УДК 616.37-002.4-089]-092.9

DOI: 10.31549/2541-8289-2021-2-42-47

МОДИФИКАЦИЯ МОДЕЛИ ПАНКРЕОНЕКРОЗА ПО ПФЕФФЕРУ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ СЕКРЕЦИИ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Бородач А.В., Захаров Н.И.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

MODIFICATION OF THE PFEFFER PANCREONECROSIS MODEL FOR ASSESSING PANCREATIC SECRETION IN THE ACUTE PERIOD OF DISEASE

Borodach A.V., Zakharov N.I.

Novosibirsk State Medical University

АННОТАЦИЯ

В эксперименте на белых крысах изучено состояние экзокринной функции поджелудочной железы в остром периоде панкреатита по методу замкнутой дуоденальной петли в собственной модификации (24 особи — основная группа, 5 — контрольная). Через 24 ч после индукции острого панкреатита иглой шприца пунктировали отключенный сегмент двенадцатиперстной кишки, аспирировали его содержимое для определения уровня панкреатической амилазы. По результатам оценки секреции животных разделили на три группы: секреция, соответствующая физиологической норме крысы — $1987,35 \pm 558,26$ МЕ/мл (12 наблюдений), умеренно сниженная — $264,67 \pm 162,74$ МЕ/мл (9 наблюдений), угнетенная — $0,6 \pm 0,3$ МЕ/мл (3 наблюдения в основной и 5 в контрольной группе) ($q < 0,01$ для всех групп). Таким образом, в остром периоде экспериментального панкреонекроза по методу замкнутой дуоденальной петли отмечается неоднородность внешнесекреторной функции поджелудочной железы с преобладанием нормальной секреции. Требуются дальнейшие исследования по причине небольшого числа выполненных опытов.

Ключевые слова: острый панкреатит, экспериментальная хирургия, метод замкнутой дуоденальной петли, экзокринная функция.

ABSTRACT

A preliminary experimental study: Measurement of exocrine pancreatic secretion was performed on Wistar rats after an induction of acute pancreatitis by 'closed duodenal loop' (CDL) method (total number of animals = 39). After 24 hrs duration of AP the CDL content was evacuated by syringe and tested for amylase level (IU/ml). A near normal output remained in most animals ($1987,35 \pm 558,26$, $n = 12$); moderately decreased output was $264,67 \pm 162,74$ ($n = 9$), and cessation of the output in $n = 3$ ($0,6 \pm 0,3$) ($q < 0,01$ for each group). So, in our series the exocrine pancreatic output was found diverging largely with a normal secretion prevailing. Further study is warranted for some conclusive results to obtain.

Keywords: acute pancreatitis, experimental surgery, closed duodenal loop method, exocrine function.

Автор, ответственный за переписку

Corresponding author

Бородач Андрей Вячеславович: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52.
E-mail: aborodach@gmail.com

Borodach Andrey Vyacheslavovich: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospekt, Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: aborodach@gmail.com

© ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, 2021

ВВЕДЕНИЕ

До сих пор остается открытым вопрос относительно экзокринной функции поджелудочной железы в остром периоде панкреатита. В доступной литературе не удалось обнаружить каких-либо достоверных данных как о внешнесекре-

торной функции панкреатоцитов, так и о наличии или отсутствии дебита панкреатического сока в двенадцатиперстную кишку при этом заболевании, как в клинике, так и в условиях острого эксперимента. Эти патогенетические аспекты острого панкреатита имеют не только

фундаментальное, но и сугубо практическое значение. На самом деле в остром периоде должны учитываться качественные и количественные характеристики экзокринной функции поджелудочной железы по нескольким направлениям лечебной тактики. Для этого клиницисту следует ответить на ряд вопросов: обоснована ли с патогенетической точки зрения терапия, направленная на угнетение панкреатической секреции в остром периоде? Если внешнесекреторная функция угнетена, вызвано ли это преимущественно системными изменениями (шоком) или местным патологическим процессом в самой поджелудочной железе? Имеет ли смысл проводить раннюю энтеральную нутритивную поддержку и требуется ли при этом заместительная ферментная терапия? Показана ли эндоскопическая папиллосфинктеротомия для декомпрессии протоковой системы поджелудочной железы [1–4]?

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить характер внешнесекреторной функции поджелудочной железы в остром периоде экспериментального панкреонекроза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве подопытных животных использовались 24 взрослые крысы обоего пола линии Wistar весом 200–250 г — основная группа (ОГ) и 5 крыс, отобранных случайным образом, в качестве контрольной группы (КГ).

Особенности анатомии

По сравнению с человеческой, гепатобилиарнопанкреатодуоденальная зона крысы имеет следующие особенности:

- как и у большинства млекопитающих, двенадцатиперстная кишка крыс расположена внутрибрюшинно (снабжена брыжейкой), ее ширина около 3 мм, длина 2–3 см;
- поджелудочная железа крысы расположена между листками дуоденальной брыжейки, конкретные размеры переменны;
- поджелудочная железа не является компактным органом — это довольно рыхлая ткань светло-розового цвета, представленная двумя тонкими листками примерно равного размера: головной и каудальной лопастями, которые соединяются на уровне большого дуоденального сосочка экстрадуоденально, их диаметр в терминальном отделе менее 1 мм;
- выводных протоков поджелудочной железы несколько, они последовательно впадают в

общий желчный проток в его интрапанкреатическом отделе;

- у крысы нет желчного пузыря, поэтому сфинктер Одди относительно слабый и недоразвитый;
- общий желчный проток обладает довольно выраженным слоем гладкомышечной мускулатуры и способен к перистальтическим сокращениям; стенки полупрозрачны, просвечивает светло-желтая желчь, диаметр — около 1 мм (рис. 1) [5].

Экспериментальная модель

В настоящее время в литературе описано несколько десятков способов моделирования острого панкреатита у лабораторных животных (механические, физические, химические, фармакологические, патофизиологические, которые, в свою очередь, классифицируются по механизму действия) [6]. Одна из наиболее доступных, воспроизводимых и быстрых моделей — способ замкнутой дуоденальной петли (closed duodenal loop model) по Пфедеру [7]. Хотя эта модель создавалась для беспородных собак, разрабатывая дизайн эксперимента, мы предположили, что она не только приемлема, но и более эффективна у крыс по причине отсутствия желчного пузыря и слабого сфинктера Одди.

Сущность способа Пфедера заключается в следующем: после лапаротомии идентифицируют двенадцатиперстную кишку и перекрывают ее просвет проксимальнее и дистальнее впадения панкреатических протоков. Образуется замкнутая полость (петля), которая наполняется желчью и панкреатическим секретом до тех пор, пока интрадуоденальное давление не превысит секреторное давление поджелудочной железы. Таким образом, экспериментатор создает гидродинамический замок для продолжения панкреатической секреции и вызывает в железе внутрипротоковую гипертензию, которая является пусковым фактором для развития острого панкреатита. Клиническими параллелями модели авторы называют хроническую дуоденальную непроходимость, увеличение внутрибрюшного давления различного генеза и подобные патологические состояния. Изначально модель предлагалась для изучения лечебного эффекта различных фармакологических препаратов.

Наша методика

С учетом цели изучения качественных и количественных характеристик внешней панкреа-

Рис. 1. Схема нормального анатомического строения панкреатодуоденальной зоны белой крысы

Рис. 2. Схема способа замкнутой дуоденальной петли в нашей модификации

тической секреции нами разработана модификация способа Пфеллера, направленная на получение возможно более чистого панкреатического сока. Чтобы исключить примесь желчи, дополнительно к формированию замкнутой дуоденальной петли выполнялось лигирование общего желчного протока в супрадуоденальном отделе (рис. 2). Для выяснения количества собственно дуоденального секрета (продукта бруннеровых и слизистых желез двенадцатиперстной кишки) создали КГ, в которой лигировали также все обнаруженные панкреатические протоки для исключения поступления панкреатического сока в замкнутую петлю. В КГ также через 24 ч после начала эксперимента измеряли объем дуоденального содержимого.

Под внутримышечным наркозом Золетилом в дозе 0,5 мг/100 г веса выполняли верхнесрединную лапаротомию, формирование замкнутой дуоденальной петли; важным этапом модификации явилось лигирование общего желчного протока в супрадуоденальном отделе для исключения примеси желчи. Для лучшей визуализации операционного поля в ходе оперативного приема использовали головную бинокулярную лупу с 4-кратным увеличением (АО «Новоси-

бирский приборостроительный завод, холдинг «Швабе»). В послеоперационном периоде медикаментозная поддержка не проводилась. Животным назначался голод при свободном доступе к воде.

Указанное экспериментальное вмешательство приводило к индукции острого деструктивного панкреатита, что подтверждалось при релапаротомии через 24 ч у всех особей (24 — ОГ, 5 — КГ). После ревизии брюшной полости шприцем с иглой пунктировали отключенный сегмент двенадцатиперстной кишки, аспирировали его содержимое для определения уровня панкреатической амилазы на биохимическом анализаторе «Сапфир» (Япония). Эвтаназия производилась интраоперационно путем углубления наркоза до получения апноэ и асистолии. Работа соответствовала правилам обращения с лабораторными животными, утвержденными этическим советом ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась авторами по критерию Стьюдента в программе Microsoft Office Excel 2007. Распределение параметра (альфа-амилазы дуоденального содержимого, МЕ/л) в ОГ опре-

делено как параметрическое (группы внутренне однородны по распределению изучаемого параметра), в КГ — как непараметрическое (группа внутренне неоднородна, что в рамках данного исследования несущественно). Различие считали статистически достоверным при доверительном интервале $q < 0,05$ и строго достоверным при $q < 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спустя 24 ч после индукции острого панкреатита общее состояние всех животных тяжелое, отключенный сегмент двенадцатиперстной кишки туго наполнился жидким бесцветным содержимым. Объем жидкого содержимого в ОГ составил $1,5 \pm 0,5$ мл, в КГ — $0,5 \pm 0,2$ мл. Таким образом, объем панкреатической секреции в полости замкнутой петли составил около 1 мл. В брюшной полости имелось небольшое количество желтоватого выпота, печень увеличена, отечна, с признаками холестаза; на ткани обеих лопастей поджелудочной железы, париетальной и висцеральной брюшине имелись очаги стеатонекрозов величиной до 7–12 мм. После эвтаназии внутренние органы животного изымались для гистологического исследования.

Результаты исследования внешнесекреторной функции поджелудочной железы разделили в зависимости от концентрации альфа-амилазы в дуоденальном содержимом на три группы:

1) соответствовала физиологической норме для крысы (12 наблюдений) (табл. 1);

2) умеренно снижена (9 наблюдений) (табл. 2);

3) практически отсутствовала (3 наблюдения в ОГ и 5 в КГ) (табл. 3) [7].

В группе 1 содержание амилазы составило $1987,35 \pm 558,26$ МЕ/мл, в группе 2 — $264,67 \pm 162,74$ МЕ/мл, в группе 3 — $0,6 \pm 0,3$ МЕ/мл ($q < 0,01$ для всех групп).

Разработка собственной модификации модели Пфедффера позволила получить чистый панкреатический сок крысы без примеси желчи (как это предложено в оригинальной модели) с небольшой примесью индифферентной в ферментном отношении слизи бруннеровых желез. В отличие от оригинальной модели, целью которой — изучение способов медикаментозного лечения экспериментального острого панкреатита, данное исследование направлено на изучение характера внешнесекреторной функции поджелудочной железы в остром периоде панкреонекроза.

В результате предварительного исследования на 24 крысах установлено, что в первые сутки экспериментального панкреонекроза у большинства крыс (21 из 24, или 87,5 %) внешнесекреторная функция поджелудочной железы сохранена и только у 3 (12,5 %) резко угнетена. При этом у 12 животных (50 %) концентрация альфа-амилазы в дуоденальном содержимом соответствовала норме, у 9 (37,5 %) — умеренно снижена. В то же время авторы отдают себе отчет в недостатках модели Пфедффера, а именно в невозможности определить, какое количество се-

Таблица 1

Концентрация альфа-амилазы в дуоденальном содержимом в группе 1 (ед./л)

Номер опыта	Нормосекреция
1	2549,2
2	1318,8
3	942
4	1950,7
5	1669,7
7	2625
8	2437,5
11	1441,7
12	1924,6
13	2345,7
14	1999,4
16	2643,9
Среднее (M)	1987,4
Квадратичное отклонение ($\pm m$)	558,3
Количество (n)	12

Таблица 2

Концентрация альфа-амилазы в дуоденальном содержимом в группе 2 (ед./л)

Номер опыта	Гипосекреция
17	96,9
18	55,8
19	111,6
20	225,5
21	188,5
6	423,5
9	484,1
10	384,2
15	411,9
Среднее (<i>M</i>)	264,7
Квадратичное отклонение ($\pm m$)	162,7
Количество (<i>n</i>)	9

Таблица 3

Концентрация альфа-амилазы в дуоденальном содержимом в группе 3 (ед./л)

Номер опыта	Асекреция	Контроль
22	0,3	0,2
23	0,9	0,3
24	0,6	0,1
Среднее (<i>M</i>)	0,6	0,2
Квадратичное отклонение ($\pm m$)	0,3	0,4
Количество (<i>n</i>)	3	5

крета выделилось после развития острого панкреатита. Решение этой задачи — дело ближайшего будущего.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные доказывают, что в остром периоде экспериментального панкреонекроза методом замкнутой дуоденальной петли существуют показания для проведения медикаментозного подавления внешнесекреторной функции поджелудочной железы. Вместе с тем необходимы дальнейшие исследования для оценки внешнесекреторной функции в динамике как при естественном развитии заболевания, так и при использовании различных схем медикаментозной и инфузионной терапии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Johnson C.D., Chairman B.S.G., Charnley R. et al. UK guidelines for the management of acute pancreatitis. UK Working Party on Acute Pancreatitis // Gut. 2005. Vol. 54 (3). P. 1–9. DOI: 10.1136/gut.2004.057026.

2. Isaji S., Takada T., Kawarada Y. et al. JPN Guidelines for the management of acute pancreatitis: surgical management // J. Hepatobiliary Pancreat. Surg. 2006. Vol. 13 (1). P. 48–55. DOI: 10.1007/s00534-005-1051-7.
3. Banks P.A., Bollen T.L., Dervenis C. et al. Classification of acute pancreatitis-2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus // Gut. 2013. Vol. 62 (1). P. 102–111. DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302779.
4. Tenner S., Baillie J., DeWitt J., Vege S.S. American college of Gastroenterology guideline: management of acute pancreatitis // Am. J. Gastroenterol. 2013. Vol. 108 (9). P. 1400–1415. DOI: 10.1038/ajg.2013.218.
5. Kim H.S., Cuthbertson C., Christophi C. Review of experimental animal models of acute pancreatitis // HPB (Oxford). 2006. Vol. 8 (4). P. 264–286. DOI: 10.1080/13651820500467358.
6. Pfeffer R.B., Stasior O., Hinton J.W. The clinical picture of the sequential development of acute hemorrhagic pancreatitis in the dog // Surg. Forum. 1957. Vol. 8. P. 248–251.
7. Линева А. Физиологические показатели нормы животных. М.: Аквариум, 2001. 256 с.
8. Boyden E.A. The comparative anatomy of the sphincter of Oddi in mammals, with special reference to the

choledochoduodenal junction in man / In: The biliary system, a symposium of the NATO advanced study institute (Taylor W., ed.). Oxford: Blackwell Scientific, 1965. P. 15–40.

9. Whitcomb D. Study of nutrition in acute pancreatitis (SNAP). URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00580749>.

Поступила 13.05.2021

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бородач Андрей Вячеславович — д-р мед. наук, профессор кафедры факультетской хирургии ФГБОУ

ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Захаров Николай Иванович — д-р мед. наук, профессор кафедры факультетской хирургии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Образец цитирования: Бородач А.В., Захаров Н.И. Модификация модели панкреонекроза по Пфедфферу для оценки панкреатической секреции в остром периоде заболевания // Сиб. мед. вестн. 2021. № 2. С. 42–47.