

На правах рукописи

Федоренко Виталий Никитович

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНОВ
ПАНКРЕАТОДУОДЕНАЛЬНОЙ ЗОНЫ ПРИ ОСТРОМ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАНКРЕАТИТЕ И
В УСЛОВИЯХ ЕГО КОРРЕКЦИИ**

14.03.02 – патологическая анатомия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2012

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (г. Новосибирск)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Надеев Александр Петрович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук

Кливер Евгений Эдуардович

(Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина, ведущий научный сотрудник лаборатории патоморфологии и электронной микроскопии)

доктор медицинских наук, доцент

Филимонов Павел Николаевич

(Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулёза, заведующий лабораторно-экспериментальным сектором)

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (г. Томск)

Защита диссертации состоится “_____” _____ 2012 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.05, созданного на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52 тел.: (8-383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52)

Автореферат разослан “_____” _____ 2012 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

А. В. Волков

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Острый панкреатит характеризуется высокой заболеваемостью, тяжёлым течением данного заболевания, значительной летальностью и отсутствием эффективного патогенетического лечения [Савельев В.С. и соавт., 2008, 2009].

Среди всей острой хирургической патологии органов брюшной полости панкреатит составляет 10 % – 12 % [Брискин Б.С. и соавт., 2008, 2009]. Число деструктивных форм острого панкреатита за последние 20 лет возросло с 15 % до 25 % [Шугаев А.И. и соавт., 2009]. Геморрагические формы острого панкреатита составили 10 % – 16 %, жировые – до 90 % от числа деструктивных форм острого панкреатита, при этом летальность в основном обусловлена за счёт геморрагических форм и достигает 51,5 % [Атанов Ю.А., 1983; Вискунов В.Г., 1995; Савельев В.С. и соавт., 2008]. Летальность при остром панкреатите в структуре смертности при острой хирургической патологии органов брюшной полости занимает первое место и, в среднем, составляет около 20 %, достигая при деструктивных формах 80 % [Банников С.И., Петренко Т.Ф., 2010; van Acker G.J. et al., 2007; Noor M.T., 2011].

При остром панкреатите выраженные морфологические изменения возникают не только в самой поджелудочной железе, но и в забрюшинной клетчатке, сальниковой сумке, брюшине, печени, двенадцатиперстной кишке [Луцевич Э.В., Чепленко Г.В., 2001; Zhang X.P., 2009].

В лечении острого панкреатита предпочтение отдано консервативным методам лечения с использованием препаратов, снижающих секреторную функцию поджелудочной железы [van Santvoort H.C. et al., 2011]. Одним из наиболее эффективных препаратов, применяемых при остром панкреатите, является октреотид (ЗАО «Фарм-Синтез», Россия) – синтетический октапептид, являющийся аналогом естественного гормона соматостатина и обладающий сходными с ним фармакологическими эффектами, но значительно большей продолжительностью действия. Препарат подавляет патологически повышенную секрецию гормона роста (соматотропного гормона), а также пептидов и серотонина, продуцируемых в гастро-энтеро-панкреатической эндокринной системе [Li J. et al., 2011].

Клинические проявления укусов змей гадюки обыкновенной (*Vipera*

berus), яды которой относятся к группе геморрагического, гемокоагулирующего и местного отёчно-некротического действия, во многом напоминают клинику панкреонекрозов, преимущественно геморрагического характера. Схожесть действия трипсина (основного пускового фактора протеолиза) с действием змеиного яда, сходство ферментативного и химического состава панкреатического сока человека и змеиного яда [Двинянинова Н.А., Вискунов В.Г., 2009] послужили основанием для экспериментального изучения сыворотки против яда гадюки, применяемой для лечения острого панкреатита.

Цель исследования. Изучить патоморфологические изменения в поджелудочной железе и органах гепатопанкреатодуоденальной зоны при остром экспериментальном панкреатите, индуцированном применением трипсина и змеиного яда, и его коррекции комплексом октреотида и сыворотки против яда гадюки.

Задачи исследования

1. Провести сравнительное изучение патоморфологических изменений в поджелудочной железе, печени и двенадцатиперстной кишке при остром экспериментальном панкреатите, индуцированном трипсином и змеиным ядом.

2. Методами морфометрии изучить структурные изменения в поджелудочной железе, печени и двенадцатиперстной кишке при остром экспериментальном панкреатите, индуцированном введением трипсина и змеиного яда, при применении октреотида.

3. Провести патоморфологическое исследование изменений в поджелудочной железе, печени и двенадцатиперстной кишке при остром экспериментальном панкреатите, индуцированном введением трипсина и змеиного яда, и при применении сыворотки против яда гадюки.

4. Оценить патоморфологические изменения в поджелудочной железе, печени и двенадцатиперстной кишке при остром экспериментальном панкреатите, индуцированном введением трипсина и змеиного яда, при лечении комплексом октреотида и сыворотки против яда гадюки.

Научная новизна

1. Впервые показано, что введение змеиного яда в поджелудочную железу приводит к структурным изменениям, идентичным при введении трипсина, с развитием прогрессирующего панкреонекроза, который по своим основным патоморфологическим проявлениям относится к смешанному типу с

преобладанием геморрагического компонента.

2. Впервые произведена сравнительная гистологическая и морфометрическая характеристика развития структурных изменений в печени и двенадцатиперстной кишке при остром панкреатите, индуцированном введением трипсина и змеиного яда, в эксперименте.

3. Впервые патогенетически обосновано применение сыворотки против яда гадюки и комплекса октреотида и сыворотки против яда гадюки при лечении острого панкреатита в эксперименте, с большей эффективностью последнего.

Практическая значимость. Показана однотипность патоморфологических изменений в поджелудочной железе, печени и двенадцатиперстной кишке при остром экспериментальном панкреатите, вызванном трипсином и змеиным ядом.

Показана эффективность применения октреотида и сыворотки против яда гадюки при остром экспериментальном панкреатите, вызванном введением трипсина и змеиного яда, что может служить предпосылкой для проведения клинических исследований по изучению эффективности сыворотки против яда гадюки при остром панкреатите.

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. Использование трипсина и змеиного яда приводит к развитию острого панкреонекроза, преимущественно геморрагического характера с вовлечением в патологический процесс печени и двенадцатиперстной кишки.

2. Применение октреотида, сыворотки против яда гадюки обыкновенной и комплекса данных препаратов при остром экспериментальном панкреатите, индуцированном введением трипсина и змеиного яда, снижает летальность экспериментальных животных и уменьшает масштабы патологических изменений, развивающихся в органах панкреатодуоденальной зоны.

Внедрение. Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры патологической анатомии при изучении темы «Патологическая анатомия заболеваний печени, поджелудочной железы» и научно-исследовательскую работу Центральной научно-исследовательской лаборатории Новосибирского государственного медицинского университета.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на проблемной комиссии «Морфологические основы компенсаторно-

приспособительный реакций» (2012), на совместном заседании кафедры хирургических болезней ФПК и ППВ и кафедры общей хирургии Новосибирского государственного медицинского университета (2009), на III съезде хирургов Сибири и Дальнего Востока (Томск, 2010), на Научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Авиценна» (Новосибирск 2009, 2010).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 7 статей – в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России для публикаций основных результатов исследования.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 143 страницах машинописного текста, содержит 63 рисунка и 5 таблиц. Работа состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов, методов исследования, главы с изложением собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций. Указатель литературы включает в себя 252 работы, из них 154 – отечественных и 98 – зарубежных авторов.

Личный вклад автора. Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на кафедре патологической анатомии (заведующий – д.м.н., академик РАМН В.А. Шкурупий) и в Центральной научно-исследовательской лаборатории Новосибирского государственного медицинского университета (заведующий – д.м.н., профессор М.Г. Пустоветова).

Исследования проводились с соблюдением требований Приказа МЗ СССР № 775 от 12 августа 1977 г. и правил Европейской конвенции по защите животных (Страсбург, 1986) и были одобрены комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета (протокол № 33 от 21 апреля 2011 г).

Работа выполнена на 2-месячных крысах-самцах породы «Вистар», массой 200-250 г. Животных, находящихся под эфирным наркозом, взвешивали, фиксировали к операционному столу. По ходу общего желчного протока, определяемого визуально и пальпаторно, шприцем объемом 1 мл. с

тонкой иглой 25 G ($0,5 \times 25$ мм) в поджелудочную железу вводили 0,85 % изотонический водный раствор, трипсин, яд гадюки обыкновенной (*Vipera berus*) или лекарственное вещество (октреотид или сыворотка против яда гадюки) в объёме 0,5 мл в головку и 0,5 мл в хвост поджелудочной железы.

В эксперименте было задействовано 180 животных, которые в зависимости от поставленных задач были разделены на 9 групп, по 20 животных в каждой.

Животным 1-й (контрольной) группы в поджелудочную железу вводили 1,0 мл 0,85 % изотонического водного раствора.

У животных 2-й группы острый панкреатит вызывали введением трипсина (ООО «Самсон-Мед», Россия) из расчёта дозы 50 мг/кг веса.

У животных 3-й группы острый панкреатит воспроизводили введением в поджелудочную железу раствора яда гадюки обыкновенной (*Vipera berus*) (ООО «Сибирский серпентарий», Россия) в концентрации 0,2 мг/мл в дозе 1 мг/кг массы тела животных.

В последующих (4-9) группах после создания модели острого панкреатита, индуцированного применением трипсина и змеиного яда, животным в поджелудочную железу вводили октреотид и сыворотку против яда гадюки.

У животных 4-й группы на фоне острого панкреатита, вызванного введением трипсина, исследовали действие октреотида, который вводили в дозе 0,35 мг/кг массы тела.

У животных 5-й группы на фоне острого панкреатита, вызванного введением змеиного яда, исследовали действие октреотида, который вводили в дозе 0,35 мг/кг массы тела.

У животных 6-й группы на фоне острого панкреатита, вызванного введением трипсина, исследовали действие сыворотки против яда гадюки обыкновенной (*Vipera berus*), которую вводили в дозе 500АЕ/кг массы тела животного.

У животных 7-й группы на фоне острого панкреатита, вызванного введением змеиного яда, исследовали действие сыворотки против яда гадюки, которую вводили в дозе 500АЕ/кг массы тела животного.

У животных 8-й группы на фоне острого панкреатита, вызванного введением трипсина, исследовали действие комплекса (октреотид 0,35 мг/кг и

сыворотка 150 АЕ/кг).

У животных 9-й группы на фоне острого панкреатита, вызванного введением змеиного яда, исследовали действие комплекса (октреотид 0,35 мг/кг и сыворотка к змеиному яду 150 АЕ/кг). Доза сыворотки против яда гадюки при применении в комплексе с октреотидом была меньшей, чем её изолированное применение (150 АЕ/кг против 500 АЕ/кг).

В течение 3 часов следили за состоянием животных и макроскопическими изменениями органов панкреатодуоденальной зоны, затем брюшную полость зашивали и животных возвращали в клетку.

Через 24 часа от начала эксперимента оценивали летальность животных. Выживших животных выводили из эксперимента путём передозировки эфира и декапитации. Производили макроскопическую оценку изменений органов панкреатодуоденальной зоны. Образцы печени, поджелудочной железы, двенадцатиперстной кишки фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Гистологические срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Подсчитывали с помощью окулярной сетки с 25 точками объемную плотность (V_v) зон дистрофически и некротически измененных гепатоцитов, двуядерных гепатоцитов [Шкурूपий В.А., 2007], некрозов в поджелудочной железе; в тестовой площади $6,4 \times 10^4$ мкм² подсчитывали численную плотность (N_{ai}) двуядерных гепатоцитов, клеток воспалительного инфильтрата поджелудочной железы (ПЖ) и двенадцатиперстной кишки; измеряли высоту (мкм) и количество ворсинок двенадцатиперстной кишки в тестовой площади с помощью окуляр-микрометра [Автандилов Г.Г., 1990].

Исследование проводили в универсальном микроскопе Axiostar PLUS (Carl Zeiss, Германия). Микрофотографии получали с использованием цифровой фотокамеры Leica DFC 320 (Германия) и компьютерной программы Leica QWinV 3.0.

Статистические методы анализа. Совокупности параметров разделялись на группы по принадлежности к исследуемому признаку. Все полученные данные анализировались методами вариационной статистики. Нормально распределяемые показатели приводили в их среднем значении со средней квадратичной ошибкой: $M \pm m$. Достоверность различий средних величин определяли на основании t-критерия Стьюдента. Графические иллюстрации построены с помощью компьютерных программ Microsoft Office

2007, SPSS 17. Все иллюстрации созданы самостоятельно.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 24 часа летальность животных 2-й и 3-й групп, у которых острый панкреатит (ОП) был вызван путём введения трипсина и змеиного яда в поджелудочную железу, составила 70 % и 80 %, соответственно.

При гистологическом исследовании в поджелудочной железе крыс 2-й и 3-й групп отмечали полнокровие сосудов, кровоизлияния в интерстициальной ткани, дисконфракцию клеток и разобщение долек, обширные очаги некрозов с полной и частичной деструкцией ацинусов. Объёмная плотность (Vv) некрозов ПЖ крыс 2-й и 3-й групп составила 47 % и 52 %, соответственно; численная плотность (Nai) воспалительной нейтрофильной, макрофагальной и лимфоцитарной инфильтрации поджелудочной железы превышала величины аналогичных показателей у животных 1-й (контрольной) группы более чем в 50 раз.

Таким образом, введение как трипсина, так и змеиного яда в ПЖ приводило к развитию изменений, характерных для деструктивного геморрагического панкреонекроза. Обе модели характеризовались сходными изменениями, что, вероятно, обусловлено одинаковым механизмом действия трипсина и змеиного яда. Трипсин является главным внутриацинарным активатором всех протеолитических ферментов, а также фосфолипазы А и В, что приводит к аутокаталитическому перевариванию ПЖ [Савельев В.С., 2008]. Трипсин активирует не только все зимогенные ферменты ПЖ (эластазу, карбоксипептидазу, химотрипсин и т.д.), но и лизосомальные ферменты и протеиназы, что способствует протеолитическому разрушению ткани ПЖ [Raraty M.G. et al., 2005]. Яд гадюки, как и трипсин, выступает в роли активатора протеолиза. При этом происходит увеличение синтеза провоспалительных цитокинов (в частности, фактора некроза опухоли α , интерлейкина 1β), активация макрофагов, привлечение лейкоцитов в очаг некроза паренхимы ПЖ [Raraty M.G., Neoptolemos J.P., 2003]. Активированные ферменты при некрозе ПЖ попадают в кровеносное русло и, опосредованно, через асцитическую жидкость в лимфатические сосуды, далее грудной лимфатический проток, оказывая, таким образом, системное действие, влияя на систему микроциркуляции (расширение капилляров, стазы, тромбозы), что приводит к вторичному поражению органов панкреатодуоденальной зоны.

В печени крыс 2-й и 3-й групп при микроскопическом исследовании выявляли отёк, микрокровоизлияния, в печеночных дольках центральные вены были тромбированы, дискомплексацию гепатоцитов, мелко-, средне- и крупновакуольную дистрофию гепатоцитов с участками микронекрозов паренхимы. В печени крыс 2-й, 3-й групп, в сравнении с животными контрольной группы, отмечали увеличение объёмной плотности (V_v) зон дистрофически измененных гепатоцитов в 22 и 16 раз, соответственно, увеличение объёмной плотности зон некрозов гепатоцитов в 27 и 20 раз. У животных 2-й и 3-й групп в печени в сравнении с величинами аналогичных показателей у крыс контрольной группы, отмечали увеличение численной плотности (N_{ai}) двуядерных гепатоцитов в 8 и 12 раз, соответственно, увеличение объёмной плотности (V_v) двуядерных гепатоцитов в 7 и 11 раз, соответственно. Увеличение численной и объёмной плотности двуядерных гепатоцитов печени свидетельствует, что в ответ на повреждение активировались репаративные процессы [Романова Л.П., Малышев И.И., 2011]. Деструктивные процессы в печени связаны с тем, что она является венозным коллектором органов брюшной полости, подвергается воздействию активированных ферментов (трипсин, химотрипсин, эластаза, карбоксипептидаза), провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухоли α , интерлейкин 1β), что приводит к нарушению микроциркуляции и непосредственному повреждению её паренхимы.

В слизистой ДПК крыс 2-й и 3-й групп наблюдали отёк, полнокровие кровеносных сосудов, внутрисосудистые стазы и тромбозы, мононуклеарную инфильтрацию. В слизистой ДПК у крыс 2-й и 3-й групп в сравнении с животными контрольной группы отмечали увеличение высоты ворсинок на 12 % и 30 %, соответственно; увеличение численной плотности (N_{ai}) воспалительной мононуклеарной инфильтрации слизистой в 6 раз. Воспалительная инфильтрация слизистой ДПК была связана с непосредственным повреждающим действием ферментов поджелудочной железы и опосредованно за счёт гиперферментемии и привлечения в слизистую воспалительных клеток [Плеханов А.Н., 2010].

У животных 4-й, 5-й, 6-й и 7-й групп была проведена коррекция острого панкреатита, вызванного трипсином и змеиным ядом, применением октреотида и сыворотки против яда гадюки обыкновенной. Летальность крыс в данных группах через 24 часа составила 15 %, 20 %, 15 %, 15 %, соответственно. В ПЖ

крыс 4-7-й групп структура долек и ацинусов в целом была сохранена, имелись очаги дистрофических и некротических изменений её паренхимы, диффузная преимущественно макрофагальная, лимфоцитарная и нейтрофильная воспалительная инфильтрация органа. Объёмная плотность (Vv) некрозов ПЖ крыс 4-7-й групп, по сравнению с величиной аналогичных показателей у животных 2-й и 3-й групп, была уменьшена в 117, 83, 36, 64 раза, соответственно; численная плотность (Nai) воспалительного инфильтрата ПЖ – была меньше в 27, 19, 17, 58 раз, соответственно.

В печени крыс 4-7-й групп отмечали умеренное полнокровие, балочная структура была сохранена, мелковакуольную дистрофию гепатоцитов и очаги микронекрозов, значительное количество двуядерных гепатоцитов. В печени крыс 4-7-й групп объёмная плотность (Vv) дистрофии гепатоцитов в сравнении с величинами аналогичных показателей животных 2-й и 3-й групп была меньше в 3; 4,3; 6 и 3,7 раза, соответственно (рис. 1); объёмная плотность некрозов в печени была меньше в 15; 6,5; 9 и 10,5 раза, соответственно (рис. 2); численная плотность (Nai) двуядерных гепатоцитов была увеличена в 2; 2,3 раза, на 5 % и 30 %, соответственно (рис. 3); объёмная плотность (Vv) двуядерных гепатоцитов была увеличена в 2,4 и 3 раза и на 60 %, 60 %, соответственно (рис. 4).

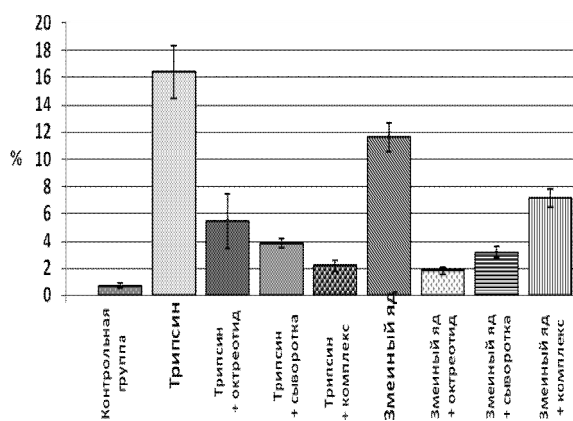


Рис. 1. Объёмная плотность (Vv) дистрофии гепатоцитов при остром панкреатите, индуцированном трипсином и змеиным ядом и лечении сывороткой против яда гадюки, октреотидом и их комплексом.

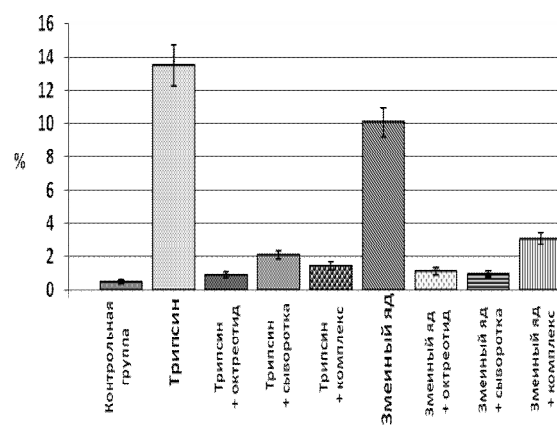


Рис. 2. Объёмная плотность (Vv) некрозов гепатоцитов при остром панкреатите, индуцированном трипсином и змеиным ядом и лечении сывороткой против яда гадюки, октреотидом и их комплексом.

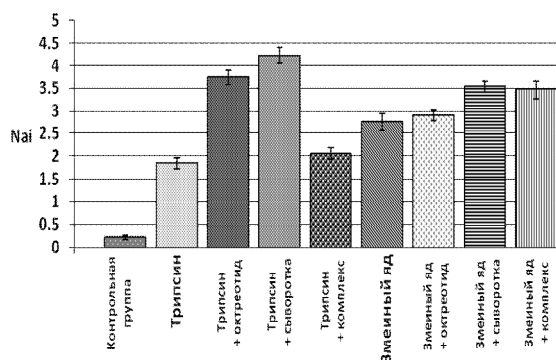


Рис. 3. Численная плотность (Nai) двуядерных гепатоцитов при остром панкреатите, индуцированном трипсином и змеиным ядом и лечении сывороткой против яда гадюки, октреотидом и их комплексом.

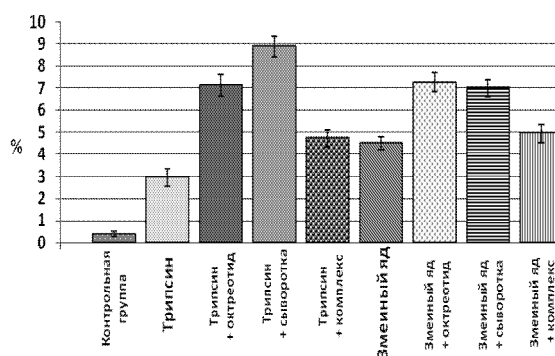


Рис. 4. Объёмная плотность (Vv) двуядерных гепатоцитов при остром панкреатите, индуцированном трипсином и змеиным ядом и лечении сывороткой против яда гадюки, октреотидом и их комплексом.

В ДПК крыс 4-7-й групп наблюдали умеренный отёк слизистой и подслизистого слоя, мононуклеарная воспалительная инфильтрация была незначительной, длина ворсинок соответствовала показателю у животных контрольной группы (рис. 5). Численная плотность (Nai) воспалительного инфильтрата крыс 4-7-й групп по сравнению с аналогичными показателями у животных 2-й и 3-й групп была уменьшена в 2,4; 2,2; 2,3 и 3 раза, соответственно (рис. 6).

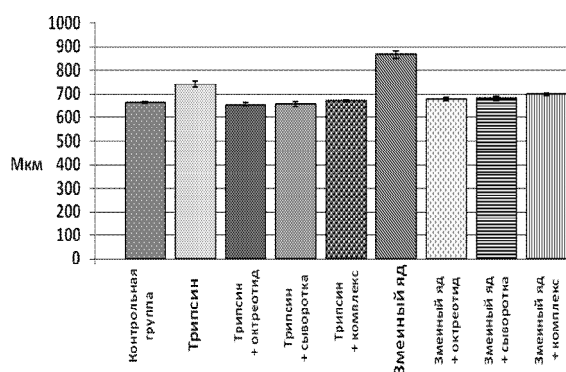


Рис. 5. Высота ворсинок двенадцатиперстной кишки при остром панкреатите, индуцированном трипсином и змеиным ядом и лечении сывороткой против яда гадюки, октреотидом и их комплексом.

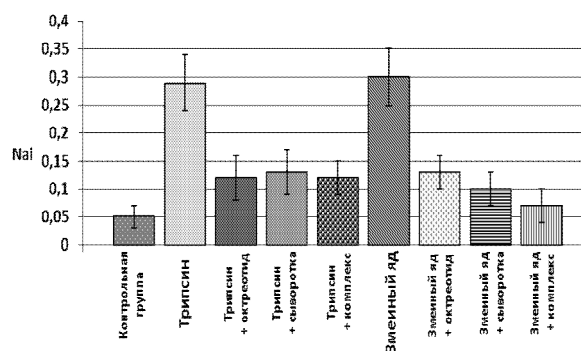


Рис. 6. Численная плотность (Nai) воспалительного инфильтрата двенадцатиперстной кишки при остром панкреатите, индуцированном трипсином и змеиным ядом и лечении сывороткой против яда гадюки, октреотидом и их комплексом.

Таким образом, введение октреотида и сыворотки против яда гадюки в ПЖ на фоне острого экспериментального панкреатита, вызванного трипсином и змеиным ядом, приводило к уменьшению летальности крыс, уменьшению выраженности патологических изменений в органах панкреатодуоденальной зоны: наблюдали достоверно значимое уменьшение объёмной плотности некрозов и воспалительной инфильтрации поджелудочной железы, объёмной плотности некрозов и дистрофии гепатоцитов, увеличение объёмной и численной плотности двуядерных гепатоцитов (что говорит об усилении репаративной регенерации), уменьшение длины ворсинок и воспалительного инфильтрата в двенадцатиперстной кишке.

Доказано, что октреотид вызывает интенсивное торможение желудочной секреции, повышая при этом pH желудочного сока до 7-7,5, блокирует захват ацинарными клетками аминокислот из плазмы, что приводит к снижению аккумуляции в них ферментов, уменьшает патологическую реакцию сосудистой системы при трипсинемии вследствие угнетения им синтеза вазоактивных пептидов и аминов, что приводит к умеренному снижению висцерального кровотока, снижает гиперкоагуляцию [Малиновский Н.Н. и соавт., 2000; Брискин Б.С. и соавт., 2001], экзокринную секрецию поджелудочной железы [Li J., et al., 2011]. Одним из важных механизмов, лежащих в основе протективного действия октреотида, является подавление эктопической активации панкреатических ферментов, и снижение таким образом самопереваривания поджелудочной железы самой себя [Coehlo A.M. et al., 2003]. Октреотид достоверно снижает уровень TNF- α в крови в эксперименте [Tian H. et al., 2009]. Сыворотка против яда гадюки, вероятно, обладает сходным механизмом действия [Двинянинова Н.А., Вискунов В.Г., 2009].

У животных 8-й и 9-й групп, у которых проводили коррекцию острого панкреатита, вызванного трипсином и змеиным ядом, применением комплекса октреотида и сыворотки против яда гадюки обыкновенной, через 24 часа летальность составила 10 %.

В поджелудочной железе крыс 8-й и 9-й групп структура долек и ацинусов была сохранена, дистрофические и некротические изменения паренхимы, диффузная нейтрофильная, макрофагальная и лимфоцитарная воспалительная инфильтрация органа были незначительными. Объёмная плотность (Vv) некрозов поджелудочной железы крыс 8-й и 9-й групп по

сравнению с величинами аналогичных показателей у животных 2-й и 3-й групп (без лечения) была уменьшена в 224 и 130 раз, соответственно; численная плотность (Nai) воспалительного инфильтрата поджелудочной железы была уменьшена в 33 и 99 раз, соответственно.

В печени крыс 8-й и 9-й групп балочная структура была сохранена, наблюдали незначительные дистрофические и некротические изменения гепатоцитов, значительное количество двуядерных гепатоцитов. По сравнению с показателями у животных 2-й и 3-й групп (без лечения) в печени крыс 8-й и 9-й групп объёмная плотность (Vv) зон дистрофически изменённых гепатоцитов была меньшей в 7,5 и 1,6 раза, соответственно; объёмная плотность (Vv) микронекрозов – меньшей в 9,5 и 3,3 раза, соответственно; численная плотность (Nai) двуядерных гепатоцитов – большей на 11 % и 26 %, соответственно; объёмная плотность (Vv) двуядерных гепатоцитов была увеличена в 1,6 раза и на 10 %, соответственно.

В двенадцатиперстной кишке крыс 8-й и 9-й групп наблюдали умеренный отёк слизистой и подслизистого слоя, незначительную мононуклеарную воспалительную инфильтрацию, высота ворсинок соответствовала показателю контрольной группы. У животных 8-й и 9-й групп численная плотность (Nai) воспалительного инфильтрата в двенадцатиперстной кишке по сравнению с величинами аналогичных показателей у животных 2-й и 3-й групп (без лечения) была уменьшена в 2,4 и 4,3 раза, соответственно.

У животных 8-й и 9-й групп, у которых на фоне острого панкреатита, вызванного трипсином и змеиным ядом, был применён комплекс октреотид и сыворотка против яда гадюки, наблюдали наименьший процент летальности крыс среди всех опытных групп, значительно менее выраженные патоморфологические изменения в поджелудочной железе, печени и двенадцатиперстной кишке. Наилучшие результаты были получены при применении комплекса, что обусловлено, вероятно, однонаправленностью действия октреотида и сыворотки против яда гадюки, заключающегося в блокировании ферментов поджелудочной железы и купировании, таким образом, каскада патологических реакций (активация ферментов поджелудочной железы, её аутолиз, выход ферментов в кровь). Октреотид, сыворотка против яда гадюки и, особенно, комплекс данных препаратов были эффективными средствами лечения острого панкреатита в эксперименте. При этом доза сыворотки при применении её в комплексе была меньшей, чем

изолированное применение сыворотки (150 АЕ/кг против 500 АЕ/кг).

ВЫВОДЫ

1. Острый панкреатит, индуцированный как трипсином, так и змеиным ядом, приводил к значительной летальности крыс (до 80 %), а в органах гепатопанкреатодуоденальной зоны развивались сходные патоморфологические изменения:

- в поджелудочной железе – панкреонекроз с масштабными очагами некрозов, занимавшими до 50 % органа, и выраженной воспалительной инфильтрацией и геморрагическим компонентом;

- в печени отмечали развитие дистрофических и некротических изменений паренхимы (в сравнении с животными 1-й контрольной группы, большей в 27 раз);

- в двенадцатиперстной кишке – выраженная воспалительная инфильтрация (в сравнении с животными 1-й контрольной группы, большей в 6 раз).

2. Применение октреотида при остром экспериментальном панкреатите, индуцированном введением трипсина и змеиного яда, привело к уменьшению летальности крыс в 4 раза, и уменьшению выраженности патоморфологических изменений в органах гепатопанкреатодуоденальной зоны в сравнении с животными, не получавшими октреотид:

- в поджелудочной железе очаги некрозов уменьшились, их объёмная плотность составила $0,4 \% \pm 0,12 \%$ и $1,44 \% \pm 0,25 \%$, соответственно; воспалительная инфильтрация была уменьшена в 20 раз;

- в печени дистрофические и некротические изменения паренхимы уменьшены в 15 раз, отмечали усиление репаративной регенерации, о чём свидетельствовало увеличение числа двуядерных гепатоцитов в 2 раза;

- в двенадцатиперстной кишке выявили уменьшение воспалительной инфильтрации в 2,4 раза.

3. Использование сыворотки против яда гадюки при остром панкреатите, индуцированном введением трипсина и змеиного яда привело к уменьшению летальности крыс в 4,5 раза, а в органах гепатопанкреатодуоденальной зоны отмечали значительное уменьшение выраженности патологических изменений в сравнении с животными, не получавшими лечение сывороткой против яда:

- в поджелудочной железе очаги некрозов были уменьшены, их объёмная

плотность составила $0,57 \% \pm 0,14 \%$ и $0,82 \% \pm 0,16 \%$, соответственно; воспалительная инфильтрация была уменьшена в 30 раз;

– в печени дистрофические и некротические изменения были меньшими в 10 раз, усиление репаративной регенерации (объёмная и численная плотность двоядерных гепатоцитов были большими в 2 раза);

– в двенадцатиперстной кишке отмечали уменьшение отёка, воспалительной инфильтрации в 2,5 раза.

4. Применение комплекса, состоящего из октреотида и сыворотки против яда гадюки, было более эффективным, чем применение данных препаратов отдельно и сопровождалось значительным уменьшением летальности крыс (в 8 раз), а в органах гепатопанкреатодуоденальной зоны отмечали выраженное уменьшение патологических изменений в сравнении с животными, не получавшими лечение комплексом:

– в поджелудочной железе очаги некрозов были значительно уменьшены, их объёмная плотность составила $0,21 \% \pm 0,1 \%$ и $0,4 \% \pm 0,04 \%$, соответственно; существенно уменьшился воспалительный инфильтрат;

– в печени уменьшение дистрофических и некротических зон паренхимы в 9 раз, усиление репаративной регенерации (количество двоядерных гепатоцитов увеличилось в 1,5 раза);

– в двенадцатиперстной кишке уменьшение отёка, уменьшение воспалительной инфильтрации в 4 раза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработан метод воспроизведения острого панкреатита в эксперименте с применением змеиного яда и его коррекцией октреотидом и сывороткой против яда гадюки, что может быть использовано в исследовательских работах.

2. Положительные результаты применения сыворотки в эксперименте могут быть положены в основу клинических исследований по использованию сыворотки против яда гадюки при лечении острого панкреатита.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Вискунов В.Г., Надеев А.П., Фещенко А.М., Проценко С.И., **Федоренко В.Н.**, Пупышев А.Б., Барабанов И.Е., Синицина М.А. Применение сандостатина и сыворотки против яда гадюки обыкновенной при панкреонекрозе в эксперименте // **Анналы хирургической гепатологии.** – 2008. – Т. 13, № 2. – С. 96-101, автора – 0,09 п.л.

2. Проценко С.И., Вискунов В.Г., Надеев А.П., **Федоренко В.Н.** Морфологические изменения поджелудочной железы при остром экспериментальном панкреатите и при применении комплекса «сандостатин и антисыворотка к змеиному яду гадюки обыкновенной» // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2010. – Т.3, № 3. – С.218-221, автора – 0,13 п.л.

3. Вискунов В.Г., **Федоренко В.Н.**, Проценко С.И. Роль поджелудочной железы в развитии реакции ограниченного протеолиза // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2010. – Т.3, № 4. – С. 418-420, автора – 0,13 п.л.

4. Проценко С.И., Вискунов В.Г., **Федоренко В.Н.** Применение октреотида при лечении острого геморрагического панкреонекроза и его новые эффекты действия // **Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.** – 2010. – Т. 30, № 5. – С. 40-45, автора – 0,25 п.л.

5. Проценко С.И., Надеев А.П., Вискунов В.Г., **Федоренко В.Н.** Патоморфологические изменения протоковой системы поджелудочной железы при жировом и геморрагическом панкреонекрозе в эксперименте // **Архив патологии.** – 2011. – Т.73, № 1. – С. 38-40, автора – 0,09 п.л.

6. Вискунов В.Г., Проценко С.И., Федоренко В.Н., Пустоветова М.Г. Патогенетические аспекты протеолиза и геморрагического панкреонекроза и методы их коррекции // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия.** – 2011. – № 2. – С. 41-43, автора – 0,09 п.л.

7. **Федоренко В.Н.**, Надеев А.П., Пустоветова М.Г. Морфометрическое исследование органов панкреатодуоденальной зоны при остром панкреатите и его лечении в эксперименте // **Медицина и образование в Сибири (электронный журнал).** – 2011. – № 5. http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=521. – 4 с., автора – 0,17 п.л.

8. **Федоренко В.Н.**, Вискунов В.Г., Надеев А.П., Проценко С.И., Пустоветова М.Г. Патоморфологические изменения органов панкреатодуоденальной зоны при остром экспериментальном панкреатите и его коррекции комплексом сандостатина и противозмеиной сыворотки // **Морфология и хирургия : сборник научных работ к 200-летию со дня рождения Н. И. Пирогова.** – Новосибирск, 2010. – Вып. 7. – С. 83-88, автора – 0,15 п.л.

9. Вискунов В.Г., Барабанов И.Е., Фещенко А.М., Проценко С.И.,

Синицина М.А., **Федоренко В.Н.** Геморрагический панкреонекроз как проявление протеолиза и методы его коррекции // Актуальные вопросы современной хирургии : материалы научно-практической конференции, посвященной 60-летию со дня рождения профессора Ю.С. Винника. – Красноярск, 2008. – С. 109-113, автора – 0,10 п.л.

10. **Федоренко В.Н.** Применение сандостатина и сыворотки против яда гадюки обыкновенной при жировом панкреонекрозе в эксперименте и клинике // Авиценна-2008 : материалы ежегодной конкурс-конференции студентов и молодых учёных. – Новосибирск, 2008. – С. 478-479, автора – 0,25 п.л.

11. **Федоренко В.Н.** The usage of sandostatin and anti-ophidic serum in case of fatty pancreatonecrosis experimentally and clinically // Авиценна-2009 : материалы ежегодной конкурс-конференции студентов и молодых учёных. – Новосибирск, 2009. – С. 114-115, автора – 0,25 п.л.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПЖ	поджелудочная железа
ДПК	двенадцатиперстная кишка
ОП	острый панкреатит

Выражаю глубокую искреннюю благодарность своему учителю и наставнику д.м.н., профессору кафедры хирургических болезней ФПК и ППВ ГБОУ ВПО НГМУ Минздравсоцразвития России Вискунову В.Г., который более 20 лет посвятил изучению проблемы острого панкреатита и предложил новые подходы к его лечению.