на території України.

Обговорення результатів дослідження

При оцінці морфологічних ознак експериментального гострого панкреатиту встановлено, що на 24 год його перебігу визначався набряк підшлункової залози, з наявністю окремих субкапсулярних вогнищевих крововиливів. Через 72 год з часу ініціації панкреатиту констатували наростання набряку підшлункової залози та прилеглих тканин, гіперемію місцевої очеревини, збільшення кількості вогнищевих крововиливів, появу стеатонекрозів та геморагічного перитонеального ексудату. На 5-7-у добу перебігу експериментального панкреатиту виявлялися вірогідні ознаки прогресуючого поширеного геморагічного панкреонекрозу: виражений набряк підшлункової залози з наявністю поширених вогнищ геморагічної імбібіції місцевих тканин, дифузних крововиливів і стеатонекрозів.

У результаті вивчення активності α -амілази крові встановлено, що її величини в стегновій та грудному відділі нижньої порожнистої вен вірогідно між собою не відрізнялись і становили $7,67 \pm 1,17 \text{ мкг/с*л}$ та $7,86 \pm 1,31 \text{ мкг/с*л}$ відповідно ($p > 0,05$), у той час, як активність α -амілази крові портальної вени (тобто панкреатичної α -амілази) була вірогідно нижчою, майже у 2 рази – $4,34 \pm 0,84 \text{ мкг/с*л}$ ($p < 0,05$).

Через 24 год з часу ініціації панкреатиту в крові стегнової вени, при порівнянні з контролем, відмічено вірогідне зростання активності α -амілази до $12,47 \pm 1,17 \text{ мкг/с*л}$ ($p < 0,05$). У нижній порожнистій вені вказаний показник становив $8,22 \pm 2,27 \text{ мкг/с*л}$ і вірогідно від контролю не відрізнявся ($p > 0,05$). Активність α -амілази крові портальної вени складала $1,96 \pm 0,95 \text{ мкг/с*л}$ і, при порівнянні з контролем, мала вірогідну тенденцію до зниження ($p = 0,06$), а при порівнянні зі стегноюю та нижньою порожнистою венами була вірогідно нижчою ($p < 0,01$ та $p < 0,001$ відповідно).

З 24 по 72 год перебігу експериментального

панкреатиту констатовано зростання активності α -амілази крові портальної та нижньої порожнистої вен у 4 та 2 рази, відповідно ($p < 0,001$), у той час, як у стегновій вені величина вказаного показника вірогідно не змінювалась. Окрім того, виявлено, що активність α -амілази в крові грудного відділу нижньої порожнистої вени була вірогідно вищою, ніж у стегновій та портальній венах ($p < 0,05$ та $p < 0,001$ відповідно).

З третьої по сьому добу перебігу експериментального панкреатиту активність α -амілази крові стегнової вени вірогідно знижувалась у 1,8 рази ($p < 0,05$) і не відрізнялась від такої в контролі. У крові нижньої порожнистої вени, впродовж вказаного проміжку часу, виявлено зниження активності α -амілази більше, ніж у 4 рази ($p < 0,001$) та тенденцію до зниження в порівнянні з вихідною величиною ($p = 0,08$). Активність α -амілази крові портальної вени на 3-ю добу перебігу панкреатиту вірогідно перевищувала її вихідний рівень ($p < 0,05$), а в порівнянні з 5-ою та 7-ою добами вірогідно не відрізнялась ($p > 0,05$).

При дослідженні активності α -амілази у тканинах встановлено, що її величина у гомогенаті підшлункової залози становила $25,28 \pm 2,59 \text{ мкг/с*л}$ і вірогідно перевищувала такий показник у гомогенатах легень та печінки – $11,94 \pm 2,17 \text{ мкг/с*л}$ та $5,93 \pm 2,27 \text{ мкг/с*л}$ відповідно ($p < 0,001$). Окрім того, виявлено, що активність α -амілази у тканинах печінки була вірогідно вищою, ніж у тканинах легень ($p < 0,05$).

Через 24 год з часу ініціації панкреатиту активність α -амілази у тканинах печінки вірогідно не змінювалась ($p > 0,05$), у тканинах легень – зростала у 2,5 рази ($p < 0,01$), а в тканинах підшлункової залози – знижувалась більше, ніж у 2,5 рази ($p < 0,01$).

На 72 год перебігу експериментального гострого панкреатиту констатовано зростання активності α -амілази в гомогенаті тканин підшлункової залози в порівнянні з вихідним показником майже в 1,5 рази ($p < 0,05$), а при порівнянні з 24 год – більше ніж у 3,5 рази ($p < 0,001$). Активність α -амілази у тканинах легень характеризувалася тенденцією до подальшого зростання і була вищою, ніж у контролі в 3,3 рази ($p < 0,01$), у той час, як у тканинах печінки величина вказаного показника вірогідно не змінювалась.

З третьої по сьому добу констатовано вірогідне зниження активності α -амілази в гомогенаті тканин легень у 1,7 рази ($p < 0,01$), а в гомогенаті тканин підшлункової залози – у 2 рази ($p < 0,01$). Окрім того виявлено, що активність α -амілази в тканинах легень на 5-у та 7-у доби була вірогідно вищою, ніж у контролі ($p < 0,05$), а в тканинах під-

Таблиця

Активність α -амілази венозної крові, гомогенату тканин та сечі у різні терміни перебігу гострого панкреатиту в експерименті ($\text{мг}/\text{с}^*_{\text{л}}$)

№	Час з моменту моделювання панкреатиту	α -амілаза крові			α -амілаза гомогенату тканин			α -амілаза сечі
		Стегнова вена	Портальна вена	Нижня порожниста вена	Легені	Печінка	Підшлункова залоза	
		a	b	c	a	b	c	
1.	Контроль n=63	7,67 \pm 1,17	4,34 \pm 0,84 P_{b-a} <0,05	7,86 \pm 1,31	5,93 \pm 1,84	11,94 \pm 2,17 P_{b-a} <0,05	25,28 \pm 2,59 $P_{c-a,b}$ <0,001	33,67 \pm 15,50
2.	Панкреатит 24 год n=63	12,47 \pm 2,01 P_{1-2} <0,05	1,96 \pm 0,95 P_{b-a} <0,01 P_{b-c} <0,001	8,22 \pm 2,27	14,90 \pm 2,56 P_{1-2} <0,01	9,88 \pm 1,56	9,65 \pm 4,01 P_{1-2} <0,01	74,80 \pm 9,41 P_{1-2} <0,05
3.	Панкреатит 72 год n=57	11,10 \pm 1,76 P_{a-c} <0,05	9,04 \pm 1,01 $P_{1,2-3}$ <0,001 P_{b-c} <0,001	16,99 \pm 2,12 P_{1-3} <0,001 P_{2-3} <0,01	19,89 \pm 1,87 P_{1-3} <0,01	9,50 \pm 2,89 P_{b-a} <0,01	35,21 \pm 3,45 $P_{c-a,b}$ <0,001 P_{1-3} <0,05 P_{2-3} <0,001	130,25 \pm 29,40 P_{1-3} <0,01
4.	Панкреатит 5 діб n=44	10,69 \pm 1,34	7,98 \pm 0,68 P_{1-4} <0,01 P_{2-4} <0,001	10,41 \pm 2,55 P_{3-4} <0,05	13,39 \pm 3,01 P_{1-4} <0,05	14,06 \pm 1,97	18,32 \pm 2,49 P_{3-4} <0,05	9,00 \pm 3,15 $P_{2,3-4}$ <0,001
5.	Панкреатит 7 діб n=39	6,30 \pm 1,27 $P_{2,3,4-5}$ <0,05	6,98 \pm 0,79 $P_{1,2-5}$ <0,05	4,11 \pm 1,74 P_{3-5} <0,001 P_{4-5} <0,05	11,70 \pm 1,76 P_{1-5} <0,05 P_{3-5} <0,01	17,57 \pm 2,18 P_{2-5} <0,01 P_{3-5} <0,05 P_{a-b} <0,05	17,71 \pm 4,11 P_{3-5} <0,01	13,04 \pm 4,48 $P_{2,3-5}$ <0,001

Примітка: наведено тільки статистично вірогідні відмінності

шлункової залози величини вказаних показників характеризувались тенденцією до зниження, у порівнянні з вихідним рівнем ($p=0,06$ та $p=0,09$ відповідно). Натомість, активність α -амілази в тканинах печінки у вказаний проміжок часу зростала майже у 2 рази ($p<0,05$), перевищуючи вихідну величину в 1,5 рази ($p<0,05$).

При дослідженні α -амілази сечі встановлено, що середні величини її активності в інтактних кроликів становили 33,67 \pm 2,27 $\text{мг}/\text{с}^*_{\text{л}}$. Через 24 год з часу ініціації панкреатиту величина вказаного показника зростала більше ніж у 2 рази ($p<0,05$), а через 72 год – майже в 4 рази ($p<0,01$). На 5-у та 7-у доби констатовано вірогідне зниження активності α -амілази сечі нижче вихідного рівня ($p<0,001$).

Результати комплексного аналізу свідчать, що через 24 год з часу ініціації експериментального панкреатиту спостерігається зниження активності α -амілази в тканинах підшлункової залози та у крові портальної вени на фоні помірного зростання вказаного показника в крові стегнової вени і сечі та різкого його підвищення в тканинах легень. На нашу думку, це може свідчити про те,

що в перші 24 год перебігу гострого панкреатиту, який характеризується порушенням відтоку панкреатичного секрету, відбувається масивне вивільнення α -амілази з тканин підшлункової залози і наступне поступлення ферменту не в кров портальної вени, а в лімфатичне русло. Подальша генералізація ліпази відбувається шляхом її транслокації у верхню порожнисту вену та легені з наступним її поступленням у системний кровотік.

Третя доба перебігу гострого панкреатиту характеризується вираженим зростанням активності α -амілази в тканинах підшлункової залози, крові портальної і нижньої порожнистої вен, сечі та тенденцією до її підвищення в тканинах легень на фоні відсутності змін величин вказаного показника в тканинах печінки та стегнової вени. Такі зміни, з нашого погляду вказують на те, що через 72 год з часу ініціації гострого панкреатиту відбувається підвищення активності автокаталітичного процесу в тканинах підшлункової залози, що супроводжується генералізацією панкреатичної ліпази шляхом її поступлення в кров портальної вени з наступним транзитним

проходженням через тканини печінки та потраплянням у кров нижньої порожнистої вени. Паралельне зростання активності α -амілази в портальній та нижній порожнистій венах на фоні сталих величин вказаного показника в печінці, на нашу думку, свідчить про можливість проходження панкреатичної ліпази через печінковий бар'єр. Натомість, виражене зростання активності α -амілази в крові грудного відділу нижньої порожнистої вени та у тканинах легень на фоні помірного підвищення загальної активності цього ферменту в стегновій вені свідчить про те, що впродовж перших трьох діб перебігу гострого панкреатиту первинним бар'єрним органом, який запобігає наростанню системної ферментемії є легень. Ініціація вказаного захисного механізму відбувається в перші 24 год з часу моделювання панкреатиту, з подальшим його функціонуванням до 7-ї доби перебігу захворювання.

Поява вірогідних макроморфологічних проявів поширеного панкреонекрозу відбувається на 5-7-у доби перебігу гострого панкреатиту і характеризується зниженням активності α -амілази в крові портальної, нижньої порожнистої і стегнової вен, сечі та в тканинах підшлункової залози на фоні підвищення вказаного показника в тканинах легень і, особливо, печінки. При цьому, зниження рівня амілаземії, з нашого погляду, відбувається в основному не за рахунок зниження активності α -амілази в тканинах підшлункової залози, а за рахунок ініціації бар'єрної функції печінки та функціонування захисного бар'єрного механізму в легенях. Доказом цього, на нашу думку, є те, що, попри тенденцію до зниження, активність α -амілази в тканинах підшлункової залози та портальної вени на 7-у добу залишається вищою за вихідні величини, у той час, як активність α -амілази в тканинах печінки наростає, а в стегновій та грудному відділі нижньої порожнистої вен - знижується.

Підсумовуючи результати досліджень можна дійти висновку, що перебіг експериментального гострого панкреатиту характеризується вираженою активацією панкреатичної α -амілази в тканинах підшлункової залози з її наступною генералізацією в систему портальної та нижньої порожнистої вен, що ініціює запуск захисних бар'єрних механізмів у легенях та печінці, які попереджують наростання амілаземії в периферичному венозному руслі.

Висновки

При оцінці активності α -амілази крові, як одного з діагностичних маркерів гострого панкреатиту, найбільш інформаційне та специфічне значення має визначення змін панкреатичної

α -амілази в крові портальної вени.

Підвищення загальної активності α -амілази в крові периферійної вени є інформаційним, проте, неспецифічним маркером гострого панкреатиту.

Підвищення активності α -амілази в крові порожнистих та портальної вен супроводжується ініціацією захисних бар'єрних механізмів легень та печінки, функціонування яких попереджує наростання амілаземії в периферичному венозному руслі.

Перспективи подальших досліджень

Перспективним є подальше вивчення особливостей виникнення ферментемії при гострому панкреатиті, що може скласти основу для напрацювання нових методів його діагностики.

Література

1. Губергриц Н. Б., Христич Т. Н. Клиническая панкреатология. — Донецк: Лебідь, 2000. — 451 с.
2. Захарова И.Н. Экзокринная недостаточность поджелудочной железы / И.Н. Захарова, Н.А. Коровина, И.Е. Малова // *Міжнародний ендокринологічний журнал*. — 2009. - №4, Т.22. — С. 57-60.
3. Ройтберг Г.Е. Внутренние болезни. Лабораторная и инструментальная диагностика заболеваний внутренних органов / Г.Е. Ройтберг; А.В. Струтынский. — М: Медпресс, 2011. - 800 с.
4. Хендерсон Д.М. Патофизиология органов пищеварения. — М.: Бином, 1997. — 288 с.
5. Butler J. Serum amylase and acute pancreatitis / J. Butler, D. Bates // *Emerg. Med. J.* — 2003. - Vol. 20. — P. 550-551.
6. Caraway W.T. A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids / W.T. Caraway // *Am. J. Clin. Pathol.* - 1959, Vol.32. - P.97-99.
7. Evans B. Acute pancreatitis with normal amylase / B. Evans, W. Robinson, J. Pettit // *Digestive Diseases and Sciences.* — 1986. — Vol. 31, № 7. — P. 779-780.
8. Gumaste V. Serum amylase levels and acute pancreatitis / V. Gumaste // *Gut.* - 1993. Vol. 34, № 3. - P. 429.
9. Lowenfels A. The changing character of acute pancreatitis: epidemiology, etiology and prognosis / A. Lowenfels, P. Maisonneuve, T. Sullivan // *Curr. Gastroenterol. Rep.* — 2009. - Vol. 11, № 2. — P. 97-103.
10. Malinoski D.J. Elevated serum pancreatic enzyme levels after hemorrhagic shock predict organ failure and death / D.J. Malinoski, P. Hadjizacharia, A. Salim, [et al.] // *J. Trauma.* — 2009. — Vol. 67, №3. P. - 445-449.
11. Ruben O. Amylase clearance in acute pancreatitis experimental study in the guinea pig / O. Ruben, O.Sara, T. Wiznitzer // *Journal of Surgical Research.* — 1976. —Vol. 21, № 6. — P. 457-461.
12. Wang G. Acute pancreatitis: Etiology and common pathogenesis / G. Wang, C. Gao, D. Wei [et. al.] // *World J. Gastroenterol.* — 2009. — Vol. 15, №12. - P. 1427-1430.

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕРАЛИЗАЦИИ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ α -АМИЛАЗЫ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В.В. Максимюк, И.Ю. Полянский

Резюме. В эксперименте при остром панкреатите исследовано особенности измененной активности α -амилазы в крови, моче, тканях поджелудочной железы, печени и легких. Установлено, что течение заболевания характеризуется выраженным нарастанием активности панкреатической α -амилазы в тканях поджелудочной железы с последующей ее генерализацией в систему портальной и нижней полой вены. Это приводит к запуску защитных барьерных механизмов легких и печени, что предотвращает нарастание амилаземии в периферическом венозном русле. При оцен-

ке диагностической информативности уровня амилаземии в различных венозных руслах установлено, что наиболее информативным и специфическим для острого панкреатита является определение активности панкреатической α -амилазы в крови портальной вены.

Ключевые слова: α -амилаза, острый панкреатит.

PATHOGENETIC MECHANISMS OF GENERALIZATION OF PANCREATIC α -AMYLASE IN ACUTE PANCREATITIS IN EXPERIMENT

V.V. Maksym'yuk, I.YU. Polianskiy

Abstract. Peculiarities of α -amylase activity in the blood, urine and tissues of the pancreas, liver and lungs. Have been studied in the experiment with acute pancreatitis. It has been determined that the disease is characterized by a marked

intensification of activity of pancreatic α -amylase in the tissues of the pancreas, followed by its generalization in the system of portal and cava inferior veins. This leads to the launch of protective barrier mechanisms of the lungs and liver that prevents the amilase increase in the peripheral venous bloodstream. In assessing the level of amylase in different venous blood streams it has been determined that the most informative and specific for acute pancreatitis is to determine the activity of pancreatic α -amylase in the blood of portal vein.

Key words: α -amylase, acute pancreatitis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and expir. pathol. - 2011. - Vol. 10, №4 (38). - P.69-73

Надійшла до редакції 20.10.2011

Рецензент - проф. В.П. Польовий

© В.В. Максим'юк, І.Ю. Полянський, 2011