

**На правах рукописи**

**БАТТАЕВ АЛАН ИЛЬЯСОВИЧ**

**АНТИЦИТОКИНОВАЯ ТЕРАПИЯ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ  
ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА**

**(экспериментально-клиническое исследование)**

**14.01.17 - хирургия**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**Москва 2016**

Работа выполнена на кафедре экспериментальной и клинической хирургии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой экспериментальной  
и клинической хирургии Медико-  
биологического факультета РНИМУ им.  
Н.И. Пирогова

**Горский  
Виктор Александрович**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,  
заместитель главного врача  
Госпитального Центра сети клиник  
«Семейный доктор»

**Буриев Илья Михайлович**

доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой госпитальной  
хирургии №2 Лечебного факультета  
РНИМУ им. Н.И. Пирогова

**Шаповальянц  
Сергей Георгиевич**

Ведущее учреждение:

ФГБУ «Институт хирургии им. А.В.  
Вишневского» Минздрава России

Защита состоится «25» апреля 2016 г. в « \_ » часов на заседании диссертационного совета Д.212.203.37 при Российском университете дружбы народов. Адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.8

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке РУДН  
Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6)

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2016 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

кандидат медицинских наук

**М.Ю. Персов**

**Список сокращений**

ИЛ – интерлейкин;

КТ - компьютерная томография;

ОП - острый панкреатит;

ПЖ - поджелудочная железа;

ПН – панкреонекроз;

ПОН - полиорганная недостаточность;

ССВР – синдром системной воспалительной реакции;

ФНО $\alpha$  – фактор некроза опухоли альфа;

ИЛ6 – интерлейкин 6;

ИЛ10 – интерлейкин10;

### Актуальность проблемы

Острый панкреатит является актуальной проблемой современной хирургии, что обусловлено высокой заболеваемостью, тяжёлым течением данного заболевания, значительной летальностью и отсутствием эффективного патогенетического лечения [Савельев В.С. и соавт., 2008, 2009].

В течение нескольких десятилетий сохраняется высокий удельный вес острого панкреатита: среди всей острой хирургической патологии органов брюшной полости он составляет 10-12 % [Брискин Б.С. и соавт., 2008, 2009]. В структуре основных нозологических форм хирургических стационаров больные с острым панкреатитом занимают третье место (25%) после острого холецистита (28%) и острого аппендицита (26%) [Филимонов М.И., Бурневич С.З., 2008, 2009; Винник Ю.С. и соавт., 2009; Зайнугдинов А.М., 2009; Шаповальянц С.Г., 2009; Багненко С.Ф. и соавт., 2009, 2010]. При этом, летальность при остром панкреатите в структуре смертности при острой хирургической патологии органов брюшной полости занимает первое место и в среднем составляет около 20% [Данилов М.В. и др., 2001; Брискин Б.С. и др., 2009; Банников С.И., Петренко Т.Ф., 2010; Beger H.G. et al 1997, Wyncoll D.L., 1999; van Acker G.J. et al., 2007]. Летальность при деструктивных формах, несмотря на применение современных технологий и лекарственных средств, составляет от 35 до 80% [Сажин В.П. и соавт., 2002, Хрячков В.В., 2003; Шугаев А.И. и соавт., 2009; Noor M.T., 2011]. Одной из основных причин неблагоприятных исходов заболевания являются полиорганная недостаточность, которая развивается в начальном периоде заболевания [Затевахин И.И. и соавт., 2002; Ермолов А.С. и соавт., 2007; Плеханов А.Н. и соавт., 2007; Савельев В.С. и соавт., 2008, 2009; Larvin M., 2008].

В настоящее время считается, что одним из ключевых параметров, во многом определяющим течение заболевания в ранней фазе, является массивный выброс в кровоток медиаторов воспаления, и в частности цитокинов [М.П. Королёв, 2012; А.Д. Толстой, 2000; Y. Sakai, 2003].

В настоящее время существует множество различных приемов, с помощью которых можно вызвать в эксперименте ОП, от механического повреждения ее тканей до сложных комбинированных воздействий. При этом модели, простой в исполнении и в тоже время обладающей высокой репрезентативностью не существует.

Эволюция представлений о патогенезе ОП послужила пусковым механизмом для появления целого направления в лечении данной нозологии, а именно терапии, направленной на подавление секреции цитокинов. Большое количество исследований препаратов, которые обладали цитокинингибирующей активностью, не показали должной эффективности. Во многом это можно было объяснить плеiotропностью эффектов, которые оказывают цитокины [C.J.Fisher, 1994; J.Norman, 1996; C.J.McKay, 1997; J.Deviere, 2001; C.D.Johnson, 2001; N.Oruc, 2004]. Это значит, что ликвидация всего одного звена из целого каскада, априори не может быть эффективна. Таким образом, существующие консервативные подходы в лечении не в

состоянии обеспечить контроль над выраженной воспалительной реакцией, характеризующей течение ОП [H.G.Beger, 2000]. В связи с этим, крайне важной становится задача поиска лекарственных препаратов, способных блокировать повышенную секрецию цитокинов.

**Целью** настоящего исследования явилось: оценить эффективность антицитокиновой терапии острого панкреатита в эксперименте и клинике.

В соответствии с целью были поставлены следующие **задачи**:

1. Оценить традиционные модели острого панкреатита у крыс, основанные на введении церулеина в различных дозировках.
2. Исследовать алкогольную модель острого панкреатита у крыс и изучить комбинированное воздействие алкоголя с внутрибрюшинным введением церулеина на поджелудочную железу.
3. Создать собственную модель острого панкреатита у крыс путем частичной перевязки общего желчного протока с одномоментным внутрибрюшинным введением церулеина.
4. Исследовать секрецию цитокинов у животных с собственной моделью острого панкреатита и изучить влияние кеторолака и лорноксикама на продукцию цитокинов.
5. Изучить секрецию цитокинов у больных острым панкреатитом в динамике заболевания.
6. Оценить ингибирующее влияние лорноксикама на синтез цитокинов у больных острым панкреатитом и проанализировать клиническую эффективность антицитокиновой терапии.

### **Научная новизна**

Показано, что при введении церулеина или алкоголя у крыс развивается не панкреонекроз, а отечная форма острого панкреатита. При этом увеличение дозы вводимого церулеина не приводит к развитию деструкции поджелудочной железы. Установлено так же, что комбинация факторов агрессии (церулеин и алкоголь) не вызывает некроза ткани поджелудочной железы.

Разработана новая модель острого панкреатита у крыс, основанная на частичной перевязке общего желчного протока. Модель отвечает современным требованиям экспериментальной хирургии, характеризуется наличием некротических изменений в поджелудочной железе и массивным выбросом цитокинов в периферический кровоток.

Изучена секреция провоспалительных цитокинов (ФНО $\alpha$ , ИЛ6, ИЛ8) и противовоспалительного цитокина (ИЛ10) у больных острым панкреатитом в динамике заболевания.

Выявлено ингибирующее влияние лорноксикама на синтез цитокинов у больных острым панкреатитом и показана клиническая эффективность антицитокиновой терапии в фазу панкреатогенной токсемии.

### **Практическая значимость**

Стандартные биохимические показатели, такие как уровни альфа-амилазы, АСТ, АЛТ у крыс не отражают тяжести течения моделируемого острого панкреатита.

Концентрация ФНО $\alpha$  и ИЛ6 в периферической крови крыс могут служить маркерами тяжести деструктивного процесса, развивающегося при экспериментальной индукции острого панкреатита.

Церулеиновая и алкогольная модели приводят к развитию острого отечного панкреатита, а не панкреонекроза и, поэтому не могут быть использованы для оценки новых терапевтических стратегий лечения деструктивных процессов поджелудочной железы.

Модель острого панкреатита у крыс, созданную оперативным путем посредством частичной окклюзии желчевыводящего протока, следует рекомендовать для оценки эффективности препаратов, обладающих цитокин-ингибирующей активностью.

Оценка цитокинового профиля у больных острым панкреатитом может являться существенным компонентом диагностической программы, позволяющим на раннем этапе прогнозировать течение заболевания.

Проведение в комплексе консервативных мероприятий антицитокиновой терапии позволяет снизить летальность больных острым панкреатитом и является эффективным способом лечения, направленным в основном на коррекцию осложнений фазы панкреатогенной токсемии.

### **Апробация работы**

Основные положения и результаты проведенного исследования доложены на съезде гепатологов России и стран СНГ (Пермь 2014), 15 съезде хирургов республики Беларусь (Брест 2014) 27 научно-практической конференции хирургов Республики Карелия (Петрозаводск 2014). Материалы диссертации детально рассмотрены на научной конференции кафедры экспериментальной и клинической хирургии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова 30 ноября 2015 года.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, из них 4 - в ведущих рецензируемых научных журналах.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Церулеиновая и алкогольная модели не приводят к развитию некротических изменений ткани поджелудочной железы и не сопровождаются повышенной секрецией цитокинов.
2. Модель острого панкреатита, созданная у крыс посредством частичной окклюзии желчевыводящего протока, помимо соответствующих морфологических изменений, характеризуется повышенной продукцией цитокинов.
3. Собственная механическая модель острого панкреатита, дополненная введением церулеина, является оптимальной для оценки эффективности препаратов, обладающих цитокин-ингибирующей активностью.

4. Антицитокиновая терапия является патогенетически обоснованной частью лечебной доктрины острого панкреатита и позволяет снижать интенсивность секреции провоспалительных цитокинов, что положительно влияет на течение заболевания в фазу панкреатогенной токсемии.

### **Структура диссертации**

Диссертационная работа изложена на 149 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, включающего 175 источника (16 отечественных и 159 зарубежных). Диссертация иллюстрирована 24 таблицами и 55 рисунками.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

**Экспериментальная часть.** Была проведена серия экспериментов, в которых использовали 90 самцов аутбредных крыс CD SPF категории в возрасте 12-14 недель.

Для индукции острого панкреатита животным внутрибрюшинно однократно или дробно вводили раствор церулеина в различных дозах.

Кроме того, для индукции острого панкреатита производилось длительное, до 2,5 месяцев выпаивание животным 10% раствора этилового спирта вместо питьевой воды.

Панкреонекроз вызывали путем хирургического наложения неполного механического стеноза общего желчного протока, что приводило к поступлению желчи в панкреатический проток и, как следствие, развитию панкреонекроза.

Помимо указанных воздействий группам животных получавших алкоголь и с использованием хирургической модели внутрибрюшинно вводили раствор церулеина в дозе 40 мкг/кг для усиления степени развития некротических изменений.

Церулеин – синтетический пептид, аналог гормона холецистокинина. В исследовании использовали церулеин производства «AnaSpecInc/SanJose».

Приготовление раствора для введения осуществлялось непосредственно перед процедурой введения в соответствии с инструкцией: во флакон с 1 мкг. сухого вещества добавили 100 мкл. 10 % нашатырного спирта. 40 мкл. полученного раствора довели до объема 10 мл. стерильным физиологическим раствором. Раствор до введения хранился при комнатной температуре не более 1 часа.

Животные были произведены в ФИБХ РАН и получены в эксперимент за 7 дней до введения препарата. При получении был проведен внешний осмотр состояния животных.

В эксперимент были отобраны животные без признаков отклонений в состоянии здоровья, таким образом, чтобы индивидуальные значения показателя «масса тела» не отклонялись от среднего значения по группе более чем на 10%.

Основные правила содержания и ухода соответствовали нормативам, указанным в руководстве Guide for Care and Use of Laboratory Animals. (ILAR publication, 1996, National Academy Press).

Раствор церулеина для введения был приготовлен непосредственно перед введением. Церулеин вводили внутривентриально. Место вкола - в правый нижний квадрант брюшной стенки. Объемы для введения рассчитывали на основании данных массы тела животных. Сразу после введения в течение 6 часов вели наблюдение за животными в клетках содержания с целью выявления признаков отклонений в состоянии здоровья. Далее животных осматривали ежедневно.

Введение алкоголя: 10% этиловый спирт наливали в бутылочки для поения, питьевую воду при этом не давали. Смену раствора осуществляли 2 раза в неделю.

**Операции по частичной окклюзии общего желчного протока.** Крысу наркотизировали внутримышечной инъекцией смеси 5% кетамина и 2% ксилазина и фиксировали в спинном положении. Лапаротомию проводили в области правого подреберья. Осторожно извлекали двенадцатиперстную кишку с прилегающей соединительной тканью, на просвет находили общий желчный проток и накладывали на него лигатуру непосредственно вблизи стенки двенадцатиперстной кишки. Степень затягивания узла лигатуры контролировали при помощи инъекционных игл различного диаметра. Таким образом, достигался неполный механический стеноз общего желчного протока, что приводило к поступлению желчи в панкреатический проток и, как следствие, развитию панкреонекроза.

Эвтаназию экспериментальных животных осуществляли помещением их в CO<sub>2</sub>-камеру с последующим обескровливанием. Кровь забирали для исследования уровней  $\alpha$ -амилазы, АСТ, АЛТ и цитокинов. Определяли провоспалительные интерлейкины ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и противовоспалительный - ИЛ-10. После этого осуществляли забор внутренних органов для морфологического исследования. Поджелудочную железу извлекали целиком и фиксировали в 10% нейтральном формалине. Срезы окрашивали гематоксилином-эозином и исследовали методом световой микроскопии.

**Клиническая часть.** В исследование вошли 34 больных острым панкреатитом, которые находились на лечении в 55 ГКБ в период 2009 - 2013 г.г. Мужчин было 21 (61,8 %), женщин – 12 (33,2%) в возрасте от 18 до 86 лет (45 $\pm$ 13).

У 17 пациентов (группа №1) в комплексную терапию был добавлен НПВС «Лорноксикам». Из них мужчин было 12 (70,6%), женщин 5 (29,4%).

В группе сравнения (группа №2) 17 пациентов получали стандартную терапию острого панкреатита. Распределение по полу происходило следующим образом: мужчин было 10 (58,8%), женщин 7 (41,2%).

Средний возраст в основной группе составил 44 $\pm$ 12,4 года, в группе сравнения 46 $\pm$ 13,4.



### **Методы исследования**

В определенные временные точки у животных осуществляли забор крови для измерения уровня амилазы, АСТ, АЛТ и цитокинов (противовоспалительный – ИЛ-10, провоспалительные ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ) в периферической крови. Кровь для биохимического анализа собирали в пробирки без антикоагулянта и центрифугировали после свертывания для получения сыворотки.

Уровень амилазы измеряли в сыворотке крови с использованием стандартных наборов реагентов Biolabo Reagents (Франция) на биохимическом анализаторе Ellipse AMS.

Активность аспартатаминотрансферазы (АСТ) измерялась по методу Karmen and al., модифицированному Henry and al.

Активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) измерялась по методу Wroblewski and La Due, оптимизированному Henry and Bergmeyer.

Определение цитокинов - кровь для получения сыворотки набирали в пробирки с активатором свертывания ( $\text{SiO}_2$ ). После центрифугирования и полной ретракции сгустка, сыворотку собирали и хранили в течение 2-3 месяцев при температуре  $-70^\circ\text{C}$ . Концентрацию цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов фирмы e-Biosciences.

Микроскопический анализ гистологических препаратов выполняли с использованием микроскопа проходящего света DMLA Leica Германия.

### **Методы обследования и лечения больных**

Лабораторная диагностика включала общепринятые клинические и биохимические анализы. Объем инструментальной диагностики включал рентгенологические методы, УЗИ, эндоскопические исследования и определялся стандартом оказания медицинской помощи при наличии показаний.

Консервативная терапия острого панкреатита включала следующие компоненты: анальгетическую, спазмолитическую терапию, обеспечение функционального покоя ПЖ путем исключения питания через рот, аспирацию желудочного содержимого, медикаментозное подавление внешней секреции с использованием октреотида по 100-300 мкг. 3 раза в сутки, антиферментную терапию с в/в введением контрикала в суточной дозе 150-300 тыс. ЕД, инфузионную корригирующую терапию. Антибиотики назначали в качестве профилактики и для лечения гнойно-деструктивных форм ПН. Оптимальными препаратами считали: карбапенемы (тиенам, меронем), фторхинолоны (абактал), цефалоспорины IV поколения в сочетании с метронидазолом. Дозировка препаратов, длительность курса и путь введения были стандартными и определялись требованиями инструкции по применению используемых антибиотиков. Для профилактики развития грибковой суперинфекции назначали флуконазол (дифлюкан) в/венно. С целью детоксикации применялись форсированный диурез, аппаратные методы экстракорпоральной детоксикации - плазмаферез, гемодиализацию.

Статистическую обработку результатов исследований производили в программном пакете Stat Soft Statistica 6.0 с использованием непараметрических критериев. Для сравнения групп по количественным признакам использовали U-критерий Манна-Уитни и критерий Вилкоксона. Различия показателей в группах считали статистически значимым при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Экспериментальная часть.

#### Церулеиновая модель острого панкреатита.

Для индукции острого панкреатита животным внутрибрюшинно однократно или дробно вводили раствор церулеина в дозах 40, 80, или 120 мкг/кг массы животного.

В начале осуществляли индукцию острого панкреатита путем однократного введения церулеина в дозировке 40 мкг/кг.

Установили, что введение церулеина в данной дозировке вызывает интерстициальный отек паренхимы поджелудочной железы, достигающий максимума через 3 часа (рис. 1). Через 6 часов воспалительные изменения не отличались от таковых при прошлой временной метке, что свидетельствует о том, что от 3 до 6 часов воспалительный процесс в поджелудочной железе находится на одном уровне (плато воспаления). Через 24 часа все еще сохранялась отечность тканей, но только на периферии железы. Через 2 недели наступала полная ремиссия, отек практически отсутствовал.

При увеличении дозы церулеина до 80 мкг/кг было обнаружено, что степень выраженности воспаления не усиливается по сравнению с дозой 40 мкг/кг, т.е. очаги некроза не были обнаружены (рис. 2). Это свидетельствовало об отсутствии доза зависимого эффекта церулеина.

Далее была увеличена кратность введения церулеина. Препарат вводили в дозе 40 мкг/кг 3-хкратно с интервалом в 1 час. В результате, только у 30% крыс CD были выявлены участки некроза, при этом площадь деструкции была не более 3% по отношению ко всей паренхиме поджелудочной железы (рис. 3).

Гистофотография поджелудочной железы крысы после индукции острого панкреатита путем введения церулеина в различных дозировках

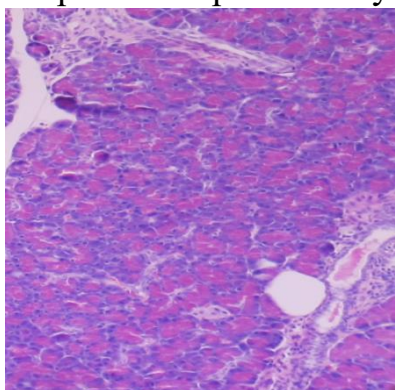


Рис. 1 Введение церулеина 40 мкг/кг

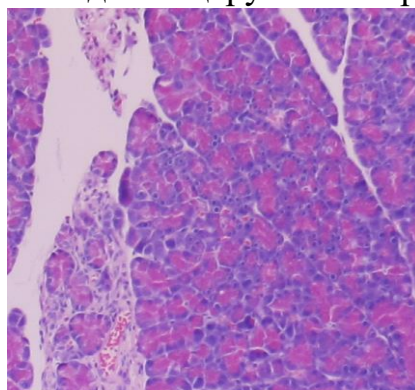


Рис.2 Введение церулеина 80 мкг/кг

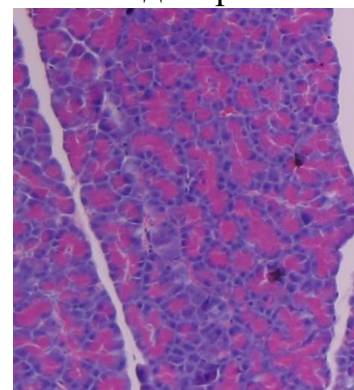


Рис. 3 Введение церулеина 120 мкг/кг

При анализе биохимических показателей, значения АЛТ и АСТ во всех сериях экспериментов находились в пределах нормальных значений. Однократное введение церулеина в дозе 40 мкг/кг повышало уровень содержания альфа-амилазы в периферической крови практически в два раза ( $420,0 \pm 52,9$ ) и достигало своего максимума через 6 часов после инъекции церулеина ( $930,7 \pm 68,3$ ). Только через 2 недели содержание альфа-амилазы крови достигло нормальных значений.

Через один час после введения церулеина в дозе 80 мкг/кг уровень альфа-амилазы повышался статистически значимо выше, чем в дозе 40 мкг/кг. В другие промежутки времени различия были статистически не значимы.

У животных, получавших церулеин в дозе 40 мкг/кг трижды с интервалом в 1 час, через 2 часа после последней инъекции церулеина значения альфа – амилазы значительно превышали показатели, полученные в предыдущих сериях экспериментов и составили  $2613 \pm 1619$  ( $p=0,0034$ ). Через 24 часа происходило снижение изучаемого показателя до  $951 \pm 229$  ( $p=0,0042$ ). Таким образом, итоговые значения кратно превышали показатели, полученные при введении церулеина в меньших дозировках.

Таблица 1. Сравнительные показатели уровня секреции цитокинов у крыс CD после введения церулеина в различных дозировках

Группа	ИЛ10	ИЛ6	ФНО $\alpha$
	Конц. Пг/мл	Конц. Пг/мл	Конц. Пг/мл
Церулеин однократно в дозе 40 мкг/кг.	$66,56 \pm 0,8^*$	$117,88 \pm 16,8$	$13,73 \pm 3,7$
Церулеин однократно в дозе 80 мкг/кг.	$58,56 \pm 1,1$	$119,78 \pm 19,8$	$16,74 \pm 3,7$
Церулеин 3-х кратно в дозе 40 мкг/кг.	$52,16 \pm 2,1$	$137,96 \pm 18,2$	$20,12 \pm 1,7$
Контроль	$50,72 \pm 2,3^*$	$127,27 \pm 23,6$	$19,80 \pm 2,2$

\*статистически значимые различия в показателях ( $p < 0,05$ )

Основной эффекторный цитокин острого панкреатита – ФНО $\alpha$ , при введении церулеина в различных дозировках находился в пределах значений, полученных у интактных животных (таб.1), что вполне соотносилось с выраженностью патологического процесса, подтвержденного гистологически.

При индукции острого панкреатита введением церулеина в дозировках 40 и 80 мкг/кг однократно показатели секреции одного из основных маркеров тяжести воспалительного процесса - ИЛ6 значимо не отличались от значений, полученных у интактных животных. При этом трехкратное введение церулеина в дозе 40 мкг/кг привело к относительному повышению данного показателя. Несмотря на то, что в последней серии опытов продукция ИЛ6 увеличивалась относительно других групп животных, изменения были статистически не значимыми.

Секреция ИЛ10 статистически значимо повышалась только при однократном введении церулеина в дозе 40 мкг/кг. В остальных сериях экспериментов статистически значимого колебания противовоспалительного интерлейкина не обнаруживалось.

Таким образом, введение церулеина в различных дозах сопровождалось развитием отечной формы острого панкреатита. Гистологические изменения не носили дозозависимого характера, т.е. при увеличении дозы церулеина патоморфологические характеристики примерно сохранялись на одном уровне. Увеличение кратности введения препарата, когда суммарная доза достигла 120 мкг/кг привело к формированию очагов некроза, но их малый объем не позволил квалифицировать данное состояние как панкреонекроз.

Во всех сериях опытов мы наблюдали увеличение амилолитической активности плазмы крови у всех животных, максимальные значения зарегистрированы при трехкратном введении церулеина, что по-видимому, сопровождалось максимальным усилением секреторной активности поджелудочной железы. Повышения секреции ИЛ6, ФНО $\alpha$ , ИЛ10 при введении церулеина в описанных выше дозировках зафиксировано не было.

#### Алкогольная модель острого панкреатита.

Учитывая, что употребление алкоголя является одним из ведущих факторов в этиологии острого панкреатита, нами было предпринято исследование по моделированию данной патологии путем длительного выпаивания животным 10% раствора этилового спирта вместо питьевой воды.

В зависимости от длительности дачи алкоголя животные были поделены на 3 группы. В двух группах для дополнительной стимуляции поджелудочной железы вводили церулеин.

Группа	Фактор агрессии
1	Алкоголь (2,5мес.)
2	Алкоголь (14дней)+церулеин
3	Алкоголь (2,5мес.)+церулеин

При выпаивании 10% раствора этилового спирта в течение 2,5 мес., у крыс CD развивались гистологические изменения, характерные для острого отечного панкреатита. Очаги долькового некроза были небольшими и не превышали 3-5% паренхимы поджелудочной железы (рис.4).

Дополнительное введение церулеина утяжеляло гистологическую картину. Это подтверждалось тем, что у всех животных 2 группы были обнаружены зоны некроза. Площадь некроза при этом была не более 5-7 % (рис.5). То есть больше на 2% чем у крыс 1 группы данной серии экспериментов. При этом подсчет площади некроза является достаточно субъективным приемом поэтому разница с группой где животные получали только алкоголь в течении 2,5 мес. нам видится достаточно условной и поэтому говорить о каких-либо преимуществах последней модели ориентируясь только на данные гистологии опрочетливо. Значительных

гистологических отличий от предыдущих данных в последней группе крыс нами не обнаружено (рис.6).

Гистофотография поджелудочной железы крысы после индукции острого панкреатита путем введения алкоголя и церулеина.

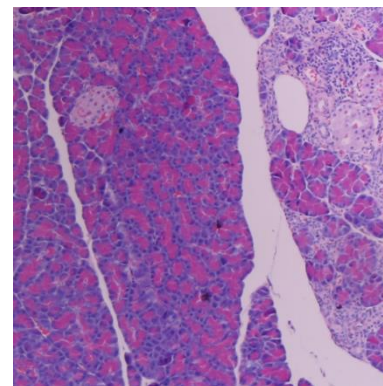
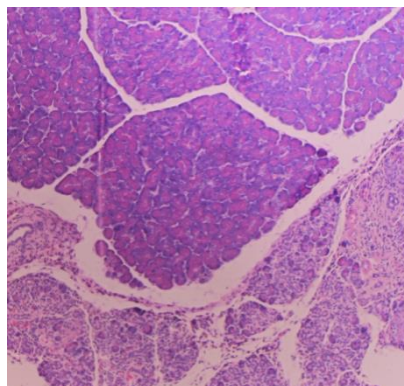
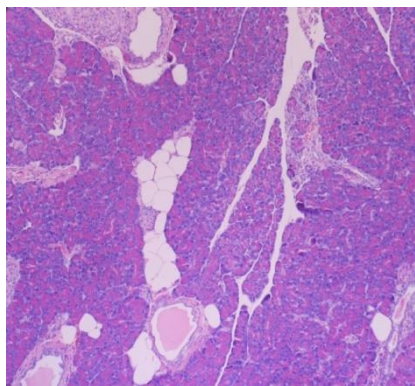


Рис. 4 Алкоголь (2,5мес.)

Рис. 5 Алкоголь  
(14дней)+церулеин

Рис. 6 Алкоголь  
(2,5мес.)+церулеин

При анализе биохимических показателей у крыс, получавших 2,5 мес. алкоголь, обращало на себя внимание практически двукратное превышение уровня амилазы сыворотки крови ( $831,9 \pm 154,3$ ). Значения трансаминаз (АЛТ, АСТ) находились в пределах нормы. Во 2-й группе животных так же отмечали повышение уровня амилазы. Статистически значимых отличий, с предыдущей группой ни в одном биохимическом показателе не отмечено.

Что касается анализа биохимических показателей, то в группе животных получавших 2,5 мес. алкоголь с однократным внутрибрюшинным введением раствора церулеина в дозе 40 мкг/кг наряду с увеличением уровня альфа-амилазы, характерного и для других групп животных, происходит увеличение и уровня АСТ ( $204,67 \pm 16,4$ ) и АЛТ ( $102 \pm 65,3$ ). Данные изменения, по-видимому, обусловлены хронической алкогольной интоксикацией в течении 2,5 месяцев, усугубленной введением церулеина.

Таблица 2. Сравнительные показатели уровня секреции цитокинов у крыс после выпаивания алкоголя и введения церулеина в дозе 40 мкг/кг

Группа	ИЛ10	ИЛ6	ФНО $\alpha$
	Конц. Пг/мл	Конц. Пг/мл	Конц. Пг/мл
Алкоголь (2,5 мес.)	$63,04 \pm 2$	$146,81 \pm 7$	$12,06 \pm 2$
Алкоголь (14дней) + церулеин	$59,15 \pm 4$	$142,25 \pm 7$	$13,63 \pm 5$
Алкоголь (2,5мес.) + церулеин	$68,13 \pm 8^*$	$224,24 \pm 5^*$	$16,66 \pm 7$
Контроль	$50,72 \pm 8$	$127,27 \pm 14^*$	$19,8 \pm 6$

\*статистически значимые различия в показателях ( $p < 0,05$ )

При анализе таб. 2 видно, что в первых двух группах животных статистически значимых колебаний цитокинового статуса не отмечено. При этом, в группе №3 уровень ИЛ10 статистически значимо выше контрольных показателей ( $p=0,0495$ ), кроме того уровень противовоспалительного цитокина статистически значимо выше чем у крыс получавших только алкоголь 2,5 мес. ( $p=0,0495$ ) и выше чем у животных где острый панкреатит был индуцирован введением церулеина в дозе 40 мкг/кг трехкратно ( $p=0,0463$ ). Возможно, такие изменения связаны с длительностью применения фактора агрессии, когда у животного развивается компенсаторная противовоспалительная реакция, сопровождающаяся постепенным увеличением продукции ИЛ10.

Кроме того, при анализе уровня ИЛ6 в последней группе животных отмечается статистически значимое его увеличение по отношению к контролю ( $p=0,0495$ ), чего ранее в других группах нами зафиксировано не было. Также уровень ИЛ6 в изучаемой группе статистически значимо выше ( $p=0,0495$ ), чем в группе с животными, где для индукции острого панкреатита использовался только прием алкоголя в течение 2,5 мес.

При анализе уровня ФНО $\alpha$  статистически значимых различий с контролем не зафиксировано ( $p=0,126$ ).

Таким образом, в данной серии экспериментов гистологически в ткани железы наблюдали воспалительные изменения, характеризующиеся интерстициальным отеком, невыраженной лейкоцитарной инфильтрацией. По сравнению с моделями, где использовали только церулеин в различных дозировках, комбинация факторов агрессии привела к появлению некротических изменений. Но у всех животных площадь некроза была не более 4%, что не позволяет нам считать данное различие принципиальным, и соответственно позволяет рассматривать алкоголь и церулеин как инициаторов отечной формы острого панкреатита.

Моделью отечной формы острого панкреатита при которой происходят статистически значимые изменения цитокинового статуса, следует признать модель с комбинацией факторов агрессии, а именно выпаивание 10% раствора этилового спирта в течение 2,5 месяцев с последующим однократным внутрибрюшинным введением церулеина в дозе 40 мкг/кг.

Таким образом, при комбинации факторов агрессии (алкоголь + церулеин) помимо развития местных воспалительных изменений в ткани поджелудочной железы, отмечалось также наличие системного воспаления, что подтверждено увеличением уровня провоспалительного цитокина (ИЛ6). Собственная модель острого некротического панкреатита у крыс.

Учитывая результаты вышеописанных серий экспериментов, было принято решение попытаться смоделировать острый некротический панкреатит оперативным путем, посредством частичной обтурации общего желчного протока.

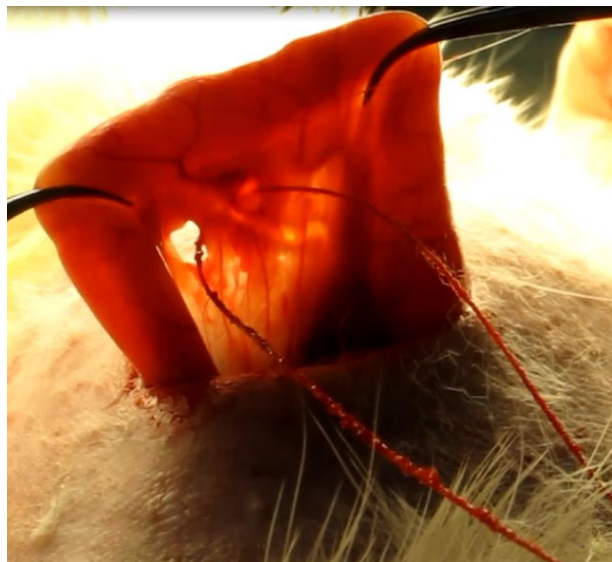
Описание операции: наркоз давали с помощью внутримышечной инъекций смеси 5% кетамина и 2% ксилазина. После чего животное фиксировали в спинном положении. Для создания оптимального доступа к

петле 12 перстной кишки лапаротомию проводили в области правого подреберья. После вскрытия брюшной полости осторожно извлекали двенадцатиперстную кишку с брыжейкой, выделяли общий желчный проток (рис. 7). Далее на него накладывали лигатуру непосредственно вблизи стенки двенадцатиперстной кишки (рис. 8). Степень затягивания узла лигатуры контролировали при помощи инъекционных игл различного диаметра (рис. 9, 10). Таким образом, достигался неполный механический стеноз общего желчного протока, что приводило к рефлюксу желчи в панкреатический проток. После проведения оперативного приема концы лигатуры срезались и петля 12 перстной кишки погружалась в брюшную полость. Брюшная полость ушивалась наглухо.

Рис. 7. Выведенная из брюшной полости 12 перстной кишки с общим желчевыводящим протоком

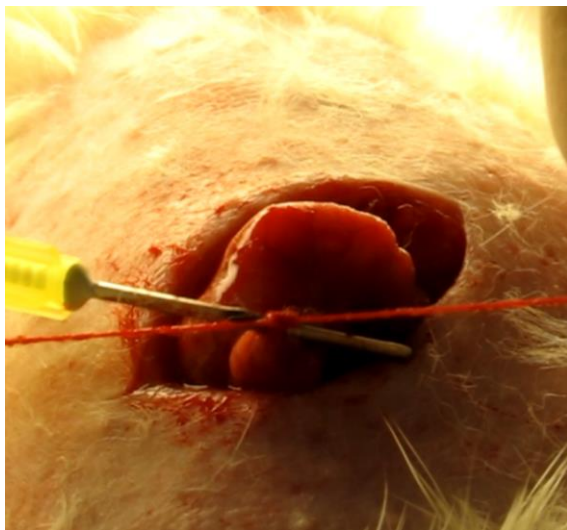


Рис. 8. Выведенная из брюшной полости 12 перстной кишки с лигатурой, подведенной под общий желчевыводящим протоком



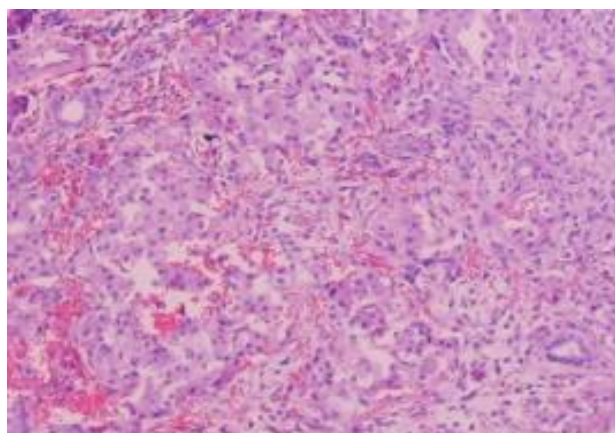
1 - общий желчевыводящий проток;  
2 - петля 12 перстной кишки

Рис. 9. Затягивание лигатуры на игле проведенной рядом с общим желчевыводящим протоком



При анализе данных патоморфологии животных перенесших с целью моделирования острого некротического панкреатита частичную перевязку общего желчного протока видно, что в отличие от предыдущих групп (церулеин, алкоголь) в поджелудочной железе преобладают некротические процессы (рис.11). У животных, которые после операции выжили имеются признаки выраженного воспаления в ткани поджелудочной железы, такие как отек, инфильтрация макрофагами, выраженная лейкоцитарная инфильтрация.

Рис 11. Гистофотография поджелудочной железы крысы (частичный механический стеноз общего желчного протока)



Из 10 животных в группе 2 погибли в течении первых суток. В результате проведенного гистологического исследования было выявлено, что причиной смерти у всех 2 крыс явился тотальный некроз поджелудочной железы.

К сожалению, у погибших животных забор крови на биохимическое исследование и определение концентрации цитокинов произвести не удалось.



При анализе биохимических показателей, выживших животных обнаружили, что их уровень находится выше нормальных значений, в то время как в предыдущей серии экспериментов нами было выявлено только повышение  $\alpha$ -амилазы и АСТ. При сравнении биохимических показателей изучаемой группы с аналогичными в группе с острым панкреатитом (алкоголь 2,5 мес. + церулеин) статистически значимых различий не зафиксировано - альфа-амилаза ( $p=0,512$ ), АЛТ ( $p=0,827$ ), АСТ ( $p=0,512$ ).

Таблица 3. Сравнительные показатели уровня секреции цитокинов в сыворотке крови крыс с острым некротическим панкреатитом, вызванным частичным механическим стенозом общего желчного протока

Группа	ИЛ10 Конц. Пг/мл	ИЛ6 Конц. Пг/мл	ФНО $\alpha$ Конц. Пг/мл
Операция (Среднее значение)	67,28 $\pm$ 2,8*	320,28 $\pm$ 21*	32,37 $\pm$ 3,2*
Контроль (среднее значение)	50,72 $\pm$ 2,3*	127,27 $\pm$ 23,6*	19,80 $\pm$ 2,2*

\*различия статистически значимы ( $p<0,05$ )

При анализе концентрации ИЛ10 в данной группе животных обнаружили, что его уровень статистически значимо выше ( $p=0,0495$ ), чем в контрольной группе (таб.3). Мы также сравнили концентрацию ИЛ10 в изучаемой группе с параметрами, полученными у крыс с острым панкреатитом после 2,5 мес. выпаивания алкоголя и однократного введения церулеина. Оказалось что статистически значимой разницы в них нет ( $p=0,827$ ).

Что касается ИЛ6, то его уровень был также статистически значимо выше ( $p=0,0495$ ) чем значения полученные у интактных животных. При сравнении концентрации ИЛ6 в изучаемой группе с параметрами, полученными у крыс с острым панкреатитом после 2,5 мес. выпаивания алкоголя и однократного введения церулеина, разница оказалась также статистически значимой ( $p=0,0495$ ).

Во всех предыдущих сериях экспериментов мы не обнаруживали статистически значимого изменения ФНО $\alpha$ , даже по отношению к контрольным значениям. Как оказалось, у крыс с операционной механической моделью панкреонекроза уровень ФНО $\alpha$  был статистически значимо выше ( $p=0,0495$ ) не только чем в контрольной группе, но и выше ( $p=0,0495$ ) чем в группе крыс с острым панкреатитом после 2,5 мес. выпаивания алкоголя и однократного введения церулеина.

Таким образом, модель острого панкреатита, вызванная частичным механическим стенозом общего желчного протока не только соответствовала необходимой по гистологическим параметрам, но также характеризовалась повышением уровней биохимических показателей и повышенной выработкой про и противовоспалительных цитокинов.

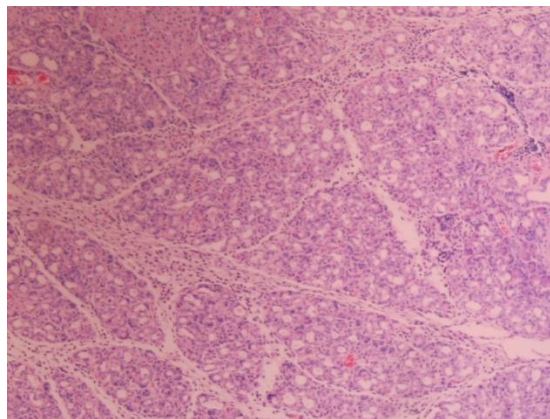
В дальнейшем, для утяжеления патологического процесса 10 крысам через 3 суток после операции (частичная обтурация желчевыводящего

протока) вводили 40 мкг/кг церулеина. Учитывая, что предыдущие серии экспериментов показали максимальный эффект церулеина на 3-6 часы, животные выводились из эксперимента через 6 часов после введения препарата.

Одна крыса погибла в течении 1-х суток после операции. По данным гистологического исследования причиной смерти стал тотальный панкреонекроз.

Анализ данных патоморфологического исследования поджелудочной железы крыс, которым после частичной окклюзии общего желчного протока вводился церулеин, показал наличие тотального панкреонекроза, сопровождаемого выраженными воспалительными изменениями (рис.12). При сопоставлении с данными гистологического исследования оперированных крыс, которым церулеин не вводили можно сказать, что при использовании препарата вероятность наступления и выраженность панкреонекроза у животных выше. То есть, модель дополненная введением церулеина характеризуется развитием обширного некроза ткани поджелудочной железы у всех животных с сохранением уровня ранней летальности в пределах 10%.

Рис. 12 Гистофотография поджелудочной железы крысы CD (частичный механический стеноз общего желчного протока + церулеин). Тотальный некроз всей железы. Массированная инфильтрация соединительной ткани лейкоцитами



В изучаемой группе животных все биохимические показатели находятся выше нормальных значений. При этом статистически значимых различий с группой, где после операции церулеин не вводился, в уровнях альфа-амилазы ( $p=0,827$ ), АЛТ ( $p=0,512$ ), АСТ ( $p=0,275$ ) нет. Мы также произвели сравнение показателей биохимии крови с группой животных где острый панкреатит индуцировали приемом алкоголя 2,5 мес. и введением церулеина. Оказалось что статистической разницы между ними также нет альфа-амилаза ( $p=0,275$ ), АЛТ ( $p=0,512$ ), АСТ ( $p=0,512$ ).

Таким образом, как мы видели из предыдущих серий экспериментов повышение альфа-амилазы, АЛТ, АСТ происходит уже при остром панкреатите. При развитии панкреонекроза данные показатели также повышены, но их уровень не соотносится со степенью деструктивных процессов происходящих в поджелудочной железе крысы. Поэтому изучаемые биохимические показатели не могут служить маркерами тяжести панкреонекроза у крыс.

Таблица 4. Сравнительные показатели уровня секреции цитокинов в сыворотке крови крыс CD с панкреонекрозом, вызванным частичным механическим стенозом общего желчного протока с однократным внутрибрюшинным введением через 3 дня после операции церулеина в дозе 40 мкг/кг

Группа	ИЛ10 Конц. Пг/мл	ИЛ6 Конц. Пг/мл	ФНО $\alpha$ Конц. Пг/мл
Операция + церулеин (через 3 дня после операции)	72,39 $\pm$ 6,5*	457,19 $\pm$ 69,1*	34,62 $\pm$ 6,6*
Контроль	50,72 $\pm$ 2,3*	127,27 $\pm$ 23,6*	19,80 $\pm$ 2,2*

При анализе концентрации ИЛ10 у крыс в данной группе, оказалось что уровень цитокина статистически значимо выше ( $p=0,0495$ ) чем у интактных животных, и не отличается ( $p=0,512$ ) от уровня оперированных крыс, которым церулеин не вводили (таб.4).

Что касается ФНО $\alpha$ , то его уровень также значимо выше ( $p=0,0495$ ) контрольных значений, но не отличается от показателей, которые были у животных после операции без введения церулеина.

Таким образом, в исследуемой группе наблюдается значительное повышение уровня всех цитокинов, но принципиальным является тот факт, что концентрация ИЛ6 в данной группе выше ( $p=0,0495$ ) чем в группе с операцией без введения церулеина. То есть, можно говорить о том, что как и в прошлых сериях экспериментов введение церулеина утяжеляет течение заболевания.

Учитывая, что по литературным данным именно ИЛ6 является основным маркером тяжести течения панкреонекроза, для моделирования именно тяжелых форм панкреонекроза считаем более целесообразным использовать модель с частичной перевязкой желчевыводящего протока и последующим введением церулеина внутрибрюшинно в дозе 40 мкг/кг.

Таким образом, при частичной окклюзии желчного протока у крыс развивается некроз ткани поджелудочной железы. Кроме того, происходит значимое повышение изучаемых биохимических параметров. Если сравнивать две операционные модели с введением церулеина и без него, то первая характеризуется большей вероятностью развития обширного панкреонекроза с суточной летальностью в пределах 10%. Так же данная модель сопровождается более интенсивным выбросом ИЛ6. Поэтому будет более предпочтительна для изучения ранних осложнений панкреонекроза.

Учитывая изложенное выше, вначале на механической модели острого панкреатита оценили эффективность проведения терапии с НПВС кеторолак. Для этого крысам через 6 часов после введения церулеина внутривенно в латеральную хвостовую вену вводили кеторолак 1 раз сутки в течении 3 дней в дозе 1,6 мг/кг/сут.

При анализе данных гистологического исследования поджелудочной железы у крыс после операции, введения церулеина и кеторолака отмечено

развитие тотального деструктивного процесса в поджелудочной железе. При этом, степень воспалительных изменений не отличалась от группы животных, где кеторолак после операции не вводили.

При анализе показателей биохимических анализов крови в изучаемой группе было обнаружено, что введение кеторолака 1 раз сутки в течении 3 дней в дозе 1,6 мг/кг/сут. после индукции острого панкреатита (операция + церулеин) статистически значимо не влияет на уровень  $\alpha$ -амилазы, АЛТ, АСТ.

При анализе концентрации цитокинов в данной группе животных обнаружено статистически значимое ( $p=0,0495$ ) снижение продукции ИЛ-6. Та же закономерность была отмечена и при изучении уровня ФНО $\alpha$ . После введения кеторолака концентрация изучаемого цитокина статистически значимо снижалась ( $p=0,0495$ ), но была выше контрольных показателей ( $p=0,0495$ ).

Таким образом, у кеторолака был выявлен ингибирующий эффект на синтез про- и противовоспалительных цитокинов у крыс после индукции острого панкреатита (операция + церулеин).

Следующим этапом оценено влияния лорноксикама на течение острого панкреатита у крыс. Для этого индуцировали у животных некротический панкреатит (операция+церулеин). Затем внутривенно в латеральную хвостовую вену вводили лорноксикам 1 раз сутки в течении 3 дней в дозе 1,6 мг/кг/сут.

Анализируя данные гистологического исследования поджелудочной железы у крыс после индукции острого панкреатита (операция + церулеин) и введения лорноксикама обнаружили, что степень некротических изменений была несколько ниже, чем при применении после индукции острого панкреатита кеторолака. Так или иначе, отсутствие возможности статистической обработки данных патоморфологического исследования не позволяет нам сделать вывод о том, что выше описанные изменения явились следствием применения именно лорноксикама.

Уровень  $\alpha$ -амилазы в изучаемой группе был выше нормальных значений. При этом значения данного показателя были статистически значимо ниже ( $p=0,0495$ ), чем в группе крыс с некротическим панкреатитом (операция + церулеин) и статистически значимо ниже ( $p=0,0495$ ), чем в группе крыс с некротическим панкреатитом (операция + церулеин), получавших кеторолак. При статистическом анализе значимого отличия показателей АСТ ( $p=0,126$ ) и АЛТ ( $p=0,382$ ) от группы крыс с панкреонекрозом (операция + церулеин) не было.

Концентрация ИЛ10 в изучаемой группе оказалась статистически значимо ниже ( $p=0,0495$ ) группы крыс с острым панкреатитом (операция + церулеин) и в группе с кеторолаком ( $p=0,0495$ ). При сравнении ИЛ10 в изучаемой группе с данными интактных животных, оказалось что статистически значимой разницы между ними нет ( $p=0,275$ ). То есть, при применении лорноксикама после индукции острого панкреатита (операция + церулеин) уровень ИЛ10 находится в пределах нормальных значений для

данной выборки. Это означает, что на продукцию противовоспалительного цитокина лорноксикам оказывает ингибирующее действие, причем степень этого воздействия выше, чем у кеторолака.

Учитывая, что большинство исследований не подтверждают высокую роль противовоспалительных цитокинов в патогенезе острого панкреатита, основное внимание должно уделяться именно провоспалительным интерлейкинам.

Концентрация ИЛ6 в исследуемой группе статистически значимо снижалась ( $p=0,0495$ ) по сравнению с животными, которым НПВС не вводили. Статистически значимых отличий как по отношению к контролю, так и по отношению к группе с кеторолаком обнаружено не было ( $p=0,827$ ). То есть, лорноксикам обладает ингибирующим воздействием на продукцию ИЛ6. Причем степень ингибирования не отличается от таковой у кеторолака.

При анализе концентрации ФНО $\alpha$  в изучаемой группе установили, что его концентрация статистически значимо ниже ( $p=0,0495$ ) группы без НПВС и группы с кеторолаком ( $p=0,0495$ ). Обращает на себя внимание тот факт, что степень ингибирования синтеза ФНО $\alpha$  лорноксикамом настолько велика, что его уровень стал статистически значимо ниже, чем в группе интактных животных ( $p=0,0495$ ).

Таким образом, модель острого некротического панкреатита у крыс (операция + церулеин) сопровождается массивным выбросом всех исследуемых цитокинов. НПВС кеторолак и лорноксикам обладают ингибирующим эффектом на цитокиногенез - происходит снижение концентраций ИЛ10, ИЛ6, ФНО $\alpha$ . Установлено, что ингибирующее влияние лорноксикама на продукцию ИЛ10 и ФНО $\alpha$  выражено более значительно, чем у кеторолака.

**Клиническая часть.** Учитывая, что лорноксикам в эксперименте проявлял большую ингибирующую активность на синтез цитокинов, в клиническом этапе исследования было принято решение использовать именно данный НПВС.

В исследование вошли 34 больных острым панкреатитом, которые находились на лечении в 55 ГКБ в период 2009 - 2013 г.г. Мужчин было 21 (61,8 %), женщин – 12 (33,2%) в возрасте от 18 до 86 лет ( $45\pm 13$ ).

У 17 пациентов (группа №1) в комплексную терапию был добавлен НПВС «Лорноксикам». Из них мужчин было 12 (70,6%), женщин 5 (29,4%).

В группе сравнения (группа №2) 17 пациентов получали стандартную терапию острого панкреатита. Распределение по полу происходило следующим образом: мужчин было 10 (58,8%), женщин 7 (41,2%).

В основной группе пациентов наряду с базисной терапевтической коррекцией острого панкреатита дополнительно в качестве антицитокиновой терапии вводили препарат лорноксикам. Последний вводили внутривенно капельно 2 раза в день в течение пяти суток от момента поступления в суточной дозировке 32, 32, 24, 16 и 16 мг.

Забор крови для определения цитокинов у пациентов обеих групп проводили в 1-е сутки (до начала лечения), а так же на 3-и, 7-е и 12-е.

Исследование цитокинового статуса у больных острым панкреатитом выявило статистически значимое увеличение продукции провоспалительных цитокинов (ФНО, ИЛ8) в начале заболевания. Кроме того, значимо была увеличена секреция противовоспалительного цитокина – ИЛ10. Что является подтверждением того, что в начальном периоде развития острого панкреатита происходит запуск не только системного воспаления, но и противовоспалительных механизмов и от баланса этих двух систем во многом будет зависеть дальнейшее течение заболевания.

Так же нами было обнаружено, что в начале заболевания один из основных предикторов тяжести острого панкреатита – ИЛ6 находился в пределах нормы и статистически значимое повышение концентрации данного цитокина в группе сравнения происходило только на 3-и сутки. Данный факт может быть объяснен тем, что в группах количество тяжелых больных находилось в пределах 40%. Кроме того, если учитывать координационные эффекты, присущие ИЛ6, можно предположить, что пиковые значения должны появляться именно начиная со вторых – третьих суток от начала заболевания.

Что касается оценки антицитокиновой терапии, то в основной группе больных с острым панкреатитом обнаружено статистически значимое снижение секреции ФНО, ИЛ6, ИЛ8 на 3-и сутки проводимого лечения. В то же время в нашем исследовании не обнаружено влияния терапии лорноксикамом на интенсивность секреции противовоспалительного цитокина – ИЛ10.

У пациентов обеих групп была также проанализирована динамика основных лабораторных и клинических показателей, изучены осложнения острого панкреатита, характер операций, произведен анализ летальности.

При этом было выявлено, что все изученные лабораторные показатели в группах статистически значимо не различались. Кроме того, корреляции данных показателей с продукцией цитокинов в группах больных нами также обнаружено не было. Поэтому изучение цитокинового профиля является более тонким методом диагностики и его нельзя заменить рутинными методами лабораторной диагностики.

Анализ клинических проявлений в группах больных показал, что в начальном периоде острого панкреатита между группами существовали статистически значимые различия, проявившиеся в частоте развития таких осложнений панкреатогенной токсемии как интоксикационные расстройства сознания ( $p=0,032$ ), респираторный дистресс-синдром ( $p=0,045$ ), панкреатогенный шок ( $p=0,045$ ). Причем проведение антицитокиновой терапии не только снижало вероятность развития данных осложнений, но и позволяло купировать их в более укороченные сроки. Данный факт подтверждается тем, что в основной группе средний койко-день в ПИТ составил  $5,8 \pm 3,2$ , в группе сравнения  $4,5 \pm 3,0$ . Хотя разница в группах не была статистически значимой ( $p=0,12$ ), можно говорить о наличии тенденции к уменьшению среднего койко-дня в основной группе.

Что касается асептических и гнойно-деструктивных осложнений острого панкреатита, то количество пациентов в группах значимо по данному параметру не различалось.

В основной группе было оперировано 7 (41,2%) больных, в группе сравнения 8 (47,1%). Основными операциями в группах были минимально инвазивные: пункционно-дренирующие и лапароскопические вмешательства.

Анализ летальности выявил, что в основной группе скончался 1 (5,9%) больной. В группе сравнения умерло 3 больных (17,6%). Различия в данном показателе являются статистически значимыми  $p=0,023$ . При этом в основной группе причиной смерти пациента было осложнение фазы панкреатогенной токсемии, а именно - панкреатогенный шок, в группе сравнения большее число летальных исходов также связано с развитием полиорганной недостаточности, панкреатогенного шока – 2 (11,8%) пациентов. Один больной (5,9%) скончался от забрюшинной флегмоны.

На основании приведенного анализа можно сделать вывод о том, что антицитокиновая терапия лорноксикамом позволяет снизить летальность больных острым панкреатитом и является эффективным способом лечения, направленным в основном на коррекцию осложнений фазы панкреатогенной токсемии.

## **ВЫВОДЫ**

1. Внутривнутрибрюшинное введение церулеина у крыс не приводит к развитию панкреонекроза и не сопровождается повышенной секрецией цитокинов. Выраженность изменений в ткани поджелудочной железе не зависит от дозы церулеина.

2. Введение крысам алкоголя *per os*, вне зависимости от продолжительности его воздействия, не приводит к некрозу ткани поджелудочной железы. При сочетании выпаивания алкоголя с внутривнутрибрюшинным введением церулеина, так же развивается острый отечный панкреатит.

3. Предложенная собственная модель острого панкреатита, основанная на частичной окклюзии общего желчного протока у крыс, вызывает развитие острого некротического панкреатита. Некротические изменения усугубляются при дополнительном внутривнутрибрюшинном введении церулеина в дозе 40 мкг/кг.

4. В условиях воспроизведения алкогольной и церулеиновой моделей острого панкреатита происходит увеличение секреции лишь противовоспалительного цитокина ИЛ10. Предложенная собственная модель острого панкреатита характеризуется массивным выбросом провоспалительных цитокинов (ИЛ6 и ФНО $\alpha$ ) в периферический кровоток. Применение лорноксикама и кеторолака оказывает ингибирующее действие на продукцию цитокинов.

5. У больных начало острого панкреатита сопровождается усилением секреции провоспалительных цитокинов ФНО $\alpha$ , ИЛ8 и

противовоспалительного ИЛ10. Повышение ИЛ6 отмечается только на 3 сутки заболевания.

6. Лорноксикам следует считать эффективным компонентом консервативной терапии у больных в фазу панкреатогенной токсемии, т.к. он активно снижает продукцию провоспалительных цитокинов.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Модель панкреонекроза у крыс, созданная оперативным путем посредством частичной окклюзии желчевыводящего протока, может быть рекомендована для:

- 1) изучения процессов цитокинокинеза при деструктивных поражениях поджелудочной железы;
- 2) оценки эффективности препаратов, обладающих цитокин-ингибирующей активностью.

Для проведения антицитокиновой терапии необходимо вводить лорноксикам внутривенно капельно 2 раза в день в течение пяти суток от момента поступления в суточной дозировке 32, 32, 24, 16 и 16 мг.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

1. В.А. Горский, М.А. Агапов, И.В. Леоненко, Д.А. Гафоров, А.Н. Мурашов, С.Г. Семушина, А.И. Баттаев, Е.С. Садовникова / Экспериментальная модель панкреонекроза // **Анналы хирургической гепатологии. -2014.-Т.19.-№1.-С.103-109**
2. М.А. Агапов, В.А. Горский, А.И. Баттаев / Модель острого некротического панкреатита // **Материалы 27 научно-практической конференции хирургов Республики Карелия. -2014.- С.81-83**
3. М.А. Агапов, В.А. Горский, М.В. Хорева, И.В. Леоненко, А.И. Баттаев, /Новая модель панкреонекроза у крыс//Материалы 21 конгресса «Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии», Пермь.- 2014. - С.161
4. В.А. Горский, М.А. Агапов, М.В. Хорева, В.А. Петров, А.Ю. Кравченко, А.И. Баттаев / Влияние терапии лорноксикамом на экспрессию мРНК TLR2, TLR4 при системных осложнениях острого панкреатита // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. -2014. -Т.158. - №7.- С.16-19**
5. М.А. Агапов, В.А. Горский, В.А. Петров, М.Д. Поливода, А.Ю. Кравченко, А.И. Баттаев / Способы моделирования острого панкреатита (обзор литературы) // **Вестник РГМУ. - 2014.-№3.-С.24-29**
6. М.А. Агапов, В.А. Горский, М.В. Хорева, И.В. Леоненко, А.И. Баттаев / Модель острого некротического панкреатита // 15 съезд хирургов республики Беларусь. Актуальные вопросы хирургии. 16-17 октября. Брест. - 2014.- С.217-218
7. В.А. Горский, М.А. Агапов, И.В. Леоненко, А.И. Баттаев / Создание модели острого некротического панкреатита // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии. - 2014.-Т.7. - №3.-С.196-200**



**Баттаев Алан Ильясович (Россия)**  
**Антицитокиновая терапия в комплексном лечении острого**  
**панкреатита**

Диссертация посвящена актуальной теме – лечению больных с острым панкреатитом.

Экспериментально оценены общепринятые модели панкреонекроза, оказавшиеся неэффективными. Создана собственная механическая модель панкреонекроза, характеризующаяся массивным выбросом цитокинов в периферический кровоток. Оценена ингибирующая активность НПВС на продукцию цитокинов в эксперименте и *in vitro*. Показано позитивное влияние лорноксикама на все исследуемые параметры.

Выполнено перспективное исследование у 34 больных острым панкреатитом по оценке эффективности антицитокиновой терапии лорноксикамом. Установлено снижение концентрации провоспалительных цитокинов в динамике лечения. Получено снижение осложнений фазы панкреатогенной токсемии и уменьшение общей летальности.

**Battaev Alan (Russia)**  
**Anti-cytokine therapy in complex treatment of acute pancreatitis**

Dissertation is devoted to the actual topic - treatment of patients with acute pancreatitis.

Experimentally evaluated the conventional model of pancreatic necrosis, have been ineffective. It created its own mechanical model of pancreatic necrosis, characterized by a massive release of cytokines in peripheral blood. Evaluated the inhibitory activity of NSAIDs on cytokine production in the experiment and *in vitro*. The positive influence of lornoxicam all parameters investigated.

Performed a prospective study in 34 patients with acute pancreatitis, to evaluate the effectiveness of therapy anticytokine lornoxicam. A reduction in the concentration of pro-inflammatory cytokines during the treatment. An decrease complications phase pancreatogenic toxemia, and reduce the overall mortality.