

МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОРГАНОВ ПАНКРЕАТОДУОДЕНАЛЬНОЙ ЗОНЫ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ И ЕГО ЛЕЧЕНИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В.Н. Федоренко, А.П. Надеев, М.Г. Пустоветова

*ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»
Минздравсоцразвития России (г. Новосибирск)*

Проведено морфометрическое изучение структурных изменений в поджелудочной железе, печени, двенадцатиперстной кишке при остром экспериментальном панкреатите у крыс «Вистар» и при их лечении окреотидом, сывороткой против змеиного яда и их комплексом. Острый панкреатит индуцировали введением в ткань поджелудочной железы раствора яда гадюки обыкновенной (Vipera Berus). Через 24 часа от начала эксперимента летальность животных с острым панкреатитом составила 100 %; при этом патологические изменения выявили не только в поджелудочной железе, но и в печени, и двенадцатиперстной кишке. При проведении лечения окреотидом, сывороткой против змеиного яда и их комплексом существенно была снижена летальность, а при морфометрическом исследовании было показано уменьшение объемов дистрофии, некрозов и воспалительной инфильтрации в исследуемых органах, наиболее выраженные снижения патологических изменений отмечали при применении комплекса из окреотида и сыворотки против змеиного яда.

Ключевые слова: острый панкреатит, змеиный яд, печень, двенадцатиперстная кишка, морфометрия

Федоренко Виталий Никитович — младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, e-mail: sibbasic@gmail.com

Надеев Александр Петрович — доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, e-mail: nadeevngma@mail.ru

Пустоветова Мария Геннадьевна — доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической физиологии, заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, e-mail: patophysiol@mail.ru

Введение. Острый панкреатит является актуальной проблемой современной медицины, что обусловлено высокой заболеваемостью и летальностью, тяжёлым течением болезни, отсутствием эффективного патогенетического лечения. Так, в течение нескольких десятилетий среди всей острой хирургической патологии органов брюшной полости острый панкреатит занимает третье место (10–12 %). Летальность при остром панкреатите в среднем составляет около 20 %, достигая при деструктивных формах от 35 до 80 % [1, 2]. Изменилось существовавшее ранее представление об остром панкреатите, как об изолированном поражении поджелудочной железы (ПЖ). При остром панкреатите выраженные морфологические изменения возникают не только в самой ПЖ, но и в печени, забрюшинной клетчатке, сальниковой сумке, брюшине, двенадцатиперстной кишке (ДПК) [5].

Наиболее эффективным препаратом в лечении острого панкреатита является октреотид — синтетический октапептид, производное гормона соматостатина. Он снижает секрецию глюкагона, инсулина, серотонина, гастрина, вазоактивного интестинального пептида, секретина, мотилина и панкреатического полипептида, ингибируя, таким образом, секреторную активность ПЖ, купируя аутоферментную агрессию [7]. Однако сохраняющаяся высокая летальность при остром панкреатите требует поиска новых, эффективных, патогенетически обоснованных средств лечения. Ранее была показана схожесть действия трипсина (основного пускового фактора протеолиза при остром панкреатите) с действием змеиного яда, сходство ферментативного и химического составов панкреатического сока человека и змеиного яда [3, 4] что послужило предпосылкой для экспериментального изучения эффективности противозмеиной сыворотки при лечении острого панкреатита [6, 8].

Целью исследования было морфометрическое изучение структурных изменений ПЖ, печени, ДПК при остром экспериментальном панкреатите и при применении октреотида, сыворотки против яда гадюки и их комплексом.

Материалы и методы. Работа была выполнена на 100 2-месячных крысах-самцах «Вистар» массой 200–250 г. Животные были разделены на 5 групп по 20 животных в каждой. Животные 1-й группы служили контролем: им внутрибрюшинно вводили 1 мл 0,9 % изотонического раствора NaCl. Животным 2-й группы моделировали острый панкреатит с применением змеиного яда: в ткань ПЖ вводили раствор яда гадюки обыкновенной (*Vipera Berus*) (ООО «Сибирский серпентарий», Россия) в концентрации 0,2 мг/мл, в дозе 1 мг/кг массы тела животных в объёме 1 мл. В последующих группах при создании модели острого панкреатита будет использована вышеуказанная дозировка токсина. Животным 3-й группы вводили октреотид (ООО «Самсон-Мед», Россия) в дозе 0,35 мг/кг массы тела. Животным 4-й группы вводили сыворотку против яда гадюки в дозировке 500 АЕ/кг массы тела животного (НПО «Микроген», Россия). Животным 5-й группы вводили комплекс из октреотида (0,35 мг/кг) и сыворотки к змеиному яду (150 АЕ/кг).

В течение 3 часов следили за состоянием и макроскопическими изменениями органов брюшной полости, затем брюшную полость зашивали. Через 24 часа оценивали летальность животных. Образцы печени, ПЖ, ДПК для морфологического исследования фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Подсчитывали с помощью окулярной сетки с 25 точками объёмную плотность (V_v) зон дистрофически и некротически изменённых гепатоцитов, двоядерных гепатоцитов, некрозов в ПЖ; в тестовой площади $6,4 \times 10^4$ мкм² подсчитывали численную плотность (N_{ai}) двоядерных гепатоцитов, клеток воспалительного инфильтрата ПЖ и ДПК; а также измеряли высоту ворсинок ДПК (мкм)

и количество ворсинок ДПК. Достоверность различий сравниваемых средних величин рассчитывали с помощью критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Летальность животных 2-й группы с острым панкреатитом, индуцированным змеиным ядом, через 24 часа составила 100 %. При микроскопическом исследовании в ПЖ обнаруживали отек и обширные участки некроза паренхимы с разрушением ацинарных клеток, которые занимали до 32 % ткани (табл. 1), внутрисосудистые стазы и тромбы, воспалительную, преимущественно нейтрофильную, инфильтрацию; в печени — признаки дискомплексации печеночных балок, мелко-, средне- и крупновакуольную дистрофию гепатоцитов, очаги микронекрозов, составляющие до 10 % паренхимы печени (табл. 2); в ДПК обнаруживали отек, увеличение длины ворсинок в 1,3 раза в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 1-й (контрольной) группы (табл. 3).

Таблица 1

Результаты морфометрического исследования поджелудочной железы при остром панкреатите у крыс-самцов и при их лечении ($M \pm m$)

Исследуемая группа	Воспалительная инфильтрация (Nai)	Некроз (Vv)
1-я группа	$0,18 \pm 0,04$	0
2-я группа	$9,88 \pm 0,64$	$32,30 \pm 0,02$
3-я группа	$0,57 \pm 0,10^*$	$1,44 \pm 0,25^*$
4-я группа	$0,17 \pm 0,05^*$	$0,82 \pm 0,16^*$
5-я группа	$0,10 \pm 0,03^*$	0

Примечание: * — здесь и в последующих таблицах отмечены достоверные отличия средних величин в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й группы ($p < 0,05$).

Таблица 2

Результаты морфометрического исследования печени при остром панкреатите у крыс-самцов и при их лечении ($M \pm m$)

Исследуемая группа	Дистрофия (Vv)	Двуядерные гепатоциты		Некроз (Vv)
		Численная плотность (Nai)	Объемная плотность (Vv)	
1-я группа	$0,73 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,04$	0	0
2-я группа	$11,60 \pm 0,01$	$2,76 \pm 0,19$	$4,5 \pm 0,29$	$10,05 \pm 0,84$
3-я группа	$1,81 \pm 0,01^*$	$2,9 \pm 0,12$	$7,26 \pm 0,44^*$	$1,12 \pm 0,20^*$
4-я группа	$3,14 \pm 0,02^*$	$3,54 \pm 0,13^*$	$7,01 \pm 0,39^*$	$0,96 \pm 0,18^*$
5-я группа	$7,16 \pm 0,01^*$	$3,47 \pm 0,20$	$4,95 \pm 0,42$	$3,08 \pm 0,36^*$

Результаты морфометрического исследования двенадцатиперстной кишки при остром панкреатите у крыс-самцов и при их лечении ($M \pm m$)

Исследуемая группа	Высота ворсинок, (мкм)	Количество ворсинок	Воспалительная инфильтрация ворсинок (Nai)
1-я группа	664,20 $\pm$ 4,26	10,86 $\pm$ 0,13	0,05 $\pm$ 0,02
2-я группа	866,40 $\pm$ 15,89	10,80 $\pm$ 0,11	0,30 $\pm$ 0,05
3-я группа	678,60 $\pm$ 6,46*	10,82 $\pm$ 0,14	0,03 $\pm$ 0,03*
4-я группа	680,40 $\pm$ 7,61*	11,04 $\pm$ 0,13	0,10 $\pm$ 0,03*
5-я группа	699,40 $\pm$ 5,39*	10,82 $\pm$ 0,16	0,07 $\pm$ 0,03*

При лечении окреотидом животных с острым панкреатитом (3-ф группа) их летальность существенно уменьшилась и составила 18 %. При микроскопическом исследовании структура ПЖ была сохранена, выявляли очаги отека стромы, дистрофических и некротических изменений паренхимы, составляющих не более 1 % ткани (табл. 1). Выявленная диффузная воспалительная инфильтрация органа, состоящая преимущественно из нейтрофилов с примесью макрофагов, лимфоцитов, была меньше в 17 раз в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й (нелеченой) группы. В печени балочная структура была сохранена, отмечали умеренное полнокровие, дистрофические и некротические изменения гепатоцитов составили 2 и 1 % (табл. 2) соответственно. При этом количество и объемная плотность двуядерных гепатоцитов, свидетельствующие о репаративной регенерации в печени, были большими в сравнении с аналогичными показателями у животных 2-й группы. В ДПК наблюдали умеренный отёк ткани, высота ворсинок и численная плотность воспалительной инфильтрации в ворсинках были меньшими в сравнении с величинами аналогичных показателей у животных 2-й группы в 1,3 раза и 10 раз соответственно, и были такими же как у животных 1-й (контрольной) группы (табл. 3).

При лечении животных 4-й группы сывороткой против змеиного яда летальность снизилась до 10 %. При микроскопическом исследовании в ПЖ обнаруживали очаги микронекрозов паренхимы, составляющие не более 1 % (табл. 1), незначительная воспалительная инфильтрация из макрофагов, лимфоцитов, нейтрофилов. В печени наблюдали неравномерное полнокровие, незначительные дистрофические изменения гепатоцитов (табл. 2), очаги микронекрозов. Количество и объемная плотность двуядерных гепатоцитов (табл. 2) были большими в 1,28 и 1,75 раз соответственно в сравнении с величиной аналогичного показателя у животных 2-й (нелеченой) группы. В ДПК структура ворсинок была сохранена, отмечали умеренный отёк, высота ворсинок соответствовала таковой у животных 1-й (контрольной) группы.

Летальность животных 5-й группы, леченных комплексом из окреотида и сыворотки против змеиного яда, была самой низкой и составила 8 %. Структура ПЖ была сохранена, очаги некрозов отсутствовали, выявляли незначительный отёк стромы, полнокровие, слабо выраженную воспалительную инфильтрацию (табл. 1). В печени отмечали неравномерное полнокровие, дистрофически измененные гепатоциты, очаги микронекрозов; при этом количество и объемная плотность двуядерных гепатоцитов были увеличенными в 1,28 раз и 1,25 раз соответственно в сравнении с величинами аналогичных показателей у животных 2-й (нелеченой) группы, и соответствовали аналогичным показателям у животных 3-й и 4-й групп. В ДПК структура ворсинок была сохранена, в собственной пластинке наблюдается умеренный отёк, высота ворсинок соответствовала аналогичному показателю у животных 3-й и 4-й групп.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют, что при остром панкреатите, индуцированном змеиным ядом, патологические изменения возникали не только в ПЖ, а также в органах панкреатодуоденальной зоны — печени и ДПК, обусловленные, вероятно, токсинемией в связи с повреждением ПЖ. При лечении животных окреотидом, сывороткой против змеиного яда и их комплексом наблюдали значительное снижение летальности животных, купирование патологического процесса ПЖ, а также в печени, ДПК: уменьшение доли дистрофии и некрозов, воспалительной инфильтрации; в печени отмечали увеличение количества и объёмной плотности двуядерных гепатоцитов, свидетельствующие о стимулировании репаративной регенерации в печени. Наиболее выраженное снижение патологических изменений в исследуемых органах отмечали при применении комплекса из окреотида и сыворотки против змеиного яда.

Список литературы

1. Багненко С. Ф. Острый панкреатит (протоколы диагностики и лечения) / С. Ф. Багненко, Т. А. Долстой, В. Б. Краснорогов [и др.] // *Анналы хирург. гепатологии*. — 2006. — Т. 11, № 4. — С. 60–66.
2. Брискин Б. С. Эволюция взглядов на хирургическое лечение острого деструктивного панкреатита / Б. С. Брискин, О. Х. Халидов, Ю. Р. Алияров [и др.] // *Анналы хирург. гепатологии*. — 2009. — Т. 14, № 3. — С. 63–68.
3. Вискунов В. Г. Моделирование острого панкреатита у крыс введением трипсина и змеиного яда / В. Г. Вискунов, А. Б. Пупышев, С. И. Проценко [и др.] // *Бюллетень Сибирского отделения РАМН*. — 2008. — № 6. — С. 17–21.
4. Двинянинова Н. А. Тайна панкреатической драмы / Н. А. Двинянинова, В. Г. Вискунов. — Новосибирск : ОАО «Конкурент», 2009. — 196 с.
5. Затевахин И. И. Оценка органных и внеорганных поражений при остром деструктивном панкреатите и ее влияние на летальность / И. И. Затевахин, М. М. Цицишвили // *Анналы хирургии*. — 2003. — № 1. — С. 35–42.
6. Проценко С. И. Патоморфологические изменения протоковой системы поджелудочной железы при жировом и геморрагическом панкреонекрозе в эксперименте / С. И. Проценко, А. П. Надеев, В. Г. Вискунов, В. Н. Федоренко // *Архив патологии*. — 2011. — Т. 73, № 1. — С. 38–40.
7. Bang U. C. [Pharmacological approach to acute pancreatitis](#) / U. C. Bang, S. Semb, C. Nojgaard, F. Bendtsen // [World J Gastroenterol](#). — 2008. — Vol. 21, N 14(19). — P. 2968–2976.
8. Rojas E. Neutralization of four Peruvian Bothrops sp. Snake venoms by polyvalent antivenoms produced in Peru and Costa Rica: preclinical assessment / E. Rojas, L. Quesada, V. Arce [et al.] // *Acta Trop*. — 2005. — Vol. 93, N 1. — P. 85–95.

MORPHOMETRICAL STUDY OF THE PANCREATODUODENAL ZONE ORGANS AT ACUTE PANCREATITIS AND ITS TREATMENT IN EXPERIMENT

V.N. Fedorenko, A.P. Nadeev, M.G. Pustovetova

SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment» (Novosibirsk c.)

There was performed the morphometric study of structural changes in pancreas, liver, duodenum at acute experimental pancreatitis at rats «Wistar» and during its treatment with octreotide, serum against snake venom and with complex of all this. Acute pancreatitis was induced by introducing into pancreas tissue the liquid of venom adder (*Vipera Berus*). After 24 hours of the experiment, mortality of animals with acute pancreatitis was 100%, herewith pathological changes were found not only in pancreas, liver, and duodenum. With octreotide and serum treatment, against snake venom and their complex the significantly mortality has been reduced, while morphometric study showed the decrease in degeneration, necrosis and inflammatory infiltration in studied organs. The most frank reduction of pathological changes was registered at complex application of octreotide and serum against snake poison.

Keywords: acute pancreatitis, snake venom, liver, duodenum, morphometry.

About authors:

Fedorenko Vitaliy Nikitovich — associate research assistant of Central Research laboratory SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», e-mail: sibbasic@gmail.com

Nadeev Alexander Petrovich — doctor of medical sciences, professor of pathological anatomy chair at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», e-mail: nadeevngma@mail.ru

Pustovetova Maria Gennadievna — doctor of medical sciences, professor of pathological physiology chair, head of Central research laboratory SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», e-mail: patophysiolog@mail.ru

List of the Literature:

1. Bagnenko S. F. Acute pancreatitis (diagnostics and treatment reports) / S. F. Bagnenko, T. A. Dolstoy, V. B. Krasnorogov [etc.] // The Annals of surgical. Hepathologies. — 2006. — T. 11, № 4. — P. 60–66.
2. Briskin B. S. Evolution of views on surgical treatment of acute destructive pancreatitis / B. S. Briskin, O. H. Halidov, Y. R. Aliyarov [etc.] // The Annals of surgical. Hepathologies. — 2009. — V. 14, № 3. — P. 63–68.
3. Viskun V. G. Modelling of acute pancreatitis at rats with introduction of trypsin and snake poison / V. G. Viskunov, A. B. Pupyshev, S. I. Protsenko [etc.] // Bulletin of Siberian unit of the RAMS — 2008. — № 6. — P. 17–21.

4. Dvinyaninova N. A. Secret of pancreatic drama / N. A. Dvinyaninova, V. G. Viskunov. — Novosibirsk: PLC «Competitor», 2009. — 196 P.
5. Zatevahn I. I. Estimation organ and nonorgan damage at acute destructive pancreatitis and its influence on lethality / I. I. Zatevahn, M. M. Tsitsishvili // The surgical Annals. — 2003. — № 1. — P. 35–42.
6. Проценко С. И. Pathomorphologic changes duct systems of pancreas at fatty and hemorrhagic pancreatonecrosis in experiment / S. I. Protsenko, A. P. Nadeev, V. G. Viskunov, V. N. Fedorenko // Pathology Archive. — 2011. — V. 73, № 1. — P. 38–40.
7. Bang U. C. Pharmacological approach to acute pancreatitis / U. C. Bang, S. Semb, C. Nojgaard, F. Bendtsen // World J Gastroenterol. — 2008. — Vol. 21, N 14(19). — P. 2968–2976.
8. Rojas E. Neutralization of four Peruvian Bothrops sp. Snake venoms by polyvalent antivenoms produced in Peru and Costa Rica: preclinical assessment / E. Rojas, L. Quesada, V. Arce [et al.] // Acta Trop. — 2005. — Vol. 93, N 1. — P. 85–95.