

С.А. ЖИДКОВ ¹, В.Е. КОРИК ², Д.А. КЛЮЙКО ², Э.П. ТИТОВЕЦ ³

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЯМОЙ ОКСИМЕТРИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Военно-медицинское управление Министерства обороны Республики Беларусь ¹,

УО «Белорусский государственный медицинский университет» ²,

ГУ «Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии» ³,

Республика Беларусь

Цель. Экспериментально определить диагностическую значимость прямой оксиметрии при остром панкреатите для оценки состояния поджелудочной железы, выявить закономерности изменения показателей оксигенации поражённой ткани в разные периоды заболевания.

Материал и методы. Проведены исследования на 81 нелинейной морской свинке. Экспериментальные животные были в случайном порядке разделены на 6 опытных и две контрольные группы. Для проведения оксиметрии применён кислородный сенсор типа Clark. Измерения проводили через различные промежутки времени контактным способом.

Результаты. Преимущества изучаемого метода заключаются в возможности количественного описания динамических и статических параметров поглощения и утилизации кислорода в различные фазы протекания воспалительных заболеваний поджелудочной железы, и позволяют объективизировать степень поражения паренхимы поджелудочной железы.

Заключение. Острый панкреатит сопровождается выраженным нарушением скорости поглощения кислорода и изменением степени оксигенации ткани поджелудочной железы. Измерение скорости поглощения кислорода и уровня парциального давления кислорода в исследуемом органе методом прямой оксиметрии при дальнейшем изучении морфологической картины, возможно, даст представление о степени поражения паренхимы поджелудочной железы при остром панкреатите.

Ключевые слова: острый панкреатит, прямая оксиметрия, оксигенация

Objectives. to estimate experimentally the diagnostic significance of the direct oximetry at acute pancreatitis for evaluation of the pancreas state, to reveal the regularities of changes of oxygenation indexes of the affected tissue in various periods of the disease.

Methods. 81 nonlinear cavies were investigated. Experimental animals were accidentally divided into 6 experimental and 2 control groups. The oxygen sensor type Clark was applied to carry out oximetry. Measuring was done throughout different time intervals by all contact methods.

Results. The advantages of the investigated method are in possibility of the quantitative description of the dynamic and statistic parameters of absorption and utilization of oxygen in different phases of the pancreas diseases inflammatory processes passing and they permit to objectify the degree of the pancreas affection.

Conclusion. Acute pancreatitis is accompanied by the marked disturbance of the oxygen absorption rate and change of the degree of the pancreas tissue oxygenation. Measuring of the oxygen absorption rate and the level of the oxygen partial pressure in the investigated organ using the method of the direct oximetry at further studying of the morphological picture may possibly give an idea about the degree of the pancreas parenchyma affection at acute pancreatitis.

Keywords: acute pancreatitis, direct oximetry, oxygenation

Введение

Стремительный рост заболеваемости

острым панкреатитом среди населения нашей страны свидетельствует о том, что в

ближайшие годы данная патология будет являться серьёзной медико-биологической, социально-экономической проблемой и, вместе с тем, недостаточно изученной патологией неотложной хирургии. До настоящего времени это тяжёлое заболевание с высокой общей летальностью, варьирующей от 5 до 21%, а при деструктивных формах от 50 до 85% [1, 2, 3]. В подавляющем большинстве случаев у больных, перенёсших тяжёлый острый панкреатит, возникает стойкая утрата трудоспособности.

Важнейшим из критериев, характеризующих различные формы острого панкреатита на ранних стадиях его развития, является степень и распространённость первоначального поражения поджелудочной железы. Именно эти изменения, в основном, определяют закономерность развития и тяжесть патологического процесса [4].

Наряду с повышением секреции панкреатического сока, нарушением оттока секрета, повышением давления в протоке, развитие острого панкреатита сопровождается выраженными микроциркуляторными нарушениями, приводящими к гипоксии паренхимы поджелудочной железы, парапанкреатической клетчатки и, что не маловажно с диагностической точки зрения, кожи в эпигастральной и поясничной области в зоне проекции железы. Гипоксия, в свою очередь, ведёт к накоплению продуктов неполного окисления, многие из которых сами по себе являются высокотоксичными и, кроме всего прочего, ведут к развитию метаболического ацидоза, обуславливая тяжесть воспалительного процесса [5].

Каскад патологических изменений в поджелудочной железе в процессе развития острого панкреатита неразрывно взаимосвязан с уровнем парциального давления кислорода в ткани железы, что, на наш взгляд, может явиться ключом к определению

степени поражения ткани и возможностью прогнозирования дальнейшего течения патологического процесса. Это позволяет предположить, что использование методов прямой оценки степени оксигенации тканей поможет разработать способ ликвидации гипоксии и метаболического ацидоза, а также осуществлять мониторинг проводимого патогенетического лечения.

Анализ литературы показал, что до нынешнего времени не разработаны методы объективной интраоперационной оценки жизнеспособности тканей поджелудочной железы, которые позволяют определять линию демаркации, расположение, количество и размеры секвестров, образование ложных кист. Это приводит к чрезмерному удалению жизнеспособных тканей или оставлению некротически изменённой паренхимы в зоне воспаления, а также требует проведения многочисленных повторных операций, ухудшающих результаты лечения.

На наш взгляд, имеется необходимость разработки нового способа оценки изменений поджелудочной железы при остром панкреатите, который совместно с традиционными методами давал бы более полное представление о состоянии её тканей, соседних органов и парапанкреатической клетчатки. Он должен отвечать следующим требованиям: малоинвазивность, высокая точность, возможность интраоперационного исследования, лёгкость применения, отсутствие рентгеновского излучения и прочих вредных воздействий, отсутствие необходимости в переподготовке и дополнительном обучении врачей, высокую скорость проведения, низкую стоимость исследования.

Этим требованиям, на наш взгляд, соответствует метод прямой оксиметрии исследуемой ткани.

Цель исследования: экспериментально определить диагностическую значи-

Таблица 1

Распределение животных по группам

Группа		Кол-во животных
Контрольная №1 (интактные животные)		30
Контрольная №2 (животные с лапаротомией без моделирования панкреатита)		12
Группы животных, разделенные по времени, прошедшему с момента моделирования острого панкреатита	1 сутки	8
	3 сутки	10
	4 сутки	8
	5 сутки	5
	6 сутки	6
	10 сутки	2
Всего		81

мость метода прямой оксиметрии при остром панкреатите для оценки состояния поджелудочной железы и выявить закономерности изменения динамических и статических показателей оксигенации поражённой ткани в разные периоды заболевания.

Материал и методы

Для достижения поставленной цели нами были проведены экспериментальные исследования на 81 нелинейной морской свинке обоего пола с массой 550–1000 г. Эксперимент был организован в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Страсбург, 1986). Инвазивные вмешательства и выведение из эксперимента проводили под внутрибрюшинной общей анестезией с использованием 1% раствора тиопентала Na из расчета 70 мг/кг. Все животные содержались в одинаковых условиях на стандартном рационе вивария.

Экспериментальные животные были в случайном порядке разделены на 6 опытных групп, в соответствии со временем, прошедшим с момента моделирования острого панкреатита, и две контрольные группы (таблица 1).

В первой контрольной группе с помощью прямой оксиметрии были исследованы интактные животные для выявления

границ нормы. После введения в тиопенталовый наркоз морскую свинку фиксировали на операционном столе, вслед за вскрытием брюшной полости отыскивали поджелудочную железу, после чего производили трёхкратное измерение парциального давления кислорода и скорости его поглощения тканью.

Во второй контрольной группе, выделенной для выявления вклада самого оперативного вмешательства на оксиметрическую картину, в условиях асептики и антисептики под тиопенталовым наркозом животное фиксировали на операционном столе, после предварительного выбривания кожи проводили лапаротомию с последующим ушиванием передней брюшной стенки однорядными узловыми швами. Далее через различные промежутки времени, синхронно с измерениями в группе с моделированным панкреатитом (таблица 1), посредством повторной лапаротомии проводили оксиметрию тканей поджелудочной железы.

Моделирование острого панкреатита проводили по методу Э.С. Гульянц с соавт. [6]. Зафиксированному на операционном столе животному в условиях асептики и антисептики вскрывали брюшную полость по средней линии, извлекали хвост поджелудочной железы. Острый панкреатит моделировали путём последовательного подкапсульного введения 10% не ионного детергента тритон X-100 на протяжении в

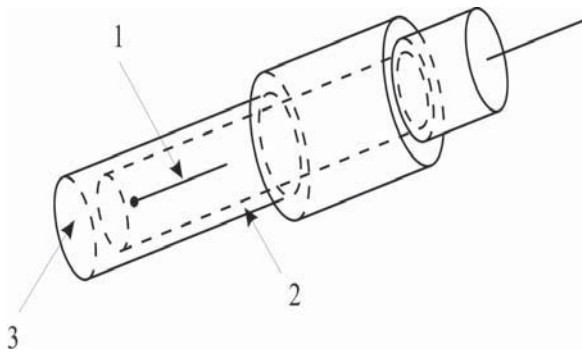


Рис. 1. Схема датчика типа Clark, используемого в эксперименте
1 – платиновая нить, 2 – жидкостная камера, 3 – кислород-проницаемая мембрана

объёме 0,3 мл. Переднюю брюшную стенку ушивали наглухо однорядными узловыми швами.

Измерения в группе с моделированным панкреатитом проводили через различные промежутки времени во время релапаротомии.

Для проведения оксиметрии был применен кислородный сенсор типа Clark (рис. 1). Измерения производили контактным способом, приводя в соприкосновение кислород-проницаемую полипропиленовую плёнку сенсора с участком исследуемой ткани, тем самым добиваясь герметизации исследующего контура от проникновения атмосферного воздуха. Диаметр исследуемого участка ткани равен диаметру платинового катода и составляет 20 мкм, что предполагает высокую дифференциацию и высокую точность измерения на поверхности. В результате измерения получали кинетическую кривую поглощения (массопереноса) кислорода, которая содержит в себе информацию о процессах тканевого дыхания и кислородного транспорта исследуемой ткани [7, 8, 9, 10].

Технически измерения в эксперименте производили следующим образом. Откалибровывали прибор, после предварительного орошения поверхности органа подогретым до 37°C физиологическим раствором,

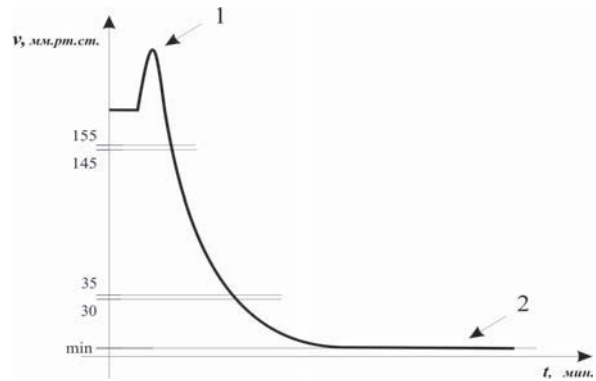


Рис. 2. Кривая оксиметрии
1 – температурный скачок, 2 – стационарный уровень

на исследуемый участок устанавливали датчик типа Clark, приводя в плотное соприкосновение поверхность поджелудочной железы и измерительную поверхность мембраны датчика.

Наблюдался восходящий температурный скачок (рис. 2), после чего график приобретал нисходящее направление, характеризуя скорость поглощения кислорода исследуемой тканью, далее опускался до нижнего стационарного уровня, который характеризовал собой уровень парциального давления кислорода в ткани. Подобное измерение проводилось на каждом из участков ткани по три раза для вычисления среднего. Учитывая малый размер измерительной поверхности датчика, точно устанавливать его в одно и ту же точку диаметром 20 мкм технически не представлялось возможным, поэтому полученные измерения разнились в абсолютных значениях, медиана нивелировала эту погрешность и давала точное представление об измеряемой величине.

Данные, полученные с помощью прибора, фиксировались в виде файлов в .txt-формате. Расчёт скоростей производили в программе TableCurve 2D. Рассчитывали скорость поглощения кислорода в диапазоне от 145 до 155 мм рт. ст. и от 30 до 35 мм рт. ст. и минимальное значение. Интер-

Таблица 2

Скорость массопереноса кислорода в диапазоне 145–155 мм рт. ст.

Сутки	p	Медиана (Me)	Верхний квартиль (UQ)	Нижний квартиль (LQ)
	Контр	226,5	302,1	183,0
1	0,086099	193,1	289,1	130,0
3	0,015616	282,8	326,8	208,9
4	0,000014	294,2	336,6	270,8
5	0,001975	277,2	351,5	242,2
6	0,002399	293,7	339,2	236,6
10	0,026635	309,2	338,6	241,4

вал 145–155 мм рт. ст. характеризует дыхательную активность исследуемой ткани, т.е. скорость поглощения кислорода из электролита окружающего электрод датчика типа Clark. Второй интервал 30–35 мм рт. ст. являлся стационарным уровнем, где скорость потребления уравнивалась со скоростью выброса кислорода из тканей. Минимальное значение, или стационарный уровень, характеризует величину парциального давления в исследуемой ткани (рис. 2).

С помощью программы Statistica 6.0 в этих группах были рассчитаны медиана, нижний и верхний квартили. Учитывая, что непараметрические методы статистического анализа применяются к количественным признакам независимо от их распределения [11], для сравнения значений прямой оксиметрии, полученных в группах животных с моделированным острым панкреатитом

и контрольных групп, использовали метод Mann-Whitney U-test. Полученные данные представлены в таблицах 2, 3, 4.

Результаты и обсуждение

Анализ данных, полученных при сравнении контрольной группы №1 (интактные животные) и №2 (животные с предварительно выполненной лапаротомией), не показал статистически значимых отличий (в диапазоне 145–155 мм рт.ст. в контрольной группе №1 медиана 242,1 мм рт.ст., в контрольной группе №2 медиана 247,4 мм рт.ст., $p = 0,65$). Следовательно, можно заключить, что лапаротомия, вероятно, не оказывает существенного воздействия на показатели оксигенации ткани поджелудочной железы, регистрируемые методом прямой оксиметрии. Учитывая

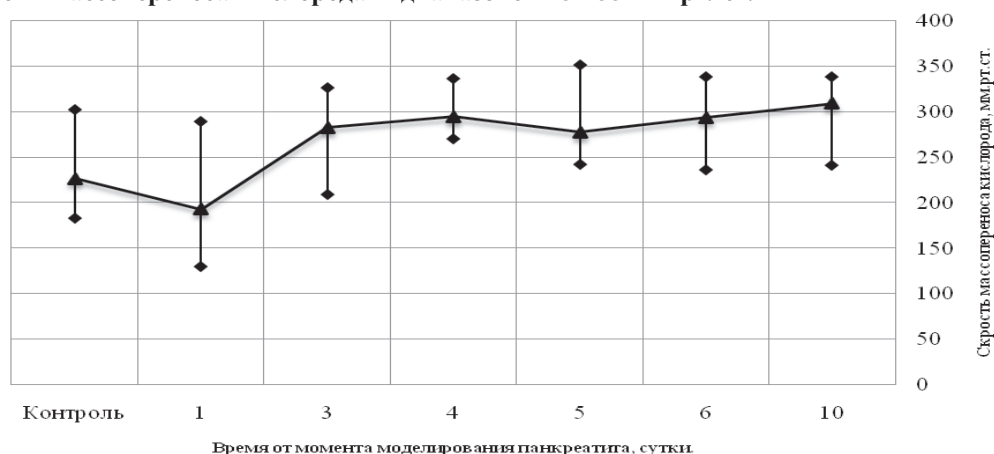
Рис. 3. Скорость массопереноса кислорода в диапазоне 145–155 мм рт. ст.

Таблица 3

Скорость массопереноса кислорода в диапазоне 30–35 мм рт. ст.

Сутки	p	Медиана (Me)	Верхний квартиль (UQ)	Нижний квартиль (LQ)
	Контр	40,1	52,2	22,1
1	0,226644	29,9	40,2	16,8
3	0,345005	30,8	39,6	20,7
4	0,193003	45,6	67,8	31,4
5	0,019975	57,8	117,7	38,5
6	0,002713	71,3	90,5	36,9
10	0,032179	63,5	83,1	39,0

вышесказанное и для упрощения изложения материала, обе контрольные группы объединены в одну.

При последовательном сравнении данных, полученных в группах животных, разделённых по времени прошедшему со дня моделирования острого панкреатита, с контрольной, в каждом из изучаемых диапазонов (таблицы 2, 3, 4), получили графики зависимости скорости массопереноса кислорода в ткани поджелудочной железы от времени (рис. 3, 4, 5).

Скорость массопереноса кислорода в диапазоне 145–155 мм рт.ст. снижается в первые сутки на 17,3% по сравнению с контрольной группой (в контрольной группе медиана 242,1 мм рт.ст., в группе с острым панкреатитом через одни сутки медиана 294,4 мм рт.ст., $p_1 = 0,086$), что, вероятно, объясняется реакцией на введение моделирующего препарата (10% неионный детер-

гент тритон X-100) и операционную травму тканей (таблица 2). Далее следует неукоснительный рост скорости массопереноса кислорода (рис. 3), а именно, в 3-и сутки на 19,9%, в 4-ые на сутки на 23% и т.д. (медиана в 3-и сутки 282,8 мм рт. ст., $p_3 = 0,0156$, в 4-ые сутки медиана 294,2 мм рт.ст., $p_4 = 0,000014$ и т.д.).

Подобное увеличение скорости, вероятно, опосредовано запуском аутолиза, в процессе протекания которого, окислительные ферментные системы требуют значительных затрат кислорода. Максимальной величины в обсуждаемом диапазоне медиана скорости массопереноса кислорода достигает на 10-е сутки, возрастая по сравнению с медианой контрольной группы на 26,7% (медиана на 10-е сутки 309,2 мм рт. ст., $p_{10} = 0,0266$).

Переходя к обсуждению скоростей массопереноса кислорода в диапазоне 30–35

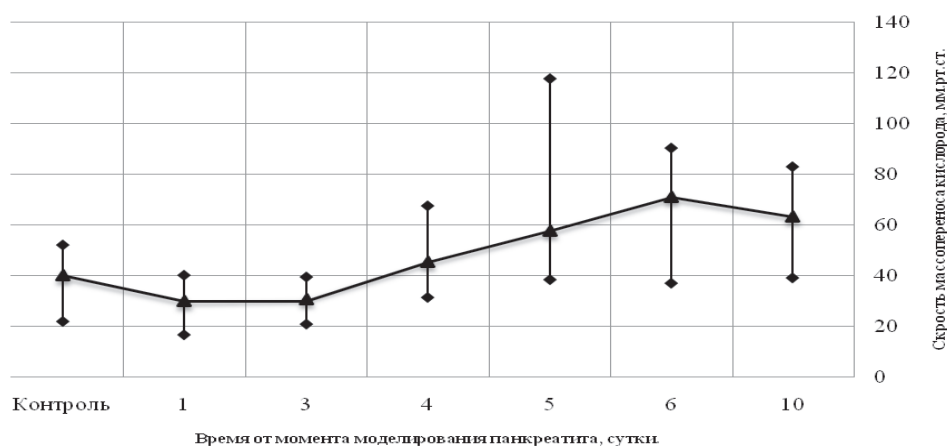
Рис. 4. Скорость массопереноса кислорода в диапазоне 30–35 мм рт. ст.

Таблица 4

Уровни парциального давления кислорода в поджелудочной железе (мм рт. ст.).

Сутки	p	Медиана (Me)	Верхний квартиль (UQ)	Нижний квартиль (LQ)
	Контр	19,2	3,7	34,9
1	0,009180	36,1	3,1	54,3
3	0,00000023	41,2	28,0	49,9
4	0,029447	30,3	7,9	48,1
5	0,009744	35,5	19,3	49,4
6	0,073544	34,2	16,3	43,0
10	0,843022	20,2	2,3	34,8

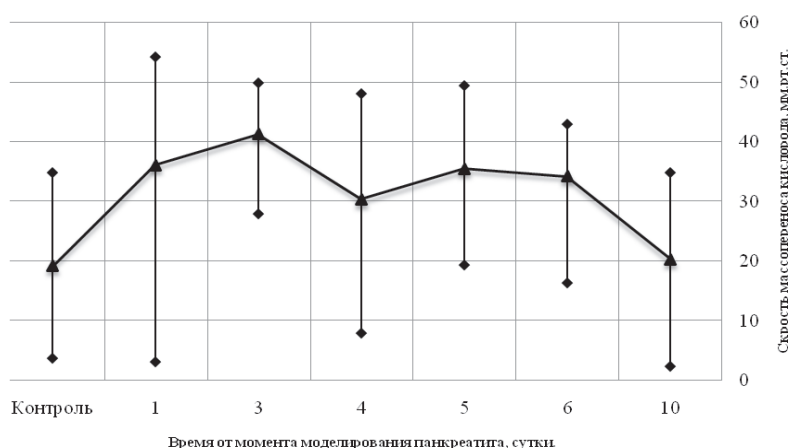
мм рт. ст., необходимо отметить, что не все графики прямой оксиметрии доходят до изучаемого уровня, как видно из таблицы 4. Статистическая разница не настолько велика, как в диапазоне 145–155 мм рт.ст., однако этот диапазон не стоит исключать из перечня изучаемых величин, ввиду его высокой информативности при изучении оксигенации тканей, находящихся в глубокой гипоксии, при которой нижний стационарный уровень стремится к нулю.

Скорость массопереноса кислорода в диапазоне 30–35 мм рт.ст. характеризует равновесное состояние, при котором скорость движения кислорода из ткани приближается к скорости поглощения кислорода изучаемой тканью и, как видно из таблицы 3, снижается в период с первых по третьи сутки, на 33,9% и 30,1% соответственно по сравнению с контрольной группой (в контрольной группе медиана 40,1

мм рт.ст., в группе с острым панкреатитом через одни сутки 29,9 мм рт.ст., $p_1 = 0,227$ и через трое суток 30,8 мм рт. ст., $p_3 = 0,345$), как видно из таблицы 3. С 3-х и по 6 сутки наблюдается стремительный рост скорости массопереноса кислорода (рис. 4), а именно, в 6-и сутки на 43,7%, так медиана в 6-и сутки 71,3 мм рт. ст., $p_6 = 0,0027$).

Нижний стационарный уровень характеризует парциальное давление кислорода и является мерой насыщения исследуемой ткани кислородом.

Резкий подъем парциального давления кислорода в ткани поджелудочной железы, как видно на рис. 5, наблюдается на 3-и сутки, а именно на 53,4% (медиана парциального давления кислорода 41,3 мм рт. ст. $p_3 = 0,00000023$). Далее, вероятно, ввиду истощения количества кислорода и скомпрометированной системы транспорта его к месту воспаления, наблюдается некото-

Рис. 5. Уровни парциального давления кислорода в поджелудочной железе (мм рт. ст.).

рое снижение парциального давления до 30,3 мм рт. ст. $p_4 = 0,0294$ в 4-е сутки и до 20,2 мм. рт. ст. $p_{10} = 0,843$ к 10-ым суткам.

В заключение следует отметить, что преимущества описываемого метода состоят в возможности количественного описания динамических и статических параметров поглощения и утилизации кислорода в различные фазы протекания воспалительных заболеваний поджелудочной железы, и позволяют объективизировать степень поражения паренхимы поджелудочной железы, что открывает дополнительные возможности для изучения острого панкреатита.

Дополнительная информация о степени патологического процесса, о зонах некроза, о жизнеспособности ткани поджелудочной железы, полученная интраоперационно, на наш взгляд, станет серьёзным подспорьем при выборе объёма оперативного вмешательства.

Выводы

1. Развитие острого панкреатита сопровождается выраженным нарушением скорости поглощения кислорода и изменением степени оксигенации ткани поджелудочной железы.

2. Измерение скорости поглощения кислорода и уровня парциального давления кислорода в исследуемом органе методом прямой оксиметрии при дальнейшем изучении морфологической картины, возможно, даст представление о степени поражения паренхимы поджелудочной железы при остром панкреатите.

ЛИТЕРАТУРА

1. Диагностика и хирургическое лечение панкреонекроза / Э. И. Гальперин [и др.] // Хирургия. – 2003. – № 3. – С. 55-59.
2. Решетников, Е. А. Диагностика и дифференцированное лечение острого панкреатита билиарной эти-

ологии / Е. А. Решетников, А. С. Миронов, Ю. А. Малов // Хирургия. – 2005. – № 11. – С. 25-27.

3. Острый панкреатит (протоколы диагностики и лечения) / А. Д. Толстой [и др.] // Хирургия. – 2005. – № 7. – С. 19-24.

4. Протокол комплексного лечения деструктивного панкреатита на ранних стадиях заболевания / Ю. Л. Шевченко [и др.] // Хирургия. – 2009. – № 6. – С. 4-9.

5. Патологическая физиология / под ред. Н. Н. Зайко. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – С. 346-347.

6. Способ моделирования панкреатита: пат. № 1327152 СССР, SU 4026653/28-14, МПК G 09 B 23/28 / Э. С. Гульянц [и др.]; заявитель Рост. мед. ин-т; опубл. 17.02.86 // Открытия. Изобретения. – 1986.

7. Способ исследования массопереноса кислорода в биологических тканях: пат. 2813 Респ. Беларусь, SU 1803872 A1, МПК G 01 N 33/483 / Э. П. Титовец, Л. П. Пархач. – № 95937; заявл. 20.10.95; опубл. 31.12.98. – 1993.

8. Способ исследования массопереноса кислорода в биологических тканях и устройств для его осуществления: пат. 7602 Респ. Беларусь, SU 1803872 A1, МПК G 01 N 27/48, 33/483 / Э. П. Титовец, Л. П. Пархач. – № а20020470; заявл. 30.05.02; опубл. 12.30.05 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2005.

9. Титовец, Э. П. Исследование дыхательной активности и энергетического состояния биологических тканей / Э. П. Титовец, Л. П. Пархач // Медэлектроника. – 2002. – С. 102-104.

10. Титовец, Э. П. Аквапорины человека и животных: фундаментальные и клинические аспекты / Э.П. Титовец. – Минск: Беларус. Наука, 2007. – 239 с.

11. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.

Адрес для корреспонденции

220116, Республика Беларусь,
г. Минск, пр-т Дзержинского, 83,
Белорусский государственный
медицинский университет,
кафедра военно-полевой хирургии
военно-медицинского факультета,
тел.: +375 17 273-21-42,
e-mail: kluiko@list.ru,
Клюйко Д.А.

Поступила 17.02.2010 г.