

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

ივანე ღათუნაშვილი

**მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობის ტაქტიკის შერჩევა
რედოქს-სტატუსის გათვალისწინებით**

14.00.27-ქირურგია

მედიცინის მეცნიერებათა კანდიდატის
სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი დისერტაციის

ავტორეზიუმე

თბილისი

2006

ნაშრომი შესრულებულია
თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტში

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: – ნოდარ ლომიძე, მედიცინის
მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი

სამეცნიერო კონსულტანტი: – თამარ სანიკიძე, ბილოგიის
მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი

ოფიციალური ოპონენტები: – ბაადურ მოსიძე, მედიცინის
მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი (14.00.14)

გია თომაძე, მედიცინის
მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი (14.00.27)

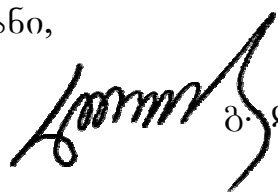
დისერტაციის დაცვა შედგება 2006 წლის 29 ნოემბერს —

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის სადისერტაციო
საბჭოს m14.27№8 სხდომაზე (0177, თბილისი, ვაჟა-ფშაველას გამზ.
№33).

დისერტაციის გაცნობა შესაძლებელია თბილისის სახელმწიფო
სამედიცინო უნივერსიტეტის ბიბლიოთეკაში (0160, თბილისი, ვაჟა-
ფშაველას გამზ. №29).

ავტორეფერატი დაიგზავნა 2006 წლის 27 ოქტომბერს

სადისერტაციო საბჭოს სწავლული მდივანი,
მედიცინის მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი

 გ. ლომიძე

ТБИЛИССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

Датунашвили Иване

**ВЫБОР ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА
С УЧЕТОМ РЕДОКС-СТАТУСА ОРГАНИЗМА**

14.00.27-Хирургия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Тбилиси

2006

Работа выполнена в Тбилисском Государственном Медицинском Университете

Научный руководитель: - Ломидзе Нодар, доктор медицинских наук,
профессор

Научный консультант: - Саникидзе Тамар, доктор биологических
наук, профессор

Официальные оппоненты: - Мосидзе Баадур, доктор медицинских
наук, профессор (14.00.14)

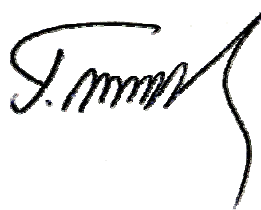
Томадзе Гиа, доктор медицинских наук,
профессор (14.00.27)

Защита диссертации состоится 29 ноября 2006 г. в ____ часов, на заседании
диссертационного совета m14.27 №8 в Тбилисском государственном
медицинском университете (0177, Тбилиси, пр. Важа-Пшавела, 33).

Ознакомиться с диссертацией можно в библиотеке Тбилисского
государственного медицинского университета (0160, Тбилиси, пр. Важа -
Пшавела, 29).

Автореферат разослан 27 октября 2006 г.

Ученый секретарь диссертационного
совета, доктор медицинских наук,
профессор



Г. Лобжанидзе

ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

თემის აქტუალობა: მედიცინაში უახლესი თანამედროვე ტექნოლოგიებისა და ეფექტური სამკურნალო საშუალებების დანერგვის მიუხედავად გართულებების, ინვალიდობისა და ლეტალობის მაღალი მაჩვენებლების (M. Balachandra et al. 2005) გამო მწვავე პანკრეატიტი კვლავ რჩება აბდომინური ქირურგიის აქტუალურ პრობლემად, მკურნალობის შედეგების გასაუმჯობესებელი რაციონალური გზების ძიება კი ისევ წარმოადგენს რთულ და შრომატევად ამოცანას.

მწვავე პანკრეატიტის სამკურნალოდ სხვადასხვა ტაქტიკური ვარიანტის გამოყენების ჩვენებათა ირგვლივ მსოფლიო ლიტერატურაში სადღესოდ აზრთა დიდი სხვადასხვაობაა. მკურნალობის მუდმივად ცვალებადი სქემების (Toouli J. et al, 2002; Niederau C. et al. 2006; Sekimoto M et al. 2006), დაავადების ფორმების განსხვავებული განმარტებების, მრავალი კლასიფიკაციისა და ავადმყოფის ზოგადი მდგომარეობის შესაფასებელი ერთიანი კრიტერიუმების არარსებობის გამო მკურნალობის შედეგების ამსახველი სტატისტიკური მონაცემების ურთიერთშედარება ხშირად შეუძლებელი ხდება. ამ ცალსახა კრიტერიუმების არარსებობა წარმოადგენს სწორედ იმ დილემას, რომელიც უმეტეს შემთხვევაში გვევლინება არასწორი ქირურგიული აქტივობის ან/და მისგან გაუმართლებელი თავის შეკავების მიზეზად, რასაც, თავის მხრივ, ხშირად მივყავართ ფატალურ შედეგებამდე.

გამომდინარე აქედან, მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობის ხარისხის გაუმჯობესების გზები უნდა ვეძებოთ ორგანიზმში მიმდინარე პათომორფოფუნქციური ცვლილებების დადგენაში და დაავადების სხვადასხვა სტადიაზე ეტიო-პათოგენეზური მკურნალობის დასაბუთებული ტაქტიკის შერჩევაში.

გამომწვევ ფაქტორთა მრავალრიცხოვნობა (Sekimoto M et al. 2006), მწირედ შესწავლილი რთული პათოგენეზი (Bhatia M. et al., 1995) და პოლიორგანულ დაზიანებათა ფართო სპექტრი მწვავე პანკრეატიტის პრობლემას მიმზიდველობას მატებს კლინიკური და ექსპერიმენტული კვლევისთვის.

მწვავე პანკრეატიტის განვითარების ადრეულ ფაზაშივე ლეტალური გამოსავლი (20-40%) სწორედ პოლიორგანული უკმარისობის სინდრომითაა (პუს) განპირობებული (R. Pezzilli, et al. 2004). პუს-ის განვითარებაში უდიდეს როლს თამაშობს ტოქსიური აგრესიის ფაქტორების მოხვედრა ცირკულაციაში, რასაც შედეგად მოჰყვება ციტოკინების და ანთების მედიატორების მოჭარბებული გამოთავისუფლება, რედოქს-ჰომეოსტაზის დარღვევა პროოქსიდანტების სასარგებლოდ. უხშირესად პუს-ი, ციტოკინებთან და ანთების მედიატორებთან ერთად, სწორედ პროოქსიდანტური სისტემის გააქტივებით არის განპირობებული (McKay CJ et al. 1999).

ზემოთქმულიდან გამომდინარე, მწვავე პანკრეატიტის დროს განვითარებული მოლეკულური და სუბუჯრედული დარღვევების მექანიზმების უკეთ გაგებისათვის ფრიად პერსპექტიული მიმართულებაა ჟანგვით პროცესებში მონაწილე ფერმენტების, მათი მეტაბოლექტიური ცენტრების და თავისუფალი რადიკალების შესწავლა.

კვლევის მიზანი და ამოცანები:

კვლევის მიზანია მწვავე პანკრეატიტის დროს ჟანგვითი მეტაბოლიზმის დარღვევის თავისებურებათა დადგენა, მათი კორექციისათვის ანტიოქსიდანტური მედიკამენტებით მკურნალობის სქემის შემუშავება და ორგანიზმის რედოქს-სტატუსის გათვალისწინებით მკურნალობის ტაქტიკის შერჩევა.

კვლევის ამოცანები:

1. მწვავე პანკრეატიტით დაავადებულ პაციენტთა სისხლში პრო- და ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობისა და NO-ს შემცველობის შესწავლა დაავადების სიმძიმის ხარისხის გათვალისწინებით;
2. ექსპერიმენტში მწვავე პანკრეატიტის სტერილური და ინფიცირებული ფორმების დროს:
 - I. ვირთაგვების სისხლში პრო- და ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობისა და NO-ს შემცველობის შესწავლა;
 - II. პანკრეასსა და მეორად სამიზნე ორგანოებში (ღვიძლსა და ფილტვებში) ლიპიდების ზეუანგური ჟანგვის ინტენსივობის (LOO[•]), NO-ს შემცველობის და მორფოლოგიური (ფილტვის და პანკრეასის) ცვლილებების შესწავლა;
3. მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობის კომპლექსში გამოყენებული ქირურგიული მინიინვაზიური (ლაპაროსკოპია, პუნქცია და პარაპანკრეასული სივრცის და მუცლის ღრუს დრენირება ექოსკოპიური და კოპიუტერულ-ტომოგრაფიული კონტროლით, მუცლის ღრუს სანაცია) მეთოდის ეფექტურობის შეფასება ექსპერიმენტში (პრო- და ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის, NO-ს შემცველობის და ფილტვების და პანკრეასის მიკრომორფოლოგიური სურათის მიხედვით);
4. მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობის კომპლექსში გამოყენებული ანტიოქსიდანტური მედიკამენტების ეფექტურობის შეფასება ექსპერიმენტში (პრო-, ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობის, NO-ს შემცველობის და ფილტვების და პანკრეასის მიკრომორფოლოგიური სურათის მიხედვით).

შრომის მეცნიერული სიახლე:

- კლინიკასა და ექსპერიმენტში მწვავე პანკრეატიტის დროს პირველად იქნა კომპლექსურად შესწავლილი ორგანიზმის ჟანგვითი ჰომეოსტაზის ცვლილებები ელექტრონულ-პარამაგნიტურ-რეზონანსული და სპექტროფოტომეტრული მეთოდების გამოყენებით;
- ნაჩვენებია, რომ კლინიკასა და ექსპერიმენტში მწვავე პანკრეატიტის სიმძიმის ხარისხის მომატების შესაბამისად:
 - ✓ მკვეთრად უარესდება ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობა;
 - ✓ ძლიერდება პროოქსიდაციული პროცესი;
 - ✓ პანკრეასსა და მეორად სამიზნე ორგანოებში მატულობს დესტრუქციული ცვლილებები;
- ექსპერიმენტში ინფიცირებული პანკრეონეკროზის დროს ნახტომისებრი ფორმით ირღვევა ორგანიზმის ჟანგვითი ჰომეოსტაზი:
 - ✓ თითქმის ორჯერ ძლიერდება პროოქსიდაციული პროცესების ინტენსივობა;
 - ✓ ქვეითდება ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობა და NO-ს კონცენტრაცია;გამომდინარე აქედან, ჟანგვითი ჰომეოსტაზის ასეთი ნახტომისებრი ცვლილება შესაძლებელია გამოყენებული იქნას პანკრეონეკროზის ინფიცირების განვითარების მარკერად.
- პირველად ნაჩვენებია, რომ მინიინვაზიური ქირურგიული მკურნალობა ვერ იცავს პანკრეასს ნეკროზული დაზიანებისაგან, მაგრამ ხელს უწყობს ორგანიზმის ჟანგვითი ჰომეოსტაზის გაუმჯობესებას;
- ანტიოქსიდანტური მკურნალობა და მინიინვაზიური ჩარევები აუმჯობესებს ჟანგვით ჰომეოსტაზს, მაგრამ ეს ღონისძიებები გაცილებით უკეთესად იცავს დესტრუქციული ცვლილებებისგან მეორად სამიზნე ორგანოებს, ვიდრე თვით პანკრეასს;

- ორგანიზმის რედოქს-სტატუსის მდგომარეობის შეფასება დინამიკაში მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობის ტაქტიკის შერჩევის საშუალებას იძლევა.

დაცვაზე გამოტანილი ძირითადი დებულებები

1. ჟანგვითი მეტაბოლიზმის დარღვევა წარმოადგენს მწვავე პანკრეატიტის პათოგენეზის უმნიშვნელოვანეს რგოლს რაც პანკრეასის და სამიზნე ორგანოების ქსოვილში პათომორფოსტრუქტურული ცვლილებების განითარებას განაპირობებს;
2. ჟანგვითი მეტაბოლიზმის კორექცია წარმოადგენს მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობის აუცილებელ ეტაპს;
3. პროოქსიდაციული სისტემის მდგომარეობა შესაძლოა გამოყენებული იქნას, როგორც მწვავე პანკრეატიტის კლინიკური ფორმის განმსაზღვრელ მარკერად და მკურნალობის სქემის შესარჩევად;
 - კვლევის დროს გამოვლენილი პროოქსიდაციული პროცესების მაჩვენებელთა ნაკლებად გამოხატული მომატება, ინსტრუმენტული კვლევით პანკრეასსა და პარაპანკრეასულ სივრცეში ნაკლებად გამოხატული ცვლილებები, ავადმყოფთა შედარებით დამაკმაყოფილებელი კლინიკური მონაცემები – კონსერვატული მკურნალობის კომპლექსში მძლავრი ანტიოქსიდანტური პრეპარატების გამოყენების ჩვენებაა.
 - აღნიშნულ მაჩვენებელთა სწრაფი გაუარესება კონსერვატული მკურნალობის პროცესში ანტიოქსიდანტური პრეპარატების გამოყენების პარალელურად მოითხოვს დეტოქსიკაციის მიზნით ნაადრევ მინიინვაზიურ-ქირურგიულ ჩარევებს
 - ორგანიზმში ანთებითი პროცესის სხვა კერის არარსებობისას პროოქსიდაციული პროცესების მაჩვენებელთა ნახტომისებრი მომატება და პაციენტის სიმძიმის შეფასების კრიტერიუმების (APACHE II, LR4) უეცარი გაუარესება უნდა მიუთითებდეს მწვავე პანკრეატიტის სეპტიურ ფაზაში გადასვლაზე, რაც საჭიროებს ოპერაციულ ჩარევას, რომლის მოცულობაც უკვე განისაზღვრება პანკრეასსა და პერიპანკრეასულ სივრცეში დესტრუქციული ცვლილებების მასშტაბით

ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება

1. ორგანიზმის რედოქს-სტატუსის მდგომარეობის ნახტომისებური ზრდა შეიძლება გამოყენებული იქნას პანკრეონეკროზის ინფიცირების განვითარების მარკერად;
2. ორგანიზმის რედოქს-სტატუსის მდგომარეობის ცვლილება დინამიკაში მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობის ტაქტიკის შერჩევის საშუალებას იძლევა;
3. რედოქს-სტატუსის გათვალისწინებით ჩვენს მიერ შერჩეულმა ტაქტიკამ ექსპერიმენტში მნიშვნელოვნად გააუმჯობესა მკურნალობის შედეგები;

ნაშრომის აპრობაცია

დისერტაციის ძირითადი დებულებები მოხსენებულია:

- აკად. გ. მუხაძის სახ. თბილისის ქირურგთა საზოგადოების სხდომაზე 10.03.2006 (ოქმი №29);
- თსსუ-ის ქირურგიულ სნეულებათა №1 კათედრის გაფართოებულ სხდომაზე 10.04.06 (ოქმი №22;)

პუბლიკაციები: დისერტაციის ძირითადი თავები ასახულია 6 პუბლიკაციაში, მათ შორის 2 - საერთაშორისო მიმოქცევის გამოცემებში.

დისერტაციის მოცულობა და სტრუქტურა:

სადისერტაციო ნაშრომი შეიცავს 112 ნაბეჭდ გვერდს. შედგება თავებისგან: შესავალი, ლიტერატურის მიმოხილვა, კვლევის მასალა და მეთოდები, საკუთარი გამოკვლევები, მიღებული შედეგების განხილვა-განსჯა, დასკვნები და პრაქტიკული რეკომენდაციები. დისერტაცია ილუსტრირებულია 9 დიაგრამით, 8 ფოტოსურათით, 17 ცხრილით. გამოყენებული ლიტერატურის ნუსხა მოიცავს 247 წყაროს.

კვლევის მასალა და მეთოდები:

კლინიკური კვლევა: კლინიკური კვლევისთვის შეირჩა თსსუ-ის სამკურნალო ფაკულტეტის ქირურგიულ სნეულებათა №1 კათედრის ბაზაზე მწვავე პანკრეატიტის დიაგნოზით ჰოსპიტალიზებული 32 პაციენტი, რომელთაგან 20 იყო მამაკაცი, 12 – ქალი. პაციენტთა ასაკი მერყეობდა 22-68 წლის ფარგლებში. სიმძიმის მიხედვით 17 შემთხვევაში აღინიშნებოდა მძიმე, ხოლო 15 შემთხვევაში – საშუალო სიმძიმის მწვავე პანკრეატიტი. საკონტროლო ჯგუფს შეადგენდა 30-55 წლამდე ასაკის 10 პრაქტიკულად ჯანმრთელი პირი. ავადობის კლასიფიკაცია და დაავადების სიმძიმის შესაფასებლად გამოყენებულია J. Toouli და თანაავტორების მიერ მოწოდებული მწვავე პანკრეატიტის მართვის გაიდლაინი (Working Party Report; Guidelines for the management of acute pancreatitis, J. Toouli, M. Brooke-Smith, C. Bassi, D. Carr-Locke, J. Telford, P. Freeny, C. Imrie and R. Tandon; Journal of Gastroenterology and Hepatology (2002) 17 (Suppl.) S15-S39) და ატლანტაში 1992 წელს გასტროენტეროლოგთა საერთაშორისო კონგრესზე მიღებული კლასიფიკაცია.

კვლევისთვის გამოყენებული იქნა:

1. ანამნეზი და ფიზიკალური მონაცემები;
2. ლაბორატორიული - შრატის ამილაზას მანვენებელი, სისხლის ბიოქიმიური ანალიზი, კოაგულოგრამა, ელექტროლიტები;
3. ინსტრუმენტული - ექოსკოპიური, რენტგენოლოგიური, კომპიუტერულ-ტომოგრაფიული და რეტროგრადული ქოლანგიოპანკრეატოგრაფიული კვლევა; პანკრეონეკროზის დიაგნოზის დასაბუთება ხდებოდა კტ კვლევით პანკრეასის ქსოვილში დაბალი სიმკვრივის (<30 ჰუსფილდზე) უბნების აღმოჩენით, და, აგრეთვე, პარაპანკრეასული შემუპების საფუძველზე; ინფიცირებული პანკრეონეკროზის განვითარების დიაგნოზის დასაბუთება ხდებოდა ექოსკოპიური ან კტ კონტროლით ასპირირებული სითხის მიკრობიოლოგიური კვლევის საფუძველზე.

ავადმყოფის ზოგად მდგომარეობას ვსაზღვრავდით ორგანიზმის სიმძიმის შემფასებელი კრიტერიუმების სხვადასხვა სისტემების (MODS APACHE II, LR4) გამოყენებით.

სისხლის ანტიოქსიდანტურ სისტემაში ვსწავლობდით სუპეროქსიდისმუტაზას და კატალაზას.

სისხლის პროოქსიდაციური სისტემის შესასწავლად ვაწარმოებდით სუპეროქსიდ რადიკალის (O_2^-) და პეროქსილიპიდების (LOO^{\cdot}) სპინ მონიშნულ ეპრ სპექტრულ ანალიზს სპინ-ხაფანგების DMPO-ს და PBN-ს გამოყენებით (Sigma).

სისხლში თავისუფალი NO-ს განსაზღვრისთვის ვიყენებდით სპინ მონიშნულ ეპრ სპექტრულ ანალიზს სპინ-ხაფანგის ნატრიუმის DETC-ს (Sigma) დახმარებით.

ექსპერიმენტული კვლევა:

ექსპერიმენტული კვლევა ჩატარდა 81 მამრობით, ზრდასრულ ლაბორატორიულ ვირთაგვაზე, რომლებიც იმყოფებოდნენ სტანდარტულ (წყალი და საკვები ad

libidum, 12 სთ-იანი დღე-ღამის ციკლი, ჰაერის ტემპერატურა 30-32°C) პირობებში. ცხოველები განაწილებული იყო 9 ჯგუფად:

I ჯგუფი	ჯანმრთელი	(9 ვირთაგვა)
II ჯგუფი	მწვავე პანკრეატიტი 6 სთ	(9 ვირთაგვა);
III ჯგუფი	მწვავე პანკრეატიტი 12 სთ	(9 ვირთაგვა);
IV ჯგუფი	მწვავე პანკრეატიტი 24 სთ	(9 ვირთაგვა);
V ჯგუფი	მწვავე პანკრეატიტი 48 სთ	(9 ვირთაგვა);
VI ჯგუფი	მწვავე პანკრეატიტი 72 სთ	(9 ვირთაგვა);
VII ჯგუფი	მწვავე პანკრეატიტი + ქირურგიული მკურნალობა	(9 ვირთაგვა);
VIII ჯგუფი	მწვავე პანკრეატიტი + ანტიოქსიდანტური მკურნალობა	(9 ვირთაგვა);
IX ჯგუფი	ინფიცირებული პანკრეონეკროზი (E. coli-ის 10 ⁸ მიკრობი)	(9 ვირთაგვა).

მწვავე პანკრეატიტს ვიწვევდით ოთახის ტემპერატურის მქონე L-არგინინის 20%-იანი ხსნარის (SIGMA) ორჯერადი ინიექციით პერიტონეუმის ღრუში 30 წუთიანი ინტერვალით (დოზით 250მგ/100გ) (Tani S, et al.,1990). მწვავე პანკრეატიტის გამოწვევის ლაბორატორიულ მარკერად იხმარებოდა ამილაზას ტესტი.

საკონტროლო ცხოველებში, ორჯერადად ინტრაპერიტონეულად შეგვყავდა ოთახის ტემპერატურის 0,9%-იანი NaCl-ის ხსნარი (დოზით 1,25მლ/100გ) 30 წუთიანი შუალედებით.

ცხოველების სისხლში ამილაზას განსაზღვრა ხდებოდა ბიოქიმიური კიტით: Amylase CNP-G3 (SIGMA) აპარატზე Microplate reader Multiscan (Finland), ოთახის ტემპერატურაზე.

ცხოველების სისხლში ამილაზას განსაზღვრის ვადები მოყვანილია ცხრილში 1:

ცხრილი 1

	0 სთ	6 სთ	12 სთ	24 სთ	48 სთ	72 სთ
კონტროლი	√					
მწვავე პანკრეატიტი 6 სთ	√	√				
მწვავე პანკრეატიტი 12 სთ	√		√			
მწვავე პანკრეატიტი 24 სთ	√			√		
მწვავე პანკრეატიტი 48 სთ	√				√	
მწვავე პანკრეატიტი 72 სთ	√			√		√
მწვავე პანკრეატიტი + ქირურგიული მკურნალობა	√			√		√
მწვავე პანკრეატიტი + ანტიოქს. მკურნალობა	√			√		√
ინფიცირებული პანკრეონეკროზი	√			√		√

სისხლის აღება ხდებოდა ვირთაგვის კუდის ვენიდან.

კატალაზა:

კატალაზას აქტივობას ვიკვლევდით H. Aebi-ის მეთოდით, მოდიფიცირებული M.A.Королюк-ის და თანაავტორთა მიერ (1988).

სუპეროქსიდისმუტაზა:

სუპეროქსიდისმუტაზას (სოდ) აქტივობას ვსაზღვრავდით Fried-ის (1975) მეთოდით, რომელიც მოდიფიცირებულია E. B. Макаренко-ის მიერ (1988 წ.).

გლუტათიონრედუქტაზა (Gr): ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა ფერმენტის მე-3 ფორმა, Glutathione Reductase-3, რომელიც წარმოადგენს პლაზმის გლუტათიონრედუქტაზას. გლუტათიონრედუქტაზას ვსაზღვრავდით ბიოქიმიურ რეაქტივთა კომპლექსის საშუალებით “Glutathione Reductase Assay Kit Product Code GR-SA Technical Bulletin No. MB-765” (SIGMA) აპარატზე Microplate reader Multiscan (Finland) ოთახის ტემპერატურის პირობებში.

ელექტრონულ-პარამაგნიტური რეზონანსის (ეპრ) სპექტროსკოპული კვლევები:

ეპრ კვლევები ტარდებოდა რადიოსპექტრომეტრზე P9-1307 (რუსეთი), თხევადი აზოტის (-196°C) ტემპერატურაზე.

სისხლში, ღვიძლში, პანკრეასსა და ფილტვებში აზოტის ჟანგის განსაზღვრის მიზნით ვიყენებდით სპინ-ხაფანგს ნატრიუმის დიეთილდითიოკარბამატს (DETC) (SIGMA) და Fe²⁺-ციტრატს (Mikoyan V.D. et al. 1995). ცხოველების დესანგინაციას (მუცლის აორტის და ქვემო ღრუ ვენის გადაკვეთა) ვაწარმოებდით სპინ-ხაფანგის შეყვანიდან 30 წუთის შემდეგ; NO-Fe²⁺-(DETC)₂ კომპლექსების ეპრ სპექტრები ისაზღვრებოდა თხევადი აზოტის ტემპერატურაზე მიკროტალღოვან სიმძლავრეზე 20 მვტ.

სისხლში, ღვიძლში, პანკრეასსა და ფილტვებში ლიპოპეროქსიდ რადიკალების (LOO[•]) განსაზღვრის მიზნით ვიყენებდით სპინ-ხაფანგს N-ტერტუენილ-α-ბუტილნიტრონს (PBN) (SIGMA), რომელიც შეგვყავდა კულის ვენაში დოზით 10მგ/კგ (Trudeau-Lame, Mary E., 2003). გამოსაკვლევე მასალას ვიღებდით სპინ-ხაფანგის შეყვანიდან 30 წუთის შემდეგ. LOO[•]-ს ეპრ სპექტრებს ვსაზღვრავდით თხევადი აზოტის ტემპერატურაზე მიკროტალღოვან სიმძლავრეზე 20 მვტ.

სისხლში ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების (სუპეროქსიდ-რადიკალების) განსაზღვრის მიზნით ვიყენებდით სპინ-ხაფანგს 5,5 დიმეთილ-1-პიროლინ-IV-ოქსიდი (DMPO) (SIGMA). ვაწარმოებდით სისხლის ინკუბაციას DMPO-თან (დოზით 50 mM 1 მლ სისხლზე) 3 წუთის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე. სუპეროქსიდრადიკალების ეპრ სპექტრებს ვსაზღვრავდით თხევადი აზოტის ტემპერატურაზე მიკროტალღოვან სიმძლავრეზე 20 მვტ.

ექსპერიმენტის აღწერა:

ქირურგიული მკურნალობა:

ვირთაგვებში ოპერაციას ვატარებდით ექსპერიმენტის დაწყებიდან 24 სთ-ის შემდეგ. ოპერაციები ტარდებოდა სტერილურ საოპერაციო ბოქსში. სანარკოზედ გამოყენებული იქნა ნემბუტალის 10%-იანი ხსნარი (100 მგ/კგ). ხსნარის კანქვეშა ინიექციიდან 30 წუთის შემდეგ ხდებოდა ცხოველის დაფიქსირება საოპერაციო მაგიდაზე. გაპარსული მუცლის ზედაპირის დამუშავებას ვაწარმოებდით სპირტის (70%) და იოდის (5% სპირტხსნარი) ხსნარების საშუალებით. სტერილური იარაღებით მივმართავდით მუცლის წინა კედლის განივ გაკვეთას ნეკნთა რკალიდან 0,5-1 სმ-ის მოშორებით, სიგრძით 4-5 სმ. ქირურგიული მკურნალობა ითვალისწინებდა მუცლის ღრუს სანაციას NaCl-ის 0,9%-იანი ხსნარით. 30-35°C-მდე გამთბარ სტერილური ხსნარის 30 მლ-ს ვასხავდით მუცლის ღრუში და ამოვამშრალავდით სტერილური მარლის საფენების საშუალებით.

მანიპულაციების ჩატარების შემდეგ მუცლის წინა კედელი იხურებოდა ყრუდ, ორ შრედ. კუნთების მთლიანობის აღსადგენად ვსმარობდით კვანძოვან ნაკერებს №4-0 აბრეშუმის სტერილური ძაფით ატრამული ნემსის საშუალებით. კანის მთლიანობის აღსადგენად კი – №5-0 აბრეშუმის ძაფის განუწყვეტელ ნაკერს.

ინფიცირებული მწვავე პანკრეატიტი:

ინფიცირებული პანკრეონეკროზის გამოწვევის მიზნით, ვაწარმოებდით ლაპაროტომიას მწვავე პანკრეატიტის განვითარებიდან 24 სთ-ში ზემოაღწერილი

წესის მიხედვით. პანკრეასის ქსოვილში წინასწარ გამზადებული ინსულინის შპრიცით შეგვყავდა სამედიცინო ფორმა „ტესტი-ექიმთა სახლის“ ლაბორატორიის მიერ გამოყვანილი E. coli-ის სუფთა კულტურის 10^8 მიკრობის შემცველი 1 მლ სხნარი (Tolga Ergin et al. 2002). ჭრილობა იხურებოდა ყრუდ ზემოაღწერილი წესით. ცხოველებიდან გამოსაკვლევი მასალის აღება წარმოებდა L-არგინინის შეყვანიდან 72 სთ-ში.

კონსერვატული მკურნალობა:

კონსერვატულ მკურნალობას ვიწყებდით L-არგინინის შეყვანიდან 24 სთ-ის შემდეგ. ანტიოქსიდაციური დაცვის მიზმით გამოვიყენეთ E ვიტამინის და C ვიტამინის ინიექციები.

E ვიტამინი შევიყვანეთ 20, 44 და 68 სთ-ზე დოზით 50 მგ/კგ, კუნთებში

C ვიტამინი შეგვყავდა 20, 44 და 68 სთ-ზე დოზით 40 მგ/კგ, კუნთებში

გამოსაკვლევი მასალის აღება წარმოებდა L-არგინინის შეყვანიდან 72 სთ-ში.

ექსპერიმენტში ა)პანკრეასის ინფექციის გამოწვევისა და ბ)ორგანიზმის სტერილობის დაცვის მიკრობიოლოგიური კონტროლი:

ექსპერიმენტის პროცესში მივმართავდით მუცლის ღრუს სტერილობის შემოწმებას მასალის მიკრობიოლოგიური კვლევის საფუძველზე. მიკრობიოლოგიური ანალიზი ჩატარდა ექსპერიმენტის 72 სთ-ზე I, VI, VII, VIII და IX ჯგუფის ცხოველებში. მიკრობიოლოგიურ პასუხს ვამოწმებდით მასალის საკვებ არეზე გადატანიდან 48 სთ-ში.

მორფოლოგიური კვლევა:

მორფოლოგიური კვლევისათვის ცხოველის ფილტვების და პანკრეასის ქსოვილს ვიღებდით დესანგვინაციის შემდეგ. 0,6-1 სმ-ის ზომის ნიმუშებს ვათავსებდით ფორმალინის 12%-იან ხსნარში.

ნიმუშებს სტანდარტული დამუშავების შემდეგ ვღებავდით ჰემატოქსილინ-ეოზინის საღებავში. ნიმუშებს ვსწავლობდით სინათლის მიკროსკოპის საშუალებით.

სტატისტიკური დამუშავება:

კლინიკური და ექსპერიმენტული კვლევის შედეგად მიღებული შედეგები დამუშავებულია T-test სტატისტიკური კვლევით, პროგრამა Statistica 6,0-ის საშუალებით.

მიღებული შედეგები:

შესწავლილია 32 ავადმყოფის სისხლის ეპრ სპექტროსკოპული და ბიოქიმიური (ანტოქსიდანტური ფერმენტები: SOD, კატალაზა) ანალიზი.

დიაგნოზის დასაბუთება ხდებოდა კლინიკურ-ლაბორატორიული მონაცემების საფუძველზე. გამოვლინდა:

- მძიმე მწვავე პანკრეატიტი 17 შემთხვევა (53,1%);
- საშუალო სიმძიმის მწვავე პანკრეატიტი 15 შემთხვევა (46,9%);

მათ შორის:

- მწვავე პანკრეატიტის სტერილური ფორმა 28 შემთხვევა (87,5%);
- მწვავე პანკრეონეკროზის ინფიცირებული ფორმა 4 შემთხვევა (12,5%);

პაციენტებში დაფიქსირდა შემდეგი თანმხლები დაავადებები და გართულებები:

- ენცეფალოპათიის 2 შემთხვევა (6,25%);
- სუნთქვის უკმარისობის 9 შემთხვევა (28,13%);
- ოლიგურიის 3 შემთხვევა (9,38%);
- ჰიპოკოლაგულაციის 1 შემთხვევა (3,13%);
- ღვიძლის უკმარისობის 4 შემთხვევა (12,5%);
- გულ-სისხლძარღვოვანი უკმარისობის 2 შემთხვევა (6,25%);

ეტიოლოგიური ფაქტორების როლში გამოვლინდა: 10 შემთხვევაში ალკოჰოლური გენეზი, 12 შემთხვევაში ბილიური გენეზი, 2 შემთხვევაში ტრავმა, 2 შემთხვევაში ქრონიკული პანკრეატიტის გამწვავება, 6 შემთხვევაში ეტიოლოგიური ფაქტორი ვერ გამოვლინდა (იდიოპათიური მწვავე პანკრეატიტი). შედეგები მოყვანილია ცხრილში 2;

ცხრილი 2: მწვავე პანკრეატიტის ეტიოლოგია

ეტიოლოგია	მძიმე მწვავე პანკრეატიტი	საშუალო სიმძიმის მწვავე პანკრეატიტი	სულ
ალკოჰოლური	7 (21,88%)	3 (9,37%)	10 (31,25%)
ბილიური	7 (21,88%)	5 (15,62%)	12 (37,5%)
ტრავმა	2 (6,25%)	-	2 (6,25%)
ქრ. პანკრეატიტის გამწვავება	-	2 (6,25%)	2 (6,25%)
იდიოპათიური	1 (3,13%)	5 (15,62%)	6 (25%)
სულ	17 (53,13%)	15 (46,87%)	32 (100%)

ცხრილში №3 მოყვანილია კლინიკური კვლევით დადგენილი ავადმყოფთა ზოგადი მდგომარეობის ძირითადი მახასიათებლები:

ცხრილი 3

	ნორმა	კვლევის შედეგები	
		საშუალო სიმძიმის	მძიმე
სხეულის t ⁰ c	36,6	37,1±0,5*	38,3±0,6*
ამილაზა ერთ.	32-64	580±123***	720±205***
საერთო ცილა გ/ლ	64-80	59,8±3,34*	56,1±2,11*
კრეატინინი მმოლ/ლ	35-97	104,0±11,4*	164,5±21,8*
ლეიკოციტები x 10 ³ /mm ³	4-9	9.1±2.6*	11.8±3.8*
შედგების დრო (წმ)	5-9	7.6±1.3 ***	7.7±1.3 (ერთ 25)***
Na mMol/l	130-150	134,6±5,8**	121,6±3,6**
K mMol/l	3,6-5,4	4.1±0.61**	3.84±0.61**
Ca mMol/l	1.17-1.29	1.08±0.04*	0.98±0.09*
სისხლის გლუკოზა	3,9-5,6	5,64±1.32**	5,64±1.32**
ALT mMol/l	0-40	26±6.5 ***	38±8.5 (ერთ 308)***
AST mMol/l	0-40	30,7±5.2 ***	36,9±4.7 (ერთ 128)***
R (სუნთქვის სიხშირე)	16-20	20-24	>30
LR4 კრიტერიუმი	0,34	0,39±0.06	0.55±0.07
პანკრეასის ზომები ექსკოპირა	თავი	27-31	35,25±6,02***
	სხეული	15-18	29,25±14,09***
	კუდი	26-29	29±8.7***

*p < 0,001; **p<0,05; ***p<0,5

სისხლის ბიოქიმიური კვლევისას გამოვლინდა ანტიოქსიდანტური ფერმენტების კატალაზას და სოდ-ის ინაქტივაცია საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით (ცხრილი 4):

ცხრილი 4

		კატალაზა	SOD
კონტროლი (ჯანმრთელი) (1)		16,6±1,0	143,6±10,2
მწვავე პანკრეატიტი	საშუალო სიმძიმის (2)	10,3±1,3 $p_{2,1}<0,05$	107,25±8,7 $p_{2,1}<0,05$
	მძიმე (3)	8,5±0,7 $p_{3,1}<0,05$	75,6±6,9 $p_{3,1}<0,05$

მწვავე პანკრეატიტით დაავადებულთა სისხლის ეპრ სპექტროსკოპიის დროს მიღებული მონაცემები მოყვანილია ცხრილში 5:

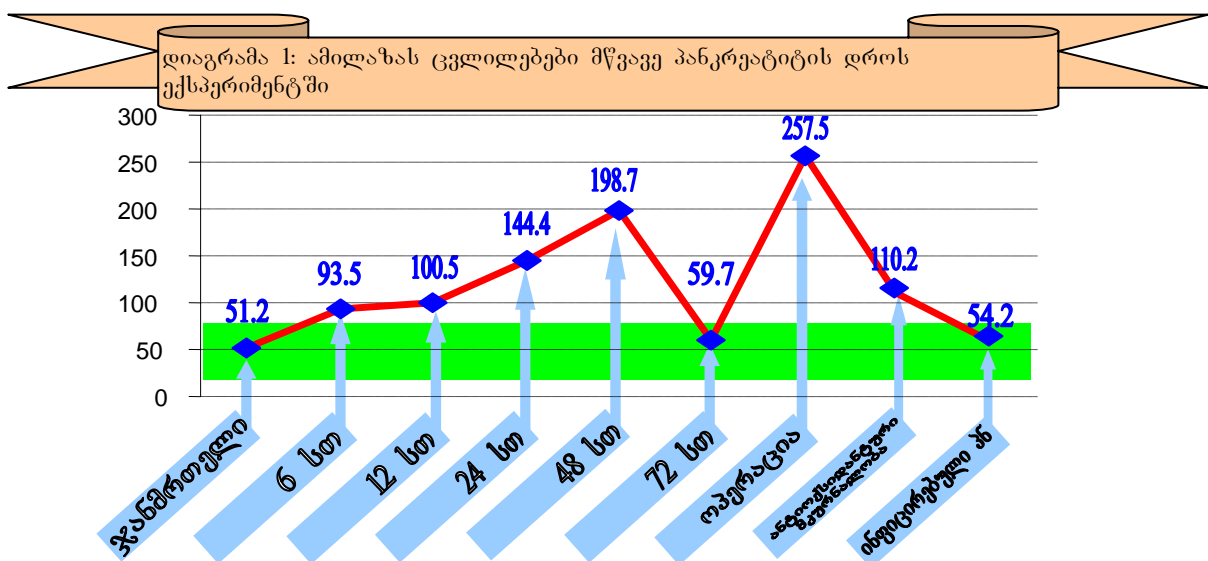
ცხრილი 5

		O ₂ ⁻	LOO ⁻	NO	HbNO	Fe ²⁺	MetHb	Mn ²⁺
კონტროლი		-	-	18.0	-	-	-	-
მწვავე პანკრეატიტი	საშუალო სიმძიმის	8.5±0.6	8.2±0.9	11.5±0.5	8.5±1.1	22.8±2.5	12.1±0.8	12.7±1.2
	მძიმე	9.2±1.4	10.8±0.6	11.2±0.3	10.5±0.9	19.8±1.4	13.3±1.4	14.7±0.8

როგორც ცხრილში მოყვანილი მონაცემებიდან ჩანს, მწვავე პანკრეატიტის დროს მომატებულია Fe²⁺ და Mn²⁺ იონების ეპრ სიგნალის ინტენსივობა საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით, ასევე გამოვლენილია თავისუფალი რადიკალების: O₂⁻ და LOO⁻ და ჰემოგლობინის პათოლოგიური ფორმების HbNO და MetHb-ის ინტენსიური ეპრ სიგნალი. დაავადების სიმძიმის მატებასთან ერთად აღნიშნული მაჩვენებლები უარესდება. თავისუფალი აზოტის ჟანგის ინტენსივობა თანაბრად შემცირებული საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით როგორც მძიმე მწვავე პანკრეატიტის, ისევე დაავადების საშუალო სიმძიმით მიმდინარეობის დროს.

ექსპერიმენტული კვლევა:

ამილაზა: ექსპერიმენტის დროს ამილაზას კონცენტრაციის ცვლილებები მოყვანილია დიაგრამაზე 1:



დიაგრამა №1-ზე მოყვანილი მონაცემებიდან ნათლად ჩანს, რომ საექსპერიმენტო ცხოველებში მწვავე პანკრეატიტის გამოწვევიდან 6 სთ-ის შემდეგ

ამილაზას კონცენტრაცია სისხლის შრატში სარწმუნოდ იმატებს საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით და აღწევს პიკს მწვავე პანკრეატიტის განვითარებიდან 48 სთ-ზე (3,84-ჯერ აღემატება საწყის დონეს). 72 სთ-სთვის ამილაზას მაჩვენებელი სარწმუნოდ მცირდება საკონტროლო მაჩვენებლის დონემდე. მწვავე პანკრეატიტის ქირურგიული მკურნალობის დროს ამილაზა საკმაოდ მაღალი რჩება 72-ე სთ-ზე და იგი 5-ჯერ აღემატება საკონტროლო მაჩვენებლის დონეს, ხოლო დაავადების ანტიოქსიდანტებით მკურნალობის ფონზე 72-ე სთ-ზე არასარწმუნოდ აჭარბებს 2,15-ჯერ საკონტროლო დონეს. ინფიცირებული მწვავე პანკრეატიტის დროს დაავადების 72-ე საათზე ამილაზას დონე სარწმუნოდ უბრუნდება საკონტროლო მაჩვენებლის დონეს.

ექსპერიმენტის დაინფიცირების დროს გამოვლენილი მაჩვენებლები მოყვანილია ცხრილში 6

ცხრილი 6:

ექსპერიმენტის ვადა	მიკრობიოლოგიური კონტროლი
კონტროლი (ჯანმრთელი)	სტერილური
მწვავე პანკრეატიტი 72 სთ	სტერილური
მწვავე პანკრეატიტი + ქირურგიული მკურნალობა	სტერილური
მწვავე პანკრეატიტი + ანტიოქსიდანტური მკურნალობა	სტერილური
ინფიცირებული პანკრეონეკროზი	E. coli

ექსპერიმენტული ცხოველების სისხლის ანტიოქსიდანტური ფერმენტების: (SOD – ერითროციტულ მასაში, კატალაზა და გლუტათიონ რედუქტაზა სისხლის პლაზმაში) აქტივობის ცვლილებების შედეგები მოყვანილია ცხრილში 7.

ცხრილი 7

სისხლის ანტიოქსიდანტური ფერმენტების სპექტრი მწვავე პანკრეატიტის დროს

	I ჯგ. (1)	II ჯგ. (2)	III ჯგ. (3)	IV ჯგ. (4)	V ჯგ. (5)	VI ჯგ. (6)	VII ჯგ. (7)	VIII ჯგ. (8)	IX ჯგ. (9)
SOD (U/ml)	1.8± 0.14	1.75± 0.11 P _{2,1} <0,005	1.15± 0.25 P _{3,1} <0,05	1.25± 0.32 P _{4,1} <0,05	0.98± 0.19 P _{5,1} <0,05	0.45± 0.15 P _{6,1} <0,5	0,42± 0.09 P _{7,1} <0,5	1,53± 0.14 P _{9,1} <0,005	0,31± 0.1 P _{8,1} <0,5
კატალაზა (U/mgp)	9.89± 1.04	2.54± 1.1 P _{2,1} <0,5	4.18± 0.84 P _{3,1} <0,01	5.18± 0.55 P _{4,1} <0,05	6.71± 1.11 P _{5,1} <0,05	12.35± 3.24 P _{6,1} <0,01	10.21± 3.45 P _{7,1} <0,01	6.95± 0.69 P _{9,1} <0,05	6.25± 1.78 P _{8,1} <0,05
გლუტათიონ-რედუქტაზა	0.87± 0.07	1.15± 0.78 P _{2,1} <0,5	1.46± 0.45 P _{3,1} <0,1	0.79± 0.04 P _{4,1} <0,01	0.97± 0.14 P _{5,1} <0,005	1.65± 0.19 P _{6,1} <0,05	0,88± 0.04 P _{7,1} <0,0005	0,95± 0.11 P _{9,1} <0,005	0,80± 0.09 P _{8,1} <0,001

როგორც №7 ცხრილში მოყვანილი მონაცემებიდან ჩანს, მწვავე პანკრეატიტის განვითარების საწყის სტადიაზე (12 სთ) ადგილი აქვს ანტიოქსიდანტური ფერმენტის SOD-ის აქტივობის სარწმუნო შემცირებას (36,4%-ით) საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით და რჩება დაბალ დონეზე მთელი ექსპერიმენტის განმავლობაში. SOD-ის აქტივობა განსაკუთრებით დაბალია ქირურგიული მკურნალობის და ინფიცირებული მწვავე პანკრეატიტის დროს (შესაბამისად 77,7% და 82,8%-ით მცირდება). ხოლო ანტიოქსიდანტური თერაპიის ფონზე მისი მაჩვენებელი სარწმუნოდ იზრდება და უახლოვდება საკონტროლო მაჩვენებლების დონეს (შემცირებულია 15%-ით).

ანტიოქსიდანტური ფერმენტის, კატალაზას (ცხრილი №7) შემცირება აღინიშნება მწვავე პანკრეატიტის განვითარების მე-6 სთ-ზე და მცირდება საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით 72,6%-ით. დაავადების განვითარების 72 სთ-თვის მისი დონე უბრუნდება ნორმის მაჩვენებელს. მწვავე პანკრეატიტის ქირურგიული მკურნალობის დროს იგი მნიშვნელოვან ცვლილებებს არ განიცდის და რჩება საკონტროლო მაჩვენებლის დონეზე. ინფიცირებული პანკრეონეკროზის და ანტიოქსიდანტური მკურნალობის ფონზე მისი მაჩვენებელი სარწმუნოდაა შემცირებული საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით 32,8% და 25,2%-ით შესაბამისად.

გლუტათიონრედუქტაზას (Gr) აქტივობის ცვლილებები მოყვანილია ცხრილში №7. დაავადების განვითარების ადრეულ ვადებზე – 12 სთ-თვის იზრდება და აღემატება საკონტროლო დონეს 67,8%-ით. 24 და 48 სთ-თვის Gr აქტივობა საკონტროლო მაჩვენებლის დონეზეა, ხოლო დაავადების განვითარების 72 სთ-თვის იგი კვლავ სარწმუნოდ იმატებს 89,6%-ით საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით. პანკრეონეკროზის ქირურგიული მკურნალობის დროს, მისი დაინფიცირების და ანტიოქსიდანტებით მკურნალობის ფონზე გლუტათიონრედუქტაზა მნიშვნელოვან ცვლილებებს არ განიცდის და რჩება საკონტროლო მაჩვენებლის დონეზე.

ეპრ სპექტროსკოპული კვლევის შედეგად მიღებული შედეგები მოცემულია ცხრილში №8 და დიაგრამებზე №№2,3,4,5;

ცხრილი 8

ეპრ სპექტროსკოპული მონაცემები მწვავე პანკრეატიტის დროს ექსპერიმენტში

	I ჯგ. (1)	II ჯგ. (2)	III ჯგ. (3)	IV ჯგ. (4)	V ჯგ. (5)	VI ჯგ. (6)	VII ჯგ. (7)	VIII ჯგ. (8)	IX ჯგ. (9)
სისხლი									
LOO*	-	3±0.7	3±0.5	5±0.2	9.8±1,3	11.5±0.7	8±0.7	8±0.6	15±0,5
NO	7±1.4	14.5±1.7	8.75±0,4	11.7±1,5	8.5±0,3	9±0.7	10±1,5	8±0.5	4±0.5
O ₂ ⁻	-	-	6.75±0.5	6.5±0.6	6.75±0.6	14.5±0.4	6±0.7	6±0.7	18±0.9
პანკრეასი									
LOO*	-	3±0.2	-	-	11±0.5	8±0.7	5±0.5	9±0.4	8±0.7
NO	50±1.7	40±1,5	26±1.7	18±0.9	37.5±1,5	25±0.9	9±0.5	40±1.3	24±1.8
ღვიძლი									
LOO*	-	11±0.6	9±0.9	11±0.9	10±0.6	11±0.3	20±0.6	5±0.5	8±0.9
NO	40	58±1.7	36±1,9	30±1,5	32±1.7	32.5±2,5	14±0.6	70±1.7	37±0.9
ვილტივი									
LOO*	-	6.5±0.5	10±0.2	12±0.6	13±0.7	8±0.5	8±0.1	6±0.9	9±0.6
NO	28±1.26	35±2.6	65±1.7	16.5±1,5	18±1.7	38±2.6	36±1.7	40±2.6	22±1.6

როგორც №8 ცხრილში და №2 დიაგრამებში მოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარეობს მწვავე პანკრეატიტის დროს სისხლის ეპრ სპექტრში დაკვირვების უკვე მე-6 სთ-ზე იზრდება პეროქსილიპიდების (LOO^{*}) ეპრ სიგნალის ინტენსივობა და აღწევს მაქსიმუმს დაკვირვების დაწყებიდან 72 სთ-ზე. დაავადების ქირურგიული და ანტიოქსიდანტური მკურნალობის შედეგად მათი შემცველობა მცირდება, ხოლო ინფიცირებული პნ-ის დროს ეს მაჩვენებელი 30,4%-ით აღემატება 72 სთ-თვის არსებული LOO^{*} ეპრ სიგნალის ინტენსივობას.

რეაქტიული უანგბადის ეპრ სიგნალის გამოჩენა იწყება დაავადების განვითარების ადრეულ სტადიაზე და მისი ინტენსივობა მნიშვნელოვნად იმატებს 72 სთ-თვის. O₂⁻-ის ეპრ სიგნალის ინტენსივობა შემცირებულია 58,7%-ით მწვავე პანკრეატიტის ქირურგიული და ანტიოქსიდანტური მკურნალობის ფონზე, ხოლო ინფიცირებული პნ-ის დროს მისი მაჩვენებელი ნახტომისებურად იმატებს.

მწვავე პანკრეატიტის დროს სისხლში თავისუფალი აზოტის უანგის შემცველობა მომატებულია საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით მხოლოდ

დაკვირვების დაწყებიდან 6 სთ-ზე, ხოლო ექსპერიმენტის სხვა ვადებზე რჩება ნორმის ფარგლებში, გარდა ინფიცირებული პნ-ისა, როდესაც იგი სარწმუნოდ დაბალია საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით.

მწვავე პანკრეატიტის დროს პანკრეასის ეპრ სპექტრში (ცხრილი №8, დიაგრამა 3) პეროქსილიპიდების ინტენსივობა იზრდება დაავადების განვითარების მე-6 სთ-ზე. 12 და 24 სთ-ზე კი ქვეითდება საკონტროლო მაჩვენებლის დონემდე, ხოლო 48 და 72 სთ-ზე მნიშვნელოვნად აღემატება საკონტროლოს. ასეთივე მნიშვნელოვანი მომატება აღინიშნება ქირურგიული და ანტიოქსიდაციური მკურნალობისა და ინფიცირებული პნ-ის შემთხვევაში, რაც იმის მაჩვენებელია, რომ ზემოხსენებული მკურნალობა ვერ ამცირებს პეროქსილიპიდების ინტენსივობის დონეს.

რაც შეეხება პანკრეასში აზოტის ოქსიდის შემცველობას, ის დაავადების დასაწყისიდანვე თანდათანობით მცირდება. ყველაზე მეტად კი მისი დონე იკლებს ქირურგიული მკურნალობის ფონზე. როგორც ჩანს, ქირურგიული ტრავმა საგრძნობ უარყოფით გავლენას ახდენს მასზე. ამისგან განსხვავებით, დადებით ეფექტს ავლენს ანტიოქსიდაციური მკურნალობა, რომლის დროსაც NO-ს შემცველობა თითქმის უახლოვდება საკონტროლო მაჩვენებლის დონეს. აღსანიშნავია, რომ NO-ს შემცველობას მნიშვნელოვნად ამცირებს პანკრეონეკროზის ინფიცირებაც.

ღვიძლის ეპრ სპექტრის შესწავლისას (ცხრილი №8, დიაგრამა 4) გამოვლინდა, რომ მწვავე პანკრეატიტის განვითარების ყველა ვადაზე ლიპოპეროქსიდების ეპრ სიგნალის ინტენსივობა მომატებულია საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით. ანტიოქსიდანტებით მკურნალობის ფონზე მისი მაჩვენებელი შემცირებულია, მაგრამ არ უბრუნდება საკონტროლოს.

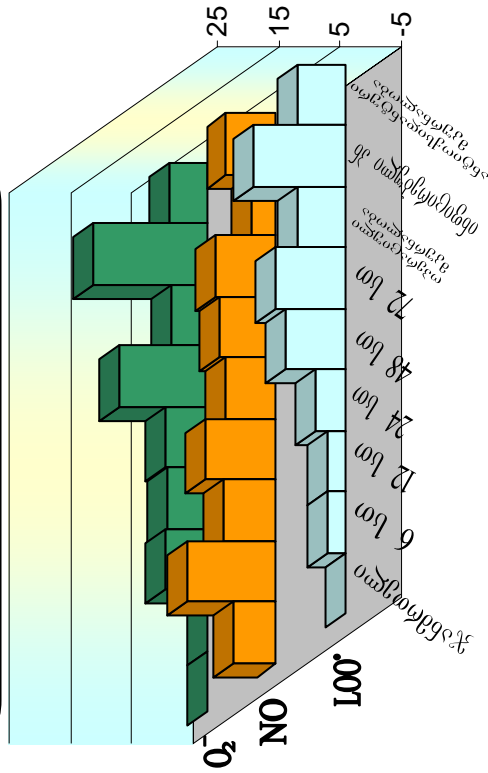
ღვიძლში აზოტის ჟანგის ეპრ სიგნალის ინტენსივობა მნიშვნელოვნად იმატებს დაავადების განვითარების მე-6 სთ-ზე (45%-ით), ხოლო დანარჩენ ვადებში, ასევე ინფიცირებული პნ-ის დროს, მისი ინტენსივობა მხოლოდ მცირედ არის შემცირებული საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით. დაავადების ქირურგიული მკურნალობის დროს NO-ს შემცველობა მცირდება 35%-მდე, ხოლო ანტიოქსიდანტების მკურნალობის ფონზე იგი იზრდება 175%-მდე საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით.

ფილტვების ეპრ სპექტრის შესწავლისას (ცხრილი №8, დიაგრამა 5) გამოვლინდა, რომ დაავადების განვითარების ყველა ვადაზე ადგილი აქვს პეროქსილიპიდების ეპრ სპექტრის ინტენსივობის მომატებას.

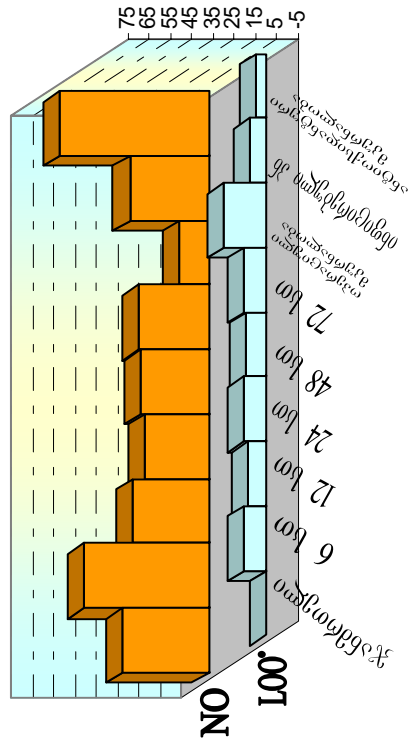
ფილტვებში თავისუფალი აზოტის ჟანგის ეპრ სპექტრში თავიდან აღინიშნება მისი ინტენსივობის ზრდის ტენდენცია და 12 სთ-თვის ის აღწევს საკონტროლო მაჩვენებლის 232%-ს. 24 და 48 სთ-ზე კი შემცირებულია 41% და 35,8%-ით. 72 სთ-თვის ის კვლავ უბრუნდება საკონტროლო მაჩვენებლის დონეს. როგორც ქირურგიული, ასევე ანტიოქსიდაციური მკურნალობის ფონზე NO-ს შემცველობა მცირედ მომტებულია საკონტროლოსთან შედარებით. საკონტროლო მაჩვენებლებთან შედარებით მცირედი დაკლება აღინიშნება ინფიცირებული პნ-ის დროს.

მწვავე პანკრეატიტის დროს მიკრომორფოლოგიური კვლევის შედეგად პანკრეასის ქსოვილში გამოვლინდა ჰემორაგია, ცხიმოვანი ნეკროზი და აცინუსის სტრუქტურის რღვევა (სურ. 1,2).

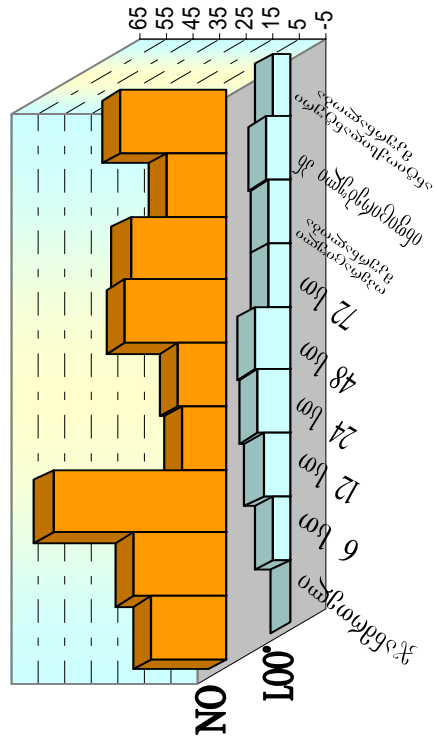
დიაგრამა 2: სიხლში LOO-ს, NO-ს და O₂-ის კერ სპექტრის ცვლილებები



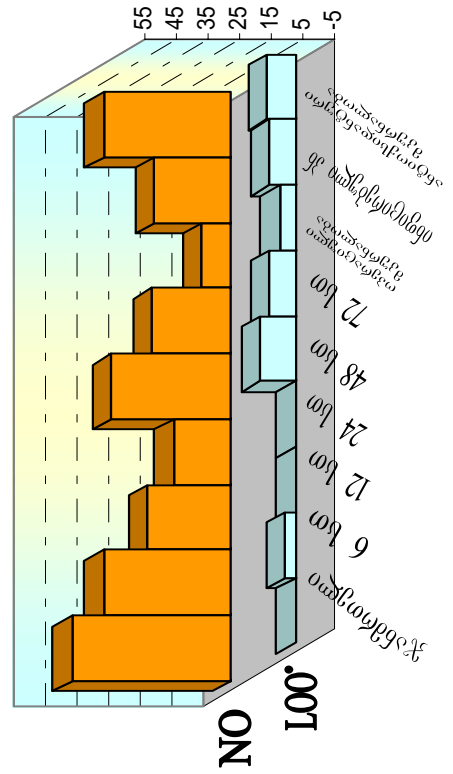
დიაგრამა 4: დეოდში LOO-ს და NO-ს კერ სპექტრის ცვლილებები

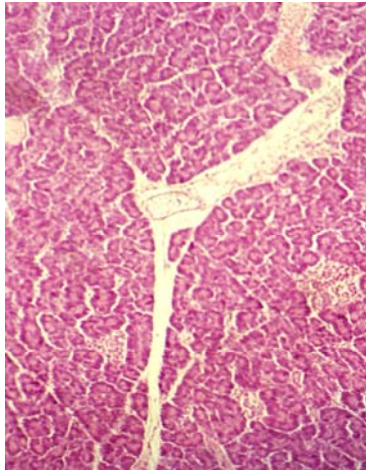


დიაგრამა 5: ფილტვში LOO-ს და NO-ს კერ სპექტრის ცვლილებები

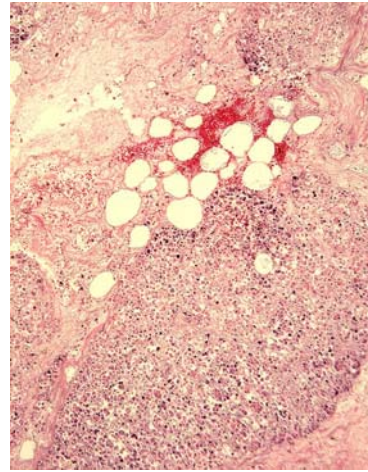


დიაგრამა 3: პანკრესში LOO-ს და NO-ს კერ სპექტრის ცვლილებები



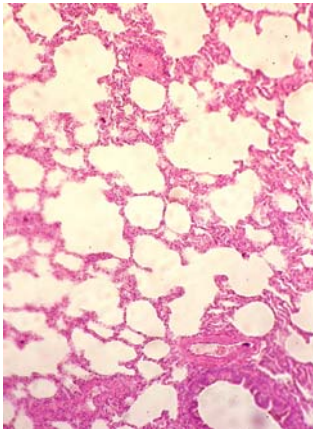


სურ. 1 ვირთაგვას პანკრეასის ძსოვილის ნიმუში. ჯანმრთელი გად. 10X40

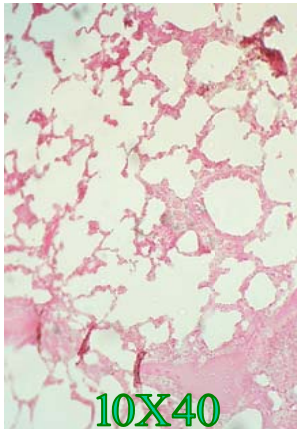


სურ. 2 ვირთაგვას პანკრეასის ძსოვილის ნიმუში. ვრვავე პანკრეატიტი გად. 10X40

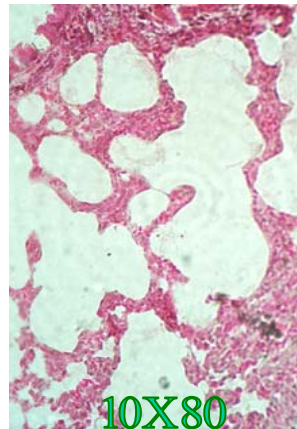
მწვავე პანკრეატიტის განვითარების 72 სთ-ზე ფილტვის ქსოვილში მნიშვნელოვანი სტრუქტურული ცვლილებებია. გამოსატულია ფილტვის ქსოვილის დესტრუქცია, ხშირ შემთხვევაში – ალვეოლების დრუების გაფართოება და გაერთიანება, ალვეოლათაშორისი ძვიდების ზომაში მომატება, ლეიკოციტური ინფილტრაცია (სურათი 3,4).



სურ. 3. ვირთაგვას ფილტვის ძსოვილის ნიმუში. ჯანმრთელი. გად. 10X40

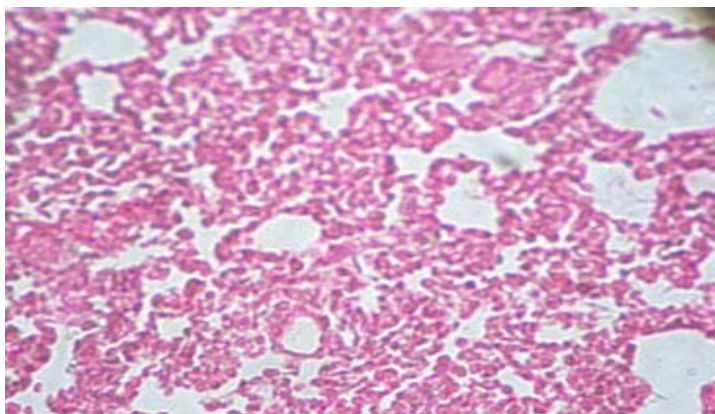


სურ. 4. ვირთაგვას ფილტვის ძსოვილის ნიმუში. ვრვავე პანკრეატიტი 10X40



10X80

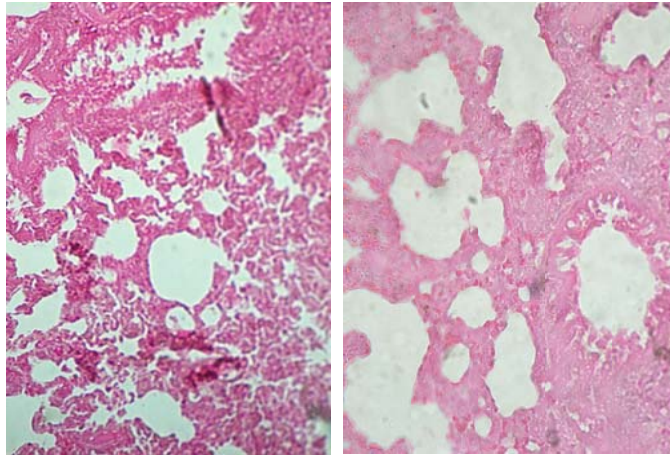
ექსპერიმენტში დეზინტოქსიკაციის მიზნით მინიინვაზიური მეთოდების გამოყენებისას ფილტვის ქსოვილში გამოვლინდა დესტრუქციის სურათი. ფილტვის ჩვეული შენება დარღვეულია. ალვეოლათაშორისი კავშირები გამოსატული არ არის. ალვეოლური ძვიდები ძალიან არის გასქელებული. ძლიერაა გამოსატული ლეიკოციტური უჯრედებით ინფილტრაცია (სურ. 5).



სურ. 5. ვირთაგვას ფილტვის ძსოვილის ნიმუში. ოპიაციური მკურნალობა. გად. 10X80

ფილტვის ქსოვილში ინფიცირებული პანკრეონეკროზის დროს 48-ე სთ-ზე გამოხატულია მძიმე დესტრუქციის სურათი. მკვეთრად აღინიშნება ლეიკოციტური რივის უჯრედებით ინფილტრაცია.

ანტიოქსიდანტური მკურნალობის ფონზე (სურ. 6) ფილტვის ქსოვილში დრმა დესტრუქციული ცვლილებები შენარჩუნებულია. ალვეოლათაშორისი ძგიდეები გასქელებულია, თუმცა ლეიკოციტური რივის უჯრედებით ინფილტრაცია ნაკლებად არის გამოხატული.



სურ. 6. შირთავას ფილტვის ქსოვილის ნიმუში. ანტიოქსიდანტური მკურნალობა. გალ. 10X80

მიღებული შედეგების განსჯა

ლიტერატურული წყაროებიდან ცნობილია, რომ მწვავე პანკრეატიტის დროს ადგილი აქვს სისტემური ანთებითი რეაქციის სინდრომის (SIRS) განვითარებას და ციტოკინემიას. ჩვენი კლინიკურ-ექსპერიმენტული კვლევიდან გამოვლინდა პროოქსიდაციული სისტემის მომატებული აქტივობა და აზოტის ჟანგის ეპრ სიგნალის ინტენსივობის დაქვეითება საკონტროლო მაჩვენებელთან შედარებით. აღნიშნული ფაქტორები შესაძლოა განაპირობებენ სისხლძარღვთა განვლადობის მომატებას (Hartwig et al. 2001). კვლევის დროს პაციენტთა უმრავლესობაში დადგენილი ჰიპოპროტეინემია და ჰიპოკალციემია, საფიქრებელია, განპირობებული უნდა იყოს ამ სუბსტრატების ექსტრაცელულურ სივრცეში გადასვლით. ინსტრუმენტული კვლევის (კტ, ექოსკენირება) დროს გამოვლინდა პანკრეასის ზომაში მომატება. რამდენიმე შემთხვევაში კი – პანკრეასში და პარაპანკრეასულად სითხოვანი ჩანართები.

დაავადების მძიმე ფორმის დროს აღინიშნა სხეულის სუბფებრილური ტემპერატურა და მცირედ გამოხატული ლეიკოციტოზი, რაც მწვავე პანკრეატიტისათვის დამახასიათებელი ანთების რეაქციის მიზეზით და ენდოტოქსინების ცირკულაციაში მოხვედრით უნდა იყოს გამოწვეული.

სისხლის ბიოქიმიური და ეპრ სპექტრული კვლევების შედეგად მიღებული მონაცემები მეტყველებენ ჟანგვითი სტრესის განვითარებაზე, რაც დაკავშირებულია პროოქსიდაციული სისტემის აქტივაციასთან, უჯრედული დესტრუქციის პროდუქტების, მათ შორის Mn^{2+} და Fe^{2+} იონების, და Met-Hb-ის დაგროვებასა და სისხლის ანტიოქსიდანტური ფერმენტების ინაქტივაციასთან. სისხლის ეპრ სპექტრში გამოვლენილი Mn^{2+} იონების ინტენსიური ეპრ სიგნალი მიუთითებს აგრეთვე მიტოქონდრიული SOD-ის ინაქტივაციაზე. თავის მხრივ, Mn^{2+} -ისა და Fe^{2+} -ის ცვალებადვალენტოვანი იონები თავისუფალ-რადიკალური რეაქციების ძლიერი პრომოტორები არიან. მათ მიერ წყალბადის ზეჟანგის დისმუტირების რეაქციის კატალიზირების გზით წარმოიქმნება ძლიერი პროოქსიდანტები: - ჰიდროქსილრადიკალები (Witztum, J.L et al 1994).

ზემოსხენებულის გარდა, ეპრსპექტრულ კვლევებში გამოვლენილია ნიტროზილირებული ჰემოგლობინის HbNO-ს ეპრ სიგნალი, რაც ჰიპოქსიისთვისაა დამახასიათებელი. ოქსიდაციური სტრესი და ჰიპოქსიის განვითარება კლინიკურად აისახება SIRS რეაქციის სახით და ავადობის მიმდინარეობის მაჩვენებელია.

ქირურგიული ოპერაციები (პანკრეასის აბდომინოზაცია, პანკრეატობურსოსტომია და სხვ.), რომელთაც ადრე მიმართავენ მწვავე პანკრეატიტის სამკურნალოდ, თვითონ წარმოადგენს სტრეს-ფაქტორს ორგანიზმისთვის და იწვევს მიკროელემენტების დეფიციტს და SIRS ტიპის რეაქციის განვითარებას. აღნიშნულიდან გამომდინარე, მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობაში რაციონალურად უნდა ჩაითვალოს მკურნალობის ისეთი ტაქტიკური სქემის შექმნა, რომლებიც თავიდან აგვარიდებენ პაციენტის ზოგადი მდგომარეობის დამძიმებას და გაითვალისწინებს არამარტო კლინიკური და ინსტრუმენტული კვლევების საფუძველზე მიღებულ მონაცემებს, არამედ დაავადების პათოგენეზურ რგოლის მიკრომორფოლოგიური და სუბუჯრედული დარღვევების კორექციასაც.

მწვავე პანკრეატიტის განვითარების პათოგენეზის, მისი კონსერვატიული და ქირურგიული მკურნალობის დროს სუბუჯრედული მეტაბოლიზმის ცვლილებების მოლეკულური მექანიზმების დადგენას ემსახურება ჩვენი ექსპერიმენტული კვლევა.

დადგინდა, რომ L-არგინინის ინიექციიდან 6 სთ-ის გასვლის შემდეგ ადგილი აქვს პროქსიდაციული სისტემის გააქტივებას ჩვენს მიერ შესწავლილ ყველა ორგანოში და ქსოვილში (სისხლში, პანკრეასში, ღვიძლსა და ფილტვებში), რაც გამოიხატება ლიპიდების პეროქსილრადიკალების და სუპეროქსიდის ინტენსიური ეპრ სიგნალის გამოჩენით.

აღსანიშნავია, რომ ყველა ქსოვილში, გარდა პანკრეასისა, ადგილი აქვს თავისუფალი აზოტის ჟანგის მკვეთრ მომატებას. სისხლსა და ღვიძლში იგი ვლინდება დაკვირვების დაწყებიდან 6 საათის შემდეგ, ხოლო ფილტვებში - 12 საათის შემდეგ. ეს გარემოება გამოწვეული უნდა იყოს NO-ს სინთეზის აქტივაციით სხვადასხვა NO-სინთაზების იზოფორმების მიერ (Ca დამოკიდებული კონსტიტუციური e-NOS ღვიძლსა და სისხლში და ინდუციბელური iNOS იზოფორმები ფილტვებში), რომლებიც აპროდუცირებენ აზოტის ჟანგს დიდი რაოდენობით.

ცნობილია, რომ ფიზიოლოგიურ პირობებში პანკრეასული eNOS-ს მიერ მცირე კონცენტრაციებით წარმოქმნილი თავისუფალი აზოტის ჟანგი აუმიჯობებს პანკრეასის მიკროცირკულაციას, ამცირებს თრომბოციტების ადჰეზიას და აგრეგაციას (Matthew J. 2004). სხვადასხვა ანთებითი პროცესების განვითარების დროს ადგილი აქვს ინდუციბელური iNOS აქტივაციას და დიდი რაოდენობით NO-ს წარმოქმნას (Takács T., et al. 1992). არ არის გამორიცხული, რომ ჭარბად წარმოქმნილმა NO-მ (ექსპერიმენტული კვლევის დროს მიღებულია NO-ს პიკური მომატება სისხლსა და ღვიძლში) სუპეროქსიდრადიკალთან (O_2^-) ურთიერთქმედებისას განაპირობოს პეროქსინიტრატის ($ONOO^-$) და ჰიდროქსილრადიკალის სინთეზი, ეს უკანასკნელი კი გამოიწვევს თავისუფალი აზოტის ჟანგის კონცენტრაციის შემცირებას. გარდა ამისა, NO-ს კონცენტრაციის შემცირება შესაძლოა გამოწვეული იყოს ჰიპოკალციემითაც (რომელიც მწვავე პანკრეატიტის თანმხლები გართულებაა, რაც ჩვენი კლინიკური კვლევის დროსაც დაფიქსირდა) Ca დამოკიდებული NOS-ას მიერ NO სინთეზის დეფიციტის გამო. ზემოთქმულიდან გამომდინარე, პანკრეასის ქსოვილში თავისუფალი აზოტის ჟანგის შემცირება, ეპრ სპექტროსკოპული კვლევის

დროს, ჯირკვლის ანტიოქსიდანტური დაცვის უნარიანობის შესუსტებას და მისი სისხლმომარაგების გაუარესების მაუწყებელი უნდა იყოს.

ორგანიზმში განვითარებული ოქსიდაციური სტრესი მრავალი ტრანსკრიფციის ფაქტორის და მათ შორის NF-κB აქტივაციას იწვევს. ეს უკანასკნელი კი, თავის მხრივ, მრავალი პროანთებითი გენის (ინტერლეიკინების, ქემოკინების, ადჰეზიის მოლეკულის და ფერმენტების) ექსპრესიას განაპირობებს (Barnes, P. et al.1997).

ყოველივე ზემოაღნიშნულს საბოლოოდ ორგანიზმში ძლიერი ოქსიდაციური პროცესების განვითარება მოჰყვება. რეაქციაში ჩაერთვება მემბრანის ლიპიდები, დნმ და თავისუფალი რადიკალები. ანთების მედიატორები გავრცელებულია სისხლის და ლიმფის საშუალებით, რაც არამარტო ადგილობრივად, არამედ სისტემურად უძლიერესი დაზიანებების წყარო გახდება.

აღნიშნულის ნათელი გამოხატულებაა ჩვენი ექსპერიმენტული კვლევის დროს ფილტვებში გამოვლენილი პათომორფოლოგიური ცვლილებები.

ცნობილია, რომ მწვავე პანკრეატიტის დროს ადგილი აქვს ფილტვის ქსოვილის ნეიტროფილებით ინფილტრაციას. ისინი ფილტვის მაკროფაგოტთან ერთად აპროდუცირებენ ანთების მედიატორებს, ციტოკინებს და პროოქსიდანტებს ჭარბი რაოდენობით (Closa D. et al 1999, Rocksén D et al. 2003). უკანასკნელი კი იწვევს ფილტვის სისხლძარღვთა განვლადობის მომატებას და სისხლის ფორმინი ელემენტების, პროტეინების და მიკროელემენტების ექსტრაცელულურ სივრცეში გადასვლას. ამას შედეგად მოჰყვება ფილტვების შეშუპება, რაც მიკრომორფოლოგიურად ჩვენ კვლევაში აისახა ალვეოლათაშორისი ძგიდის გასქელებით და მათი დესტრუქციით. აღნიშნული ცვლილებები უდაოდ შეამცირებს ფილტვის სასუნთქ ზედაპირს, რაც კლინიკურად გამოვლინდა რესპირატორული უკმარისობის სახით. კლინიკური კვლევისას მძიმე მწვავე პანკრეატიტის დროს გამოვლინდა ქოშინი და სისხლის ჟანგბადით გაჯერების დეფიციტი.

ექსპერიმენტის დაწყებიდან 6 სთ-ის შემდეგ ფილტვის ქსოვილის ეპრ სპექტრში ვლინდება პეროქსილიპიდების მაღალი ინტენსივობის სიგნალები, რაც ფილტვებში მიმდინარე ძლიერი ოქსიდაციური პროცესებითაა განპირობებული. როგორც ცნობილია, პოლიუჯერი ცხიმოვანი მჟავები პირველნი განიცდიან ჟანგბადის და ჰიდროქსილრადიკალების შემოტევას და ამით იწყებენ თავისუფალი რადიკალების გამოთავისუფლების პროცესს (Juurlink 1997). თვით ჟანგბადის და ჰიდროქსილრადიკალების სინთეზს ახორციელებენ გააქტივებული მაკროფაგები და ლეიკოციტები. მაშასადამე, ფილტვის ქსოვილში გამოვლენილი პეროქსილიპიდების მაღალი ინტენსივობა, განპირობებულია ანთების უჯრედების ჰიპერაქტივობით და ორგანიზმში მიმდინარე სისტემური ანთებითი რეაქციით.

ამავე დროს, ექსპერიმენტში ფილტვის ქსოვილის ეპრ-სპექტრში 24 სთ-იან ვადაზე, ასევე ინფიცირებული პანკრეონეკროზის დროს, აღინიშნება NO-ს მკვეთრი შემცირება სხვა ქსოვილებთან შედარებით. ეს კი უარყოფითად აისახება მიკროცირკულაციაზე. ამ უკანასკნელმა გამოხატულება ჰპოვა ჩვენ ექსპერიმენტში მორფოლოგიური კვლევის დროს. მწვავე პანკრეატიტის 72 სთ-ზე და ინფიცირებული პანკრეონეკროზის დროს ფილტვის მცირე კალიბრის სისხლძარღვებში გამოხატულია სლაჯფენომენი. ერთროციტები შეგროვილია აგრეგატების სახით. ბუნებრივია, იგივე ცვლილებები იქნება სხვა ორგანოებსა და ქსოვილებშიც.

Rocksén D., და თანაავტორების მიერ დადგენილია, რომ ექსპერიმენტში E ვიტამინის ინიექციები ამცირებს ARDS-ის განვითარებას, ვინაიდან ზღუდავს ნეიტროფილების მიგრაციას ფილტვის ქსოვილში. ჩვენს მიერ ნანახი იქნა, რომ ექსპერიმენტში ანტიოქსიდანტებით მკურნალობის დროს ფილტვის

ქსოვილში ლეიკოციტური რივის უჯრედებით ინფილტრაცია არ აღინიშნება. თუმცა ალვეოლათაშორისი ძგიდეები კვლავ გაფართოებულია და დესტრუქციულ ცვლილებებს განიცდის. ექსპერიმენტში როგორც ქირურგიული, ასევე ანტიოქსიდანტური მკურნალობის ფონზე თავისუფალი აზოტის ჟანგი განიცდის ნორმალიზაციას ფილტვის ქსოვილის ეპრ სპექტრში და უბრუნდება საკონტროლო მაჩვენებელს.

ყოველივე ზემოთაღნიშნული საშუალებას გვაძლევს დავასკვნათ, რომ ფილტვებში არსებული პათომორფოლოგიური ცვლილებები გამოწვეული უნდა იყოს ორგანიზმში მიმდინარე ოქსიდაციური სტრესით. ხოლო ანტიოქსიდანტური პრეპარატების „უეფექტობა“ კონსერვატიული მკურნალობის დროს ჩვენს ექსპერიმენტში – მისი მოხმარების მცირე ვადებით.

კლინიკური და ექსპერიმენტული კვლევის მონაცემებთან გამომდინარე პათომორფოფუნქციური და სუბმლეკულური მექანიზმების ცვლილებების გათვალისწინებით შეგვიძლია შევქმნათ მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობის ალგორითმი და რეკომენდაცია გავუწიოთ მკურნალობის ტაქტიკის შერჩევას:

ავადმყოფის ზოგადი მდგომარეობა, მათი სიმძიმის ხარისხის შეფასება (კლინიკური კრიტერიუმებით APACHE II, Glasgow), სისხლში ლიპიდების და სუპეროქსიდრადიკალების ეპრ სივრცის ინტენსიურობის მომატება, რომელთა მაჩვენებელი დაავადების სიმძიმის პარალელურად იცვლება, გვაძლევს საშუალებას დავადებინოთ: კვლევის დროს გამოვლენილი პროქსიდაციული პროცესების მაჩვენებელთა ნაკლებად გამოხატული მომატება, ინსტრუმენტული კვლევის დროს პანკრეასსა და პარაპანკრეასულ სივრცეში ნაკლებად გამოხატული ცვლილებები, ავადმყოფთა შედარებით დამაკმაყოფილებელი კლინიკური მონაცემები კონსერვატიული მკურნალობის კომპლექსში მძლავრი ანტიოქსიდანტური პრეპარატების გამოყენების ჩვენებაა. აღნიშნულ მაჩვენებელთა სწრაფი გაუარესება კონსერვატიული მკურნალობის პროცესში ანტიოქსიდანტური პრეპარატების გამოყენების პარალელურად მოითხოვს დეტოქსიკაციის მიზნით ნაადრევ მინიინვაზიურ-ქირურგიულ ჩარევებს, ხოლო ორგანიზმში ანთებითი პროცესის სხვა კერის არარსებობისას პროქსიდაციული პროცესების მაჩვენებელთა ნახტომისებრი მომატება და პაციენტის სიმძიმის შეფასების კრიტერიუმების (APACHE II, LR₄) უეცარი გაუარესება უნდა მიუთითებდეს მწვავე პანკრეატიტის სეპტიურ ფაზაში გადასვლაზე, რაც საჭიროებს ადექვატურ ოპერაციულ ჩარევას, რომლის მოცულობაც უკვე განისაზღვრება პანკრეასსა და პერიპანკრეასულ სივრცეში დესტრუქციული ცვლილებების მასშტაბით.

დასკვნები

1. მწვავე პანკრეატიტისათვის დაავადების დასაწყისშივე დამახასიათებელია ჟანგვითი პროცესების ინტენსიფიკაცია. ჟანგბადის და აზოტის რეაქციული ნაერთების გაძლიერებული წარმოქმნა და ორგანიზმში სისტემური ოქსიდაციური სტრესის განვითარება. სისხლში და შინაგან ორგანოებში (პანკრეასში, ღვიძლში და ფილტვებში) აღინიშნება ლიპიდების პეროქსიდების დაგროვება და ანტიოქსიდანტური სისტემის დეფიციტი; მწვავე პანკრეატიტის სიმძიმის ხარისხის მომატების შესაბამისად: მკვეთრად უარესდება ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური სისტემის აქტივობა; ძლიერდება პროქსიდაციული პროცესი; პანკრეასსა და მეორად სამიზნე ორგანოებში მატულობს დესტრუქციული ცვლილებები;
2. მინიინვაზიური ქირურგია წარმოადგენს ენდოტოქსინების მოშორების საშუალებას, რასაც მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობის სქემაში უაღრესად დიდი მნიშვნელობა ენიჭება;

3. მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობის კონსერვატიულ სქემაში ანტიოქსიდანტური პრეპარატების (ვიტამინები C და E) ჩართვისას აღინიშნება დადებითი ძვრები ფილტვის ქსოვილის მორფოლოგიური სტრუქტურის აღდგენისკენ, ეს კი მწვავე პანკრეატიტისათვის დამახასიათებელი რესპირაციული უკმარისობის პრევენციას შეუწყობს ხელს;
4. როგორც მინიინვაზიური ქირურგიული, ასევე ანტიოქსიდანტური კონსერვატიული მკურნალობის შემთხვევაში აღილი აქვს ორგანიზმში დაავადებით გამოწვეული ჟანგვითი ჰომეოსტაზის აღდგენას, მაგრამ ეს ღონისძიებები გაცილებით უკეთესად იცავს დესტრუქციული ცვლილებებისგან მეორად სამიზნე ორგანოებს, ვიდრე თვით პანკრეასს;
5. ექსპერიმენტული ინფიცირებული პანკრეონეკროზის დროს ნახტომისებრი ფორმით ირღვევა ორგანიზმის ჟანგვითი ჰომეოსტაზი;
6. ორგანიზმის რედოქს-სტატუსის მდგომარეობის ცვლილებები დინამიკაში, კლინიკური სიმძიმის შეფასების კრიტერიუმებთან ერთად გამოყენებისას, მწვავე პანკრეატიტის მკურნალობის სქემის შერჩევის საშუალებას იძლევა:

პრაქტიკული რეკომენდაციები

1. მწვავე პანკრეატიტის ფონზე განვითარებული ოქსიდაციური სტრესი საჭიროებს ანტიოქსიდანტური სისტემის გამააქტივებელი მკურნალობის ჩატარებას, ან თვით ანტიოქსიდანტებით მკურნალობას;
2. მწვავე პანკრეატიტის განვითარების ადრეულ ვადებზე მინიინვაზიური ქირურგიული მკურნალობას (ტოქსინების მოშორების მიზნით) კეთილმყოფელი გავლენა გააჩნია დაავადების გამოსავალში;
3. განკურნებაში სასურველი შედეგის მიღების მიზნით, უნდა გავითვალისწინოთ პოლიორგანული უკმარისობის სინდრომები და ვუმკურნალოთ სამიზნე ორგანოთა დისფუნქციას;
4. ერთსა და იმავე ორგანიზმში ჟანგვითი ჰომეოსტაზის ნახტომისებრი ცვლილება შესაძლებელია გამოყენებული იქნას ინფიცირებული პანკრეონეკროზის განვითარების მარკერად.

ნაშრომის ირგვლივ გამოქვეყნებული ლიტერატურა

1. ორგანიზმის ანტიოქსიდანტური და პროოქსიდანტური მდგომარეობის გამოკვლევა ელექტრონულ პარამაგნიტური რეზონანსული სპექტროსკოპიის საშუალებით მწვავე გავრცელებული პერიტონიტის დროს. (თანაავტ.: დემეტრაშვილი ზ., მაღალაშვილი რ., თოხაძე ლ., სანიკიძე თ.) თსსუ-ის სამეცნიერო შრომათა კრებული ტომი XXXVI, 2000, გვ. 129-133.
2. Окислительные процессы при лимфогенном лечении хирургического эндотоксикоза. (Соавт.: Ахметели Л.Т., Саникидзе Т.В., Папава М.Б.) Georgian Medical News, N 5(74) მაი 2001. с 7-9.
3. ჟანგვითი მეტაბოლიზმის ინტენსივობის ცვლილებები მწვავე პანკრეატიტის დროს. (თანაავტ.: ნ. ლომიძე ბ. ირემაშვილი) თსსუ-ის სამეცნიერო შრომათა კრებული ტ. XL, 163-165 2004
4. Роль окислительного стресса в патогенезе острого панкреатита. ექსპერიმენტული და კლინიკური მედიცინა №4 (29) 2006, 51-53.
5. ორგანიზმის პროოქსიდანტური სისტემის მდგომარეობა მწვავე პანკრეატიტის დროს. (თანაავტ.: ირემაშვილი ბ., შანშიაშვილი გ.) თსსუ-ის სამეცნიერო შრომათა კრებული ტომი XLI, 2005-2006, გვ. 127-129.
6. Выбор рациональной тактики лечения при панкреонекрозе. (Соавт.: Иремашвили Б., Дзнеладзе З., Харебадзе В.) თსსუ-ის სამეცნიერო შრომათა კრებული ტომი XLI, 2005-2006, გვ.165-167.

Актуальность темы. Несмотря на внедрение современных технологий и эффективных лечебных средств острый панкреатит (ОП), ввиду высоких показателей инвалидности и летальности, все еще остается актуальной проблемой (M. Balachandra et al. 2005). Поиск рациональных путей лечения является сложной и трудоемкой задачей абдоминальной хирургии.

Вокруг различных тактических вариантов лечения ОП в мировой литературе в настоящее время существует большое разнообразие мнений. Почти невозможно сравнение статистических данных вследствие постоянно меняющихся схем лечения (Тоouli J. et al, 2002; Niederau C. et al. 2006; Sekimoto M et al. 2006), многочисленных классификаций, отсутствия единого критерия оценивающего состояние больного и различные формы течения болезни. Отсутствие одинаковых критериев, является причиной неоправданных хирургических действий или воздержания от операций, что в свою очередь часто заканчивается фатальным исходом.

Исходя из вышесказанного, пути улучшения качества лечения ОП надо искать в восстановлении патоморфофункциональных изменений, происходящих в организме и подбора обоснованной этиопатогенетической тактики лечения.

Многочисленность этиологических факторов (Sekimoto M et al. 2006), недостаточно изученный сложный патогенез (Bhatia M. et al., 1995) и широкий спектр полиорганных повреждений увеличивает насущность проблемы ОП для клинического и экспериментального исследования.

На ранних стадиях развития ОП летальный исход (20-40%) обусловлен синдромом полиорганной недостаточности (СПН) (R. Pezzilli, et al. 2004). В развитии СПН важнейшую роль играет внедрение факторов токсической агрессии в периферическую циркуляцию, после чего повышается высвобождение цитокинов и воспалительных медиаторов, нарушается редокс-гомеостаз в пользу прооксидантов. В большинстве случаев СПН, совместно с цитокинами и воспалительными медиаторами, обусловлен активацией прооксидантной системы (McKay CJ et al. 1999).

Из вышесказанного следует, что для лучшего понимания механизма молекулярных и внутриклеточных нарушений, развившихся при ОП достаточно перспективным направлением является исследование ферментов, которые участвуют в окислительных процессах, их металлоактивных центров и свободных радикалов.

Цель и задачи исследования.

Целью исследования являлось установление особенностей окислительного метаболизма, разработка алгоритма антиоксидантной терапии для их коррекции при ОП и выбор тактики лечения с учетом редокс-гомеостаза организма.

Задачи исследования.

1. Исследование активности про- и антиоксидантной системы и содержание NO в крови пациентов с ОП, с учетом тяжести заболевания;
2. В эксперименте при стерильной и инфицированной формах ОП:
 - I. изучение активности про- и антиоксидантной системы и содержания NO в крови крыс;
 - II. изучение интенсивности перекисного окисления липидов (LOO[•]), содержания NO и морфологических изменений в поджелудочной железе и вторичных органах мишенях (печени и легких);
3. Оценка эффективности хирургического миниинвазивного (лапаротомия, пункция и дренирование парапанкреасной и брюшной полости с контролем УЗИ и КТ, санация брюшной полости) метода в эксперименте при лечении панкреатита (с учетом активности про- и антиоксидантной системы, содержания NO и микроморфологической картины легких и ПЖ);

4. Оценка эффективности лечения антиоксидантной терапии, применяемой в комплексном лечении панкреатита (с учетом активности про- и антиоксидантной системы, содержания NO и микроморфологической картины легких и ПЖ).

Научная новизна работы:

- Впервые при ОП в клинике и в эксперименте комплексно исследованы изменения гомеостаза окислительного метаболизма в организме с помощью Электронного Парамагнитного Резонанса (ЭПР) и спектрофотометрических методов;
- В клинике и в эксперименте в соответствии с увеличением степени тяжести заболевания:
 - ухудшается активность антиоксидантной системы организма;
 - усиливаются прооксидантные процессы;
 - в поджелудочной железе и вторичных органах мишенях усиливаются деструктивные процессы.
- При экспериментальном инфицированном панкреатите скачкообразно ухудшается окислительный гомеостаз организма:
 - почти в два раза увеличивается интенсивность прооксидантных процессов;
 - снижается активность антиоксидантной системы и концентрация NO;

Исходя из этого, такое скачкообразное изменение окислительного метаболизма может быть использовано как маркер инфицированного панкреонекроза.

- Впервые показано, что миниинвазивное хирургическое лечение не может защитить поджелудочную железу от некротических повреждений, однако способствует улучшению окислительного гомеостаза организма;
- Антиоксидантное лечение и миниинвазивная хирургия способствуют улучшению окислительного гомеостаза, однако эти мероприятия гораздо лучше защищают вторичные органы мишени от деструктивных повреждений, чем саму поджелудочную железу.
- Состояние редокс-статуса организма в динамике ОП дает возможность выбора тактики лечения.

Положения выносимые на защиту

1. Нарушение окислительного метаболизма является важнейшим патогенетическим звеном ОП, который обуславливает развитие нарушений в тканях панкреаса и вторичных органах мишенях.
2. Коррекция окислительного метаболизма является необходимым этапом лечения ОП.
3. Состояние прооксидантной системы может быть использовано как маркер, определяющий формы течения заболевания и для подбора тактики лечения ОП.
 - В экспериментальных и клинических исследованиях слабо выраженные изменения прооксидантных процессов в организме и менее выраженные ухудшения критериев, оценивающих тяжесть состояния пациентов (APACHE II, LR4) являются показанием к консервативному лечению с использованием сильных антиоксидантных препаратов.
 - Более выраженные ухудшения показателей прооксидантной системы и клинических параметров, параллельно с консервативным лечением и использованием антиоксидантных препаратов, с целью детоксикации, требуют применения ранней миниинвазивной хирургии;
 - Скачкообразные нарушения показателей прооксидантных процессов при отсутствии дополнительного очага воспаления и внезапное ухудшение критериев, оценивающих тяжесть состояния пациентов, должно указывать на переход острого панкреатита в септическую фазу, что требует оперативного

вмешательства, объем которого может быть определен деструкционными изменениями в поджелудочной железе и перипанкреасном пространстве.

Практическая значимость работы

1. Скачкообразное увеличения состояние редокс-статуса пациента может быть использовано как маркер развития инфицированного панкреонекроза.
2. Динамика состояния редокс-статуса организма при ОП дает возможность выбора тактики лечения.
3. Тактика, выбранная нами, в эксперименте значительно улучшила результаты лечения.

Апробация работы.

Основные положения диссертации были доложены:

на заседании общества хирургов им. Ак. Г. Мухадзе 10.03.2006 (протокол №29);

на расширенном заседании кафедры хирургических болезней №1 10.04.06 (протокол №22).

Публикации.

Основные главы диссертации представлены в 6 публикациях.

Объем и структура диссертации.

Объем диссертации составляет 112 печатных страниц, содержит следующие главы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, собственные исследования, выводы и практические рекомендации. Диссертация иллюстрирована 9 диаграммами, 8 фотографиями, 17 таблицами. Использовано 247 источников литературы.

Материалы и методы исследования.

Клиническое исследование:

Для клинического исследования были подобраны 32 пациента с диагнозом ОП прошедших лечение на кафедре хирургических болезней №1 лечебного факультета ТГМУ. Среди них было 20 мужчин и 12 женщин. Возраст пациентов колебался от 22 до 68 лет. В 17 случаях выявился тяжелый ОП, в 15 случаях ОП средней тяжести. Контрольная группа состояла из 10 практически здоровых добровольцев в возрасте 30-55 лет. Для классификации и оценки тяжести заболевания мы использовали предложенное J.Toouli и соавт. руководство по ведению за ОП (Working Party Report; Guidelines for the management of acute pancreatitis, J. Toouli, M. Brooke-Smith, C. Bassi, D. Carr-Locke, J. Telford, P. Freeny, C. Imrie and R. Tandon; Journal of Gastroenterology and Hepatology (2002) 17 (Suppl.) S15-S39) и 1992г в Атланте на международном конгрессе гастроэнтерологов принятую классификацию.

Для исследования было использовано:

1. Анамнез и физикальные данные;
2. Лабораторные данные – показатель амилазы крови, биохимический анализ крови, коагулограмма, электролиты.
3. Инструментальные – УЗИ, рентгенологические, компьютерная томография (КТ), ретроградная холангиопанкреатография;

Подтверждение диагноза панкреонекроза производилось с использованием КТ ткани поджелудочной железы посредством выявления участков низкой плотности, а также на основе парапанкреасного отека.

Для выявления инфицирования панкреонекроза мы использовали микробиологический анализ аспирированной накопленной в ПЖ или парапанкреасном пространстве жидкости под контролем КТ или УЗИ.

Общее состояние больных определяли с помощью критериев оценки состояния различных систем организма (MODS, APACHE II, LR4).

При исследовании антиоксидантной системы крови определяли активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД).

С целью изучения прооксидантной системы крови исследовали спинмеченные ЭПР сигналы супероксидрадикалов (O_2^-) и пероксилрадикалов (LOO^{\cdot}) посредством ЭПР спектроскопии и спин-меток DMPO и PBN (Sigma).

Содержание свободного NO в крови определяли с помощью ЭПР спектроскопии и спин-метки DETC-а натрия (Sigma).

Экспериментальное исследование.

Экспериментальное исследование проведено на 81 половозрелых лабораторных крысах – самцах, которые находились на стандартном режиме питания в стандартных условиях (вода и пища ad libidum, 12-часовой суточный цикл, температура воздуха 30-32⁰С). Животные были разделены на 9 групп:

I группа	- здоровые животные	(9 крыс);
II группа	- острый панкреатит 6 часов	(9 крыс);
III группа	- острый панкреатит 12 часов	(9 крыс);
V группа	- острый панкреатит 24 часа	(9 крыс);
IV группа	- острый панкреатит 48 часа	(9 крыс);
VI группа	- острый панкреатит 72 часа	(9 крыс);
VII группа	- острый панкреатит + хирургическое лечение	(9 крыс);
VIII группа	- острый панкреатит + антиоксидантное лечение	(9 крыс).
IX группа	- инфицированный панкреонекроз (E. coli-is 10 ⁸ микробов)	(9 крыс)

ОП вызывали двумя инъекциями 20% раствора L-аргинина (SIGMA) при комнатной температуре во внутрибрюшную полость с интервалом 30 минут (дозой 250мг/100г) (Tani S, et al.,1990).

В качестве лабораторного маркера развития ОП использовали амилазный тест.

В группе с контрольных животных два раза интраперитонеально вводили раствор NaCl (дозой 1,25 мл/100г) с интервалом 30 минут.

Амилазу крови у животных исследовали посредством набора реактивов Amylase CNP-G3 (SIGMA), на аппарате Microplate reader Multiscan (Finland) при комнатной температуре.

Сроки определения амилазы в крови приведены в таблице 1:

таблица 1

	0 ч.	6 ч.	12 ч.	24 ч.	48 ч.	72 ч.
контроль	√					
ОП 6 ч.	√	√				
ОП 12 ч.	√		√			
ОП 24 ч.	√			√		
ОП 48 ч.	√				√	
ОП 72 ч.	√			√		√
ОП + хирургическое лечение	√			√		√
ОП + антиоксидантное лечение	√			√		√
Инфицированный панкреонекроз	√			√		√

Кровь для исследования брали из хвостовой вены крыс.

Каталаза. Каталазу определяли методом Н. Aebi, модифицированным М.А Королуком (1988 г.).

Супероксиддисмутаза. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли методом Fried (1975), модифицированным Е. В. Макаренко (1988 г.).

Глутатионредуктаза (ГР). Исследовалась 3-я форма фермента (Glutathione Reductase-3), находящаяся в плазме крови. Исследования проводились посредством набора реактивов “Glutathione Reductase Assay Kit Product Code GR-SA Technical Bulletin No. MB-765” на аппарате Microplate reader Multiscan (Finland) при комнатной температуре.

Исследования методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). ЭПР исследования проводились на радиоспектрометре РЭ 1307 (Россия) при температуре жидкого азота (-196⁰С).

С целью определения содержания свободного оксида азота в крови, печени, поджелудочной железе и легких использовали спин-ловушку диэтилдитиокарбамат натрия (DETC) (SIGMA) и Fe²⁺-цитрат (Mikoyan V.D. et al. 1995). Материал для исследования забирали через 30 минут после введения спин-метки; комплексы NO-Fe²⁺-(DETC)₂ регистрировались при температуре жидкого азота.

С целью определения содержания липопероксирадикалов в крови, печени, поджелудочной железе и легких применяли спин-ловушку N-терфенил- α -бутилнитрон (PBN) (SIGMA), который вводили в/в в хвостовую вену дозой 10 мг/кг (Trudeau-Lame, Mary E., 2003). Материал для исследования забирали через 30 минут после введения спин-ловушки. Спектры ЭПР LOO \cdot определяли при температуре жидкого азота.

С целью определения содержания супероксидадикалов в крови, печени, поджелудочной железе и легких использовали спин-ловушку 5,5 диметил-1-пиролин-IV-оксид (DMPO) (SIGMA). Кровь инкубировали с DMPO (дозой 50 mM 1 мл крови) в течении 3 минут при комнатной температуре. Спектр ЭПР супероксидадикалов регистрировали при температуре жидкого азота.

Описание эксперимента.

Хирургическое лечение: Операции производились на крысах через 20 часов после инъекции L-аргинина, манипуляции проводились в стерильном операционном боксе. В качестве наркоза вводили 10% раствор нембутала (100 мг/кг), через 30 минут после подкожной инъекции животные фиксировались на операционном столе, живот обрабатывался спиртом (70%) и йодом (5% спиртовый раствор). Посредством стерильных инструментов производили поперечный разрез живота на 0,5-1 см ниже реберной дуги длиной 4-5 см. Хирургическое лечение подразумевало санацию полости живота 30 мл 0,9% раствора NaCl, подогретого до t 30-35⁰С. Раствор вливали в полость живота и высушивали с помощью стерильных марлевых салфеток.

После проведения манипуляции передняя брюшная стенка наглухо зашивалась. Стерильной шелковой ниткой №4-0 атравматической иглой восстанавливалась целостность мышцы передней брюшной стенки с помощью узлового шва. Кожа зашивалась непрерывным швом стерильной шелковой ниткой №4-0 атравматической иглой.

Острый инфицированный панкреатит. С целью индуцирования инфицированного панкреонекроза использовали следующий способ: спустя 24 часов после развития ОП путем лапаротомии, вышеописанным методом, в ткани поджелудочной железы инсулиновым шприцем вводили 1 мл раствора, содержащего 10⁸ микробов чистой культуры E. coli (Tolga Ergin et al. 2002). Рана зашивалась наглухо вышеописанным методом.

Забор материала у животных производили через 72 часа после введения L-аргинина.

Консервативное лечение: Медикаментозное лечение проводилось через 20 часов после введения L-аргинина. С целью антиоксидантной защиты использовали инъекции витаминов Е и С.

Витамин Е вводили через 20, 44 и 68 часов дозой 50 мг/кг внутримышечно.

Витамин С вводили через 20, 44 и 68 часов дозой 40 мг/кг внутримышечно.

Забор материала у животных производили через 72 часа после введения L-аргинина.

В экспериментах а) инфицирование панкреонекроза и б) микробиологический контроль сохранения стерильности в организме: в процессе эксперимента применяли оценку стерильности полости живота на основе микробиологического исследования материала. Микробиологический анализ производили через 72 часа после начала эксперимента в I, VI, VII, VIII, IX группах животных. Микробиологический ответ проверяли через 48 часов после помещения материала в питательную среду.

Морфологическое исследование. Для морфологического исследования ткани легки и поджелудочной железы животных забирали после десангвинации. Образцы размером 0,6-1 см помещали в 12% раствор формалина.

После стандартной обработки образцы окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали с помощью светового микроскопа.

Статистическая обработка. Результаты клинических и экспериментальных исследований обрабатывались посредством T-test статистического исследования, с помощью программы Statistica 6,0.

Полученные результаты.

Кровь 32 пациентов исследовали методом ЭПР спектроскопии и биохимического (антиоксидантные ферменты: SOD, каталаза) анализа. Диагноз ставили на основании клинико-лабораторных исследований. Выявили:

- тяжелый острый панкреатит - 17 случаев (53,1%);
- острый панкреатит средней тяжести - 15 случаев (46,9%);

среди них:

- стерильная форма панкреонекроза - 28 случаев (87,5%);
- инфицированная форма панкреонекроза - 4 случая (12,5%);

Были выявлены следующие сопутствующие заболевания и осложнения:

- энцефалопатия - 2 случая (6,25%);
- дыхательная недостаточность - 9 случаев (28,13%);
- олигурия 3 случая - (9,38%);
- гипокоагуляция 1 случай - (3,13%);
- печеночная недостаточность - 4 случая (12,5%);
- сердечно-сосудистая недостаточность - 2 случая (6,25%);

По этиологическому фактору выявили: в 10 случаях алкогольный, в 12 случаях – биллиарный, в 2 случаях – травматический генез и в 2 случаях - обострение хронического панкреатита. В 6 случаях этиологический фактор не выявили (идиопатический). Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2:

Этиология	Тяжелый ОП	ОП средней тяжести	Всего
алкогольный	7 (21,88%)	3 (9,37%)	10 (31,25%)
биллиарный	7 (21,88%)	5 (15,62%)	12 (37,5%)
травматический	2 (6,25%)	-	2 (6,25%)
обострение хронического панкреатита	-	2 (6,25%)	2 (6,25%)
идиопатический	1 (3,13%)	5 (15,62%)	6 (25%)
Всего	17 (53,13%)	15 (46,87%)	32 (100%)

В таблице 3 приведены основные показатели общего состояния больных при клиническом исследовании

таблица 3:

		Норма	Результаты исследования	
			ОП Средней тяжести	Тяжелый ОП
температура тела t ⁰ C		36,6	37,1±0,5*	38,3±0,6*
Амилаза (единицы)		32-64	580±123***	720±205***
Общий белок г/л		64-80	59,8±3,34*	56,1±2,11*
Креатинин ммол/л		35-97	104,0±11,4*	164,5±21,8*
Лейкоциты x 10 ³ /мм ³		4-9	9.1±2.6*	11.8±3.8*
Время свертывания (сек)		5-9	7.6±1.3 ***	7.7±1.3 (ед. 25)***
Na ммол/л		130-150	134,6±5,8**	121,6±3,6**
K ммол/л		3,6-5,4	4.1±0.61**	3.84±0.61**
Ca ммол/л		1.17-1.29	1.08±0.04*	0.98±0.09*
Глюкоза в крови		3,9-5,6	5,64±1.32**	5,64±1.32**
ALT ммол/л		0-40	26±6.5 ***	38±8.5 (ед. 308) ***
AST ммол/л		0-40	30,7±5.2 ***	36,9±4.7(ед.128)***
R (частота дыхания)		16-20	20-24	>30
LR4 критерии		0,34	0,39±0.06	0.55±0.07
УЗИ Размеры пж	головка	27-31	35,25±6,02***	
	тело	15-18	29,25±14.09***	
	хвост	26-29	29±8.7***	

*p < 0,001; **p<0,05; ***p<0,5

При биохимическом исследовании крови выявилось инактивация антиоксидантных ферментов крови каталазы и СОД по сравнению с контрольными значениями (таблица 4).

Таблица 4

		Каталаза	SOD
Контроль (здоровые) (1)		16,6±1,0	143,6±10,2
ОП	Средняя тяжесть (2)	10,3±1,3 p _{2,1} <0,05	107,25±8,7 p _{2,1} <0,05
	тяжелый (3)	8,5±0,7 p _{3,1} <0,05	75,6±6,9 p _{3,1} <0,05

Данные ЭПР спектроскопических исследований при ОП приведены в таблице 5:

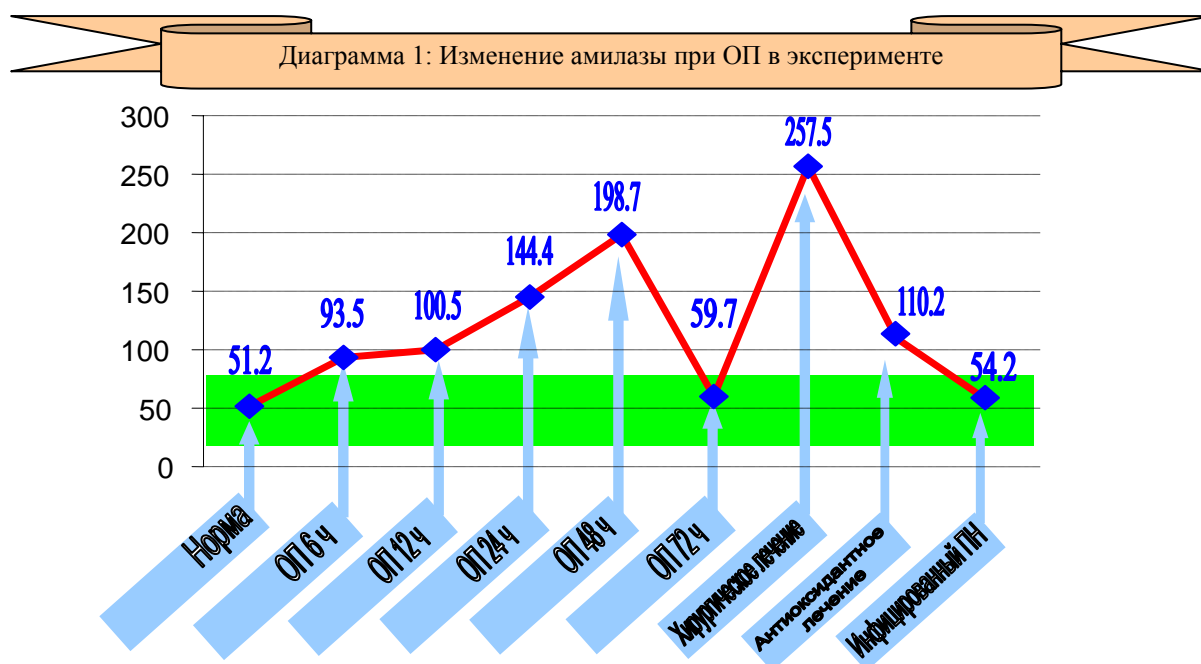
Таблица 5

		O ₂ ⁻	LOO [·]	NO	HbNO	Fe ²⁺	MetHb	Mn ²⁺
контроль		-	-	18.0	-	-	-	-
ОП	Средней тяжести	8.5±0.6	8.2±0.9	11.5±0.5	8.5±1.1	22.8±2.5	12.1±0.8	12.7±1.2
	тяжелый	9.2±1.4	10.8±0.6	11.2±0.3	10.5±0.9	19.8±1.4	13.3±1.4	14.7±0.8

Как следует из приведенных в таблице данных, при ОП увеличено содержание ионов Fe^{2+} и Mn^{2+} , выявлены интенсивные ЭПР сигналы свободных радикалов O_2^- и $LOO\cdot$ и патологических форм гемоглобина HbNO и MetHb. С усугублением тяжести болезни указанные показатели увеличиваются. Содержание свободного оксида азота одинаково уменьшено как при тяжелом панкреатите, так и при средней тяжести заболевания.

Экспериментальное исследование:

Амилаза: изменение концентрации амилазы во время эксперимента приведены на диаграмме 1:



Из данных, приведенных на диаграмме 1 следует, что у экспериментальных животных через 6 часов после введения L-аргинина концентрация амилазы в плазме крови увеличивается по сравнению с контрольным значением и достигает максимума через 48 ч (в 3,84-раз превышает начальный уровень). К 72 часам показатель амилазы уменьшается до уровня контрольного значения. При хирургическом лечении ОП к 72-часам амилаза остается на довольно высоком уровне и в 5 раз превышает уровень контрольного значения. При инфицированном ОП к 72 часам уровень амилазы возвращается к уровню контрольного значения.

Микробиологические показатели стерильности или инфицирования в экспериментальном ОП приведены в таблице 6.

Таблица 6.

Срок эксперимента	Микробиологический контроль
Контроль (здоровые)	стерильно
ОП 72 часа	стерильно
ОП+ хирургическое лечение	стерильно
ОП + антиоксидантное лечение	стерильно
Инфицированный панкреонекроз	E. coli

Изменение активности антиоксидантных ферментов (SOD – в эритроцитарной массе, каталаза и глутатионредуктаза в плазме крови) приведены в таблице 7.

Таблица 7

	I гр.	II гр..	III гр.	IV гр	V гр	VI гр	VII гр	VIII гр	IX гр
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(9)	(8)
SOD (U/ml)	1.8± 0.14	1.75± 0.11	1.15± 0.25	1.25± 0.32	0.98± 0.19	0.45± 0.15	0,42± 0.09	1,53± 0.14	0,31± 0.1
		p _{2,1} <0,005	p _{3,1} <0,05	p _{4,1} <0,05	p _{5,1} <0,05	p _{6,1} <0,5	p _{7,1} <0,5	p _{9,1} <0,005	p _{8,1} <0,5
Каталаза (mgp)	9.89± 1.04	2.54± 1.1	4.18± 0.84	5.18± 0.55	6.71± 1.11	12.35± 3.24	10.21± 3.45	6.95± 0.69	6.25± 1.78
		p _{2,1} <0,5	p _{3,1} <0,01	p _{4,1} <0,05	p _{5,1} <0,05	p _{6,1} <0,01	p _{7,1} <0,01	p _{9,1} <0,05	p _{8,1} <0,05
Глутатион редуктаза	0.87± 0.07	1.15± 0.78	1.46± 0.45	0.79± 0.04	0.97± 0.14	1.65± 0.19	0,88± 0.04	0,95± 0.11	0,80± 0.09
		p _{2,1} <0,5	p _{3,1} <0,1	p _{4,1} <0,01	p _{5,1} <0,005	p _{6,1} <0,05	p _{7,1} <0,0005	p _{9,1} <0,005	p _{8,1} <0,001

Как следует из данных приведенных в таблице №7 при ОП на начальной стадии (12 часов) отмечается снижение активности SOD (на 36,4%) по сравнению с контрольным значением и остается на том же уровне в течении всего эксперимента. Активность SOD значительно низкая при хирургическом лечении и инфицированном ОП (уменьшается на 77,7% и 82,8%, соответственно). Однако, на фоне антиоксидантной терапии ее показатель увеличивается и приближается к уровню контрольного значения (на 15% ниже).

Снижение активности антиоксидантного фермента, каталазы (таблица 7) выявилось через 6 часов после введения L-аргинина и уменьшалось на 72,6%. Через 72 ч. показатель возвращается к контрольному значению. При хирургическом лечении ОП этот показатель значительно не изменяется и остается на уровне контрольного значения. При инфицированном панкреонекрозе и на фоне антиоксидантного лечения этот показатель снижен на 32,8% и 25,2%, соответственно, по сравнению с контрольным значением.

Активность глутатионредуктазы (Gr) через 12 часов после введения L-аргинина превышает контрольное значение на 67,8%, через 24 и 48 часов активность Gr приближается к уровню контрольного значения, а к 72 часам вновь увеличивается на 89,6%. Во время хирургического лечения панкреонекроза при инфицировании и антиоксидантном лечении активность Gr значительно не изменяется оставаясь на уровне контрольного значения.

Результаты ЭПР спектроскопических исследований приведены в таблице №8 и на диаграммах №№2,3,4,5;

Таблица 8: ЭПР спектроскопические параметры при ОП в эксперименте

	I гр.	II гр	III гр.	IV гр.	V гр.	VI гр.	VII гр.	VIII гр.	IX гр
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
кровь									
LOO*	-	3±0.7	3±0.5	5±0.2	9.8±1,3	11.5±0.7	8±0.7	15±0,5	8±0.6
NO	7±1.4	14.5±1.7	8.75±0,4	11.7±1,5	8.5±0,3	9±0.7	10±1,5	4±0.5	8±0.5
O ₂ ⁻	-	-	6.75±0.5	6.5±0.6	6.75±0.6	14.5±0.4	6±0.7	18±0.9	6±0.7
панкреас									
LOO*	-	3±0.2	-	-	11±0.5	8±0.7	5±0.5	8±0.7	9±0.4
NO	50±1.7	40±1,5	26±1.7	18±0.9	37.5±1,5	25±0.9	9±0.5	24±1.86	40±1.3
печень									
LOO*	-	11±0.6	9±0.9	11±0.9	10±0.6	11±0.3	20±0.6	8±0.9	5±0.5
NO	40	58±1.7	36±1,9	30±1,5	32±1.7	32.5±2,5	14±0.6	37±0.9	70±1.7
легкие									
LOO*	-	6.5±0.5	10±0.2	12±0.6	13±0.7	8±0.5	8±0.1	9±0.6	6±0.9
NO	28±1.26	35±2.6	65±1.7	16.5±1,5	18±1.7	38±2.6	36±1.7	22±1.6	40±2.6

Как показано в таблице 8 и диаграммах №2 при ОП в спектре ЭПР крови через 6 часов после введения L-аргинина наблюдается увеличение содержания липопероксидов (LOO[·]) и достигает максимума через 72 часа. После хирургического и антиоксидантного лечения содержание LOO[·] уменьшается, а при инфицированном ОП на 30,4% превышает показатель, характерный к 72 часам. Появление ЭПР сигнала реактивного кислорода уже на ранних стадиях болезни и резкое увеличение его интенсивности к 72 часам свидетельствует об интенсификации процессов свободнорадикального окисления. Интенсивность ЭПР сигнала O₂⁻ уменьшается на 58,7% на фоне хирургического и антиоксидантного лечения ОП, а при инфицированном ОП его показатель скачкообразно возрастает.

При ОП в крови содержание свободного оксида азота увеличивается по сравнению с контрольным уровнем только через 6 часов после начала наблюдения, а после остается в пределах нормы. Исключение составляет инфицированный панкреатит (NO снижена на 43,9%).

При ОП в спектре ЭПР поджелудочной железы (таблица 8, диаграмма №3) интенсивность пероксилрадикалов возрастает к 6 часам развития болезни, через 12 и 24 ч. возвращается до уровня контрольного значения, а через 48 и 72 ч. – значительно возрастает. Такое значительное увеличение выявлено при хирургическом и антиоксидантном лечении и в случае инфицированного ОП. Эти данные указывают, что данное лечение не способно уменьшить уровень пероксилрадикалов.

Содержание оксида азота в поджелудочной железе, постепенно уменьшается с первых же часов болезни, особенно при хирургическом лечении. Как показывает опыт, операционная травма отрицательно влияет на содержание оксида азота, а антиоксидантное лечение оказывает положительный эффект. Содержание NO приближается к уровню контрольного значения. Надо отметить, что инфицирование панкреонекроза значительно уменьшает содержание NO.

В спектре ЭПР печени (таблица 8, диаграмма №4) было выявлено увеличение уровня липопероксидов по сравнению с контролем на всех сроках наблюдения. На фоне лечения антиоксидантами этот показатель уменьшается, однако превышает контрольный уровень.

В печени интенсивность ЭПР сигнала оксида азота значительно возрастает через 6 часов после введения L-аргинина (на 45%), однако на остальных сроках и при инфицированном панкреонекрозе, его интенсивность лишь незначительно уменьшается по сравнению с контрольным значением. При хирургическом лечении болезни уровень NO уменьшается на 35%, а при антиоксидантном - увеличивается до 175% по сравнению с контрольным значением.

В легких (таблица 8, диаграмма №5) содержание свободного оксида азота увеличивается к 12 часам наблюдения достигая 232% по сравнению с контрольным уровнем, через 24 и 48 часов уменьшается на 41% и 35,8% соответственно. К 72 часам наблюдения этот показатель вновь возвращается до уровня контрольного значения. Как на фоне хирургического, так и на фоне антиоксидантного лечения содержание NO лишь незначительно увеличено по сравнению с контрольным уровнем. Незначительное уменьшение наблюдается и при инфицированном панкреатите.

При ОП в результате микроморфологического исследования ткани поджелудочной железы выявлены геморрагия, жировой некроз и нарушение структуры ацинуса (рис 1,2).

Диаграмма 2: Изменение LOO, NO и O₂ в крови при ОП в эксперименте

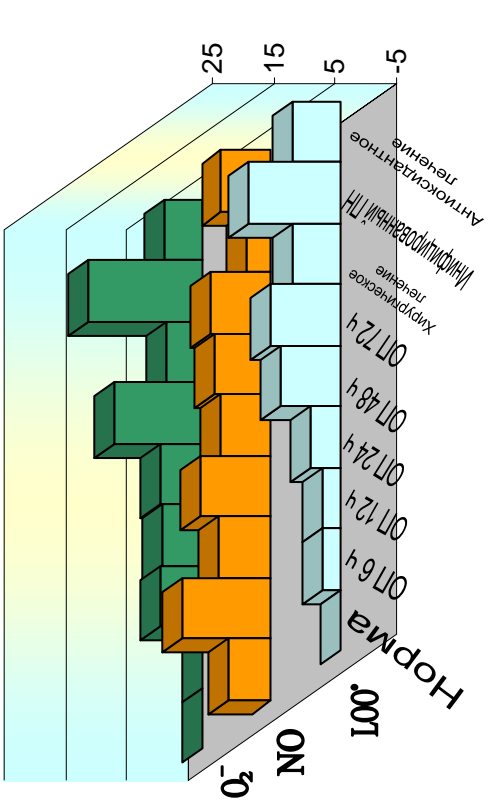


Диаграмма 3: Изменение LOO и NO в поджелудочном железе при ОП в эксперименте

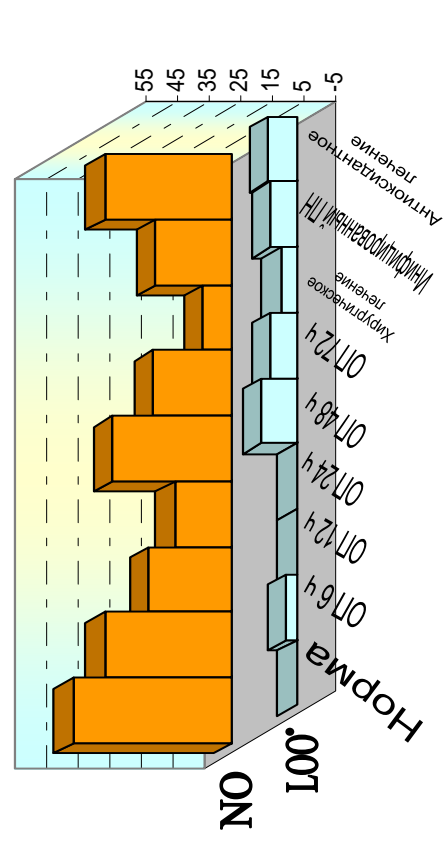


Диаграмма 4: Изменение LOO и NO в печени при ОП в эксперименте

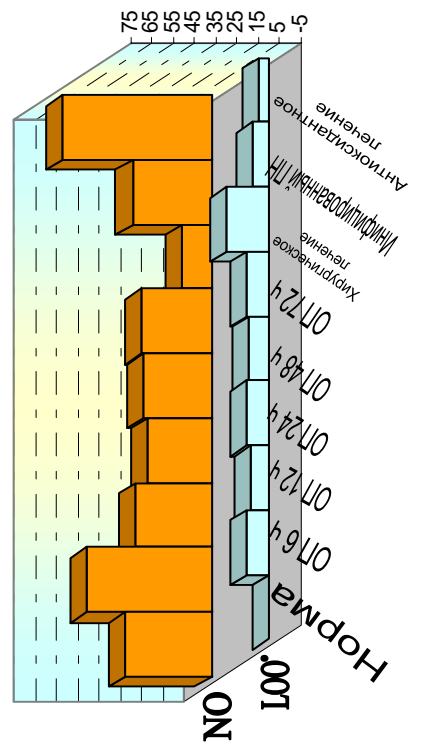
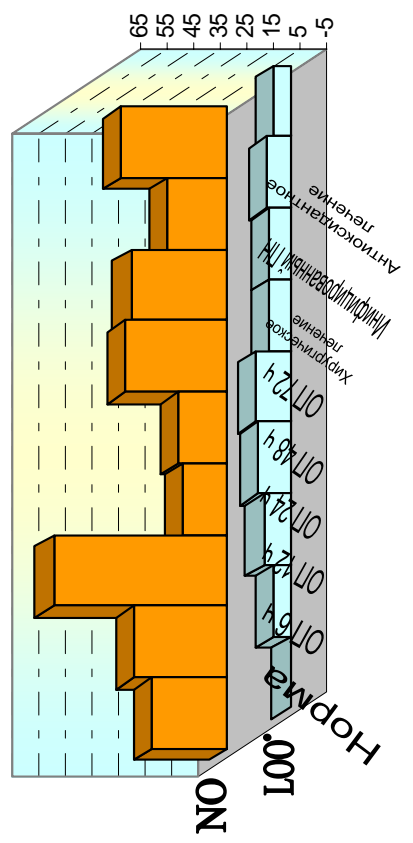


Диаграмма 5: Изменение LOO и NO в легких при ОП в эксперименте



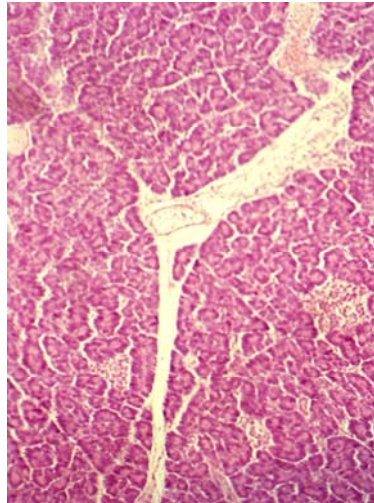


Рис. 1. Поджелудочная железа. Норма. 10X40

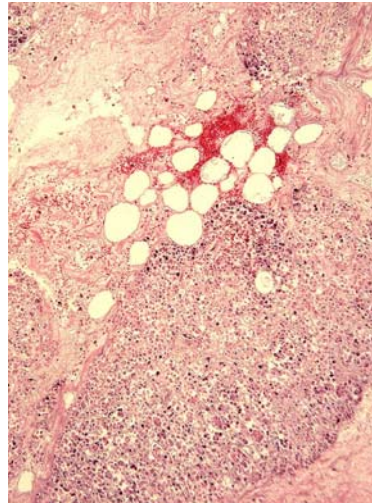


Рис. 2. Острый панкреатит. 10X40

Через 72 часа после начала развития острого панкреатита в ткани легких выявлены значительные структурные изменения. Выраженна: деструкция ткани легких, расширение и объединение полости альвеол, межальвеолярные перегородки увеличены в размерах, наблюдается инфильтрация лейкоцитами (рис. 3,4).

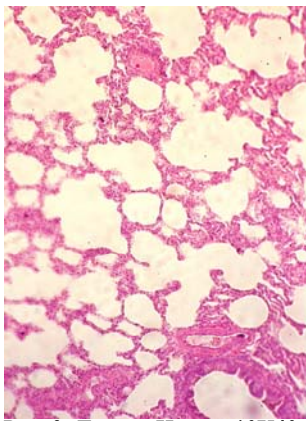


Рис. 3. Легкое, Норма. 10X40

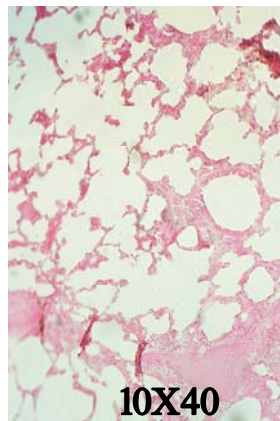
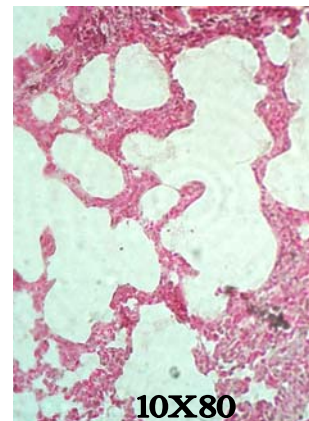


Рис. 4. Легкое. Острый панкреатит. 10X40



При хирургическом лечении (с целью детоксикации) выявлено: картина деструкции ткани легких - нормальное строение нарушено, связь между альвеолами не выражена, межальвеолярные перегородки сильно утолщены, сильно выражена инфильтрация лейкоцитарными клетками (рис.5).

При инфицированном панкреонекрозе имеет место картина тяжелой деструкции, выявлена сильно выраженная лейкоцитарная инфильтрация.

На фоне антиоксидантного лечения (рис. 6) в тканях легких сохранены тяжелые деструктивные изменения. Межальвеолярные перегородки утолщены, хотя лейкоцитарная инфильтрация меньше выражена.

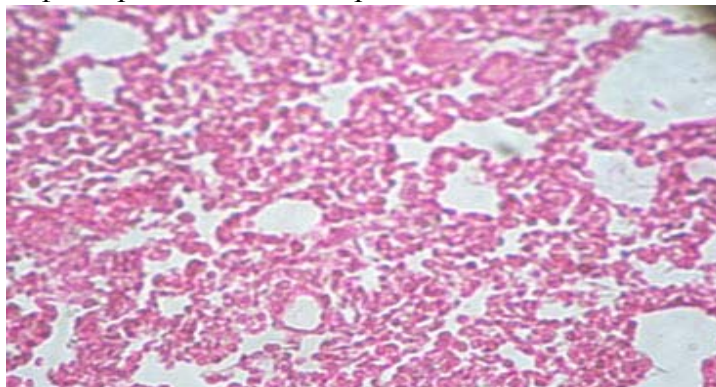


Рис.5. Легкое. Операционное Лечение. 10X80

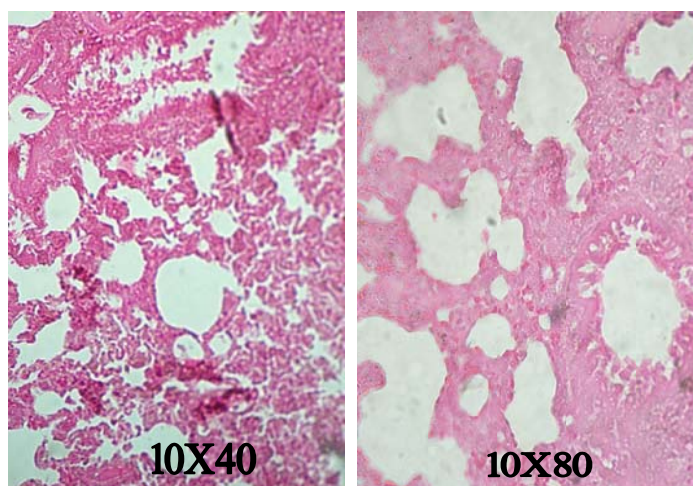


Рис. 6. Антиоксидантное лечение.

Обсуждение полученных результатов.

Из литературных данных известно, что при ОП имеет место развитие синдрома системной воспалительной реакции (SIRS) и цитокинемии. С помощью наших клинико-экспериментальных исследований выявлена увеличенная активность пероксидантной системы и снижение интенсивности сигнала ЭПР оксида азота по сравнению с контрольным значением. Эти факторы, возможно, обуславливают увеличение проницаемости кровеносных сосудов (Hartwig et al. 2001). Во время исследования у большинства пациентов выявлены гипопроотеинемия и гипокальциемия. Возможной причиной этого является переход перечисленных субстратов в межклеточное пространство. Во время инструментального исследования выявлен отек поджелудочной железы и увеличение его в размерах, в некоторых случаях накопление жидкости в парапанкреасном пространстве.

При тяжелой форме заболевания наблюдается субфебрильная температура и слабо выраженный лейкоцитоз, которые могут быть обусловлены воспалительной реакцией и выбросом эндотоксинов в кровоток, характерный для ОП.

В результате биохимического и ЭПР спектроскопического исследования крови полученные данные свидетельствующие о развитии окислительного стресса в организме, что связано с активацией прооксидантной системы и накоплением продуктов деструкции клеток, среди них ионов Mn^{2+} и Fe^{2+} и Met-Hb, инактивацией антиоксидантных ферментов крови. В спектре ЭПР крови выявлен интенсивный сигнал ионов Mn^{2+} указывает также на инактивацию митохондриальной СОД. В свою очередь ионы с переменной валентностью Mn^{2+} и Fe^{2+} являются мощными промоторами свободнорадикальных реакций. С их участием в реакции дисмутации в роле катализатора образуются мощные прооксиданты - гидроксилрадикалы (Witztum, J.L et al 1994).

В экспериментальных исследованиях выявлен также сигнал ЭПР нитрозилированного гемоглобина, характерный для гипоксии. Развитие окислительного стресса и гипоксии клинически проявляется в реакции SIRS и является показателем тяжелого состояния.

Хирургические операции (абдоминализация панкреаса, панкреатобурсостомия и др.), к которым прибегали раньше при лечении панкреатита, сами по себе, являются стресс-фактором для организма с последующим развитием дефицита микроэлементов и реакций типа SIRS. Исходя из указанного для лечения ОП рациональным можно считать создание такой схемы, которая предупреждает отяжеление общего состояния больного и предусматривает коррекцию клинических и инструментальных данных, а также микроморфологических и субклеточных нарушений.

При консервативном и хирургическом лечении ОП с целью установления молекулярных механизмов изменения метаболизма окислительных процессов мы воспроизвели экспериментальное моделирование ОП.

Было выявлено, что через 6 часов после инъекции L-аргинина отмечается активация прооксидантной системы во всех исследованных нами органах (крови, поджелудочной железе, печени и легких), что проявилось появлением интенсивных ЭПР сигналов пероксилрадикалов.

Надо отметить, что во всех тканях кроме поджелудочной железы, имеет место резкое увеличение содержания свободного оксида азота. В крови и печени это проявляется через 6 часов после начала наблюдения, а в легких – через 12 ч. Это может быть обусловлено усилением синтеза NO посредством различных изоформ NO-синтаз (Ca –зависимой конститутивной c-NOS в печени и крови и индуцибельной изоформой iNOS в легких), которые продуцируют оксид азота в большом количестве.

Известно, что в физиологических условиях низкие концентрации оксида азота, образуемые cNOS в поджелудочной железе обеспечивают улучшение микроциркуляции органа, снижают адгезию и агрегацию тромбоцитов (Matthew J. 2004). Во время развития разных воспалительных процессов активируется индуцибельная iNOS, которая способствует образованию оксида азота в большом количестве (Takács T., et al. 1992). Не исключено, также, что избыточное NO взаимодействуя с супероксидрадикалом (O_2^-) образует пероксинитрит ($ONOO^-$), характеризующийся высокой токсичностью. Кроме того, снижение концентрации NO может быть обусловлено гипокальциемией (которая является осложнением ОП) - дефицит синтеза NO посредством Ca-зависимой NOS. В пользу этого говорит уменьшение интенсивности ЭПР сигнала свободного оксида азота в ткани поджелудочной железы в эксперименте. В результате, железа становится чувствительной к окислительным процессам и нарушается ее кровоток.

Развившийся в организме окислительный стресс активирует многочисленные факторы транскрипции, в том числе NF-κB, который в свою очередь способствует экспрессии многочисленных провоспалительных генов (интерлейкинов, хемокинов, адгезивных молекул и ферментов) (Barnes, P. et al. 1997).

Все это способствует интенсификации сильного окислительного стресса в организме. В реакцию включаются мембранные липиды, ДНК и свободные радикалы. Провоспалительные медиаторы распространяются посредством крови и лимфы и способствуют развитию системного воспаления.

Хорошим доказательством этого феномена являются выявленные нами патоморфологические изменения в легких при экспериментальном ОП.

Известно, что во время ОП имеет место инфильтрация тканей легких нейтрофилами. Нейтрофилы совместно с макрофагами продуцируют избыточное количество воспалительных медиаторов, цитокинов, и прооксидантов в легких. (Closa D. et al 1999, Rocksén D et al. 2003). Последнее обстоятельство вызывает увеличение проницаемости кровеносных сосудов в легких и миграцию форменных элементов крови, белков и микроэлементов в межклеточное пространство. В результате этого отмечается отек легких, что микроморфологически в наших исследованиях проявилось утолщением и деструкцией межальвеолярных перегородок. Эти изменения уменьшают поверхность легких, что клинически проявилось респираторной недостаточностью. При тяжелом ОП проявилась одышка и дефицит насыщения крови кислородом.

Через 6 часов после начала ОП в спектре ЭПР в тканях легких проявился интенсивный сигнал ЭПР пероксидрадикалов, что обусловлено развитием патологических процессов в легких. Как известно, полинасыщенные жирные кислоты первые испытывают натиск свободнорадикальных форм кислорода (Juurlink 1997). Последние в большом количестве образуются в активированных макрофагах и

лейкоцитах. Таким образом, высокая интенсивность процессов перекисидации в тканях легких обусловлена гиперактивацией воспалительных клеток и развитием системной воспалительной реакцией в организме.

В тканях легких через 24 часа после развития заболевания, а также при инфицированном панкреонекрозе наблюдается резкое снижение содержания NO по сравнению с другими тканями. Это отрицательно влияет на микроциркуляцию, что выявилось в проведенных нами морфологических исследованиях: на 72 часа развития ОП и инфицированном панкреонекрозе в кровеносных сосудах легких малого калибра выявлен сладж-феномен. Эритроциты скопляются в виде агрегатов. Возможно, подобные изменения претерпевают и другие органы и ткани.

Rocksén D., и соавторы выявили, что в эксперименте витамин E снижает развитие ARDS, поскольку ограничивает миграцию нейтрофилов в тканях легких. Нами было выявлено, что при лечении антиоксидантными препаратами в тканях легких не наблюдается инфильтрация лейкоцитами, хотя межальвеоларные перегородки оставались утолщенными и претерпевали деструктивные изменения. Как на фоне хирургического, так и на фоне антиоксидантного лечения содержание свободного оксида азота нормализуется.

Все вышесказанное дает возможность сделать вывод, что развившиеся в легких патоморфологические изменения должны быть вызваны развитием интенсивного окислительного стресса в организме, а малая эффективность антиоксидантного лечения проведенного в нашем эксперименте обусловлено его кратковременностью.

Исходя из наших клинических и экспериментальных данных, предусматривая патоморфофункциональные и субклеточные изменения, можно создать алгоритм лечения ОП и рекомендовать тактику лечения: в экспериментальных и клинических исследованиях слабо выраженные изменения прооксидантных процессов в организме и менее выраженные ухудшения критерии, оценивающие тяжесть состояния пациентов (APACHE II, LR4), является показанием к консервативному лечению с использованием сильных антиоксидантных препаратов. Более выраженные ухудшения показателей прооксидантной системы и клинических параметров, параллельно с консервативным лечением и использованием антиоксидантных препаратов с целью детоксикации, требует применения ранней миниинвазивной хирургии. Скачкообразные нарушения показателей прооксидантных процессов при отсутствии дополнительного очага воспаления и внезапное ухудшение критериев, оценивающих тяжесть состояния пациентов, должно указывать на переход острого панкреатита в септическую фазу, что требует оперативного вмешательства, объем которого может быть определен деструктивными изменениями в поджелудочной железе и перипанкреасном пространстве.

Выводы

1. Для ОП характерна интенсификация окислительных процессов, усиление образования реактивных форм азота и кислорода и развитие окислительного стресса. В крови и внутренних органах (поджелудочной железе, печени, легких) наблюдается накопление пероксилипидов и дефицит антиоксидантной системы. В связи с увеличением тяжести течения ОП: резко ухудшается антиоксидантная активность организма; усиливаются прооксидантные процессы; в поджелудочной железе и вторичных органах мишени усиливаются деструктивные изменения.
2. Миниинвазивная хирургия является средством удаления эндотоксинов, что важно при лечении ОП.
3. При лечении ОП включение в консервативную схему лечения антиоксидантных препаратов (витаминов С и Е), в в тканях легких отмечаются морфологические

изменения, направленные на восстановление структуры ткани, что способствует превенции респираторной недостаточности, характерной для ОП.

4. Как в случае миниинвазивного, так и в случае консервативного антиоксидантного лечения имеет место восстановление нарушенного окислительного гомеостаза в организме, к тому же эти мероприятия гораздо лучше защищают от деструктивных поражений вторичные органы мишени, чем саму поджелудочную железу.
5. При экспериментальном инфицированном панкреонекрозе скачкообразно нарушается окислительный гомеостаз организма.
6. Динамика состояния редокс-статуса организма при ОП дает возможность выбора тактики лечения.

Практические рекомендации

1. Окислительный стресс, развившийся на фоне ОП, требует лечения, способствующего активации антиоксидантной системы или терапию антиоксидантными препаратами.
2. На ранних стадиях развития ОП миниинвазивное хирургическое лечение (с целью детоксикации) положительно действует на исход болезни.
3. С целью получения желаемого результата в процессе выздоровления необходимо учитывать синдром полиорганной недостаточности и лечить дисфункцию органов мишени.
4. Скачкообразное нарушение окислительного гомеостаза может быть использовано как маркер развития инфицированного панкреонекроза.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Исследование антиоксидантной и прооксидантной системы организма путем метода электронного парамагнитного резонанса при остром распространенном перитоните. (Соавт. Деметрашвили З., Магалашвили Р., Тохадзе Л., Саникидзе Т.); ТГМУ сборник научных трудов, том XXXVI, 2000, сс-129-133 (на грузинском языке).
2. Окислительные процессы при лимфогенном лечении хирургического эндотоксикоза. (Соавт.: Ахметели Л.Т., Саникидзе Т.В., Папава М.Б.) Georgian Medical News, N 5(74) май 2001. с 7-9
3. Изменение интенсивности окислительного метаболизма при остром панкреатите (Соавт.: Н. Ломидзе, Б. Иремашвили) ТГМУ сборник научных трудов, том XL, 2004, сс-163-165 (на грузинском языке).
4. Роль окислительного стресса в патогенезе острого панкреатита. Клиническая и экспериментальная медицина №4 (29) 2006, 51-53.
5. Состояние прооксидантной системы организма при остром панкреатите; (соавт.: Иремашвили Б., Шаншиашвили Г.) ТГМУ сборник научных трудов, том XLI, 2005-2006, сс-127-19 (на грузинском языке).
6. Выбор рациональной тактики лечения при панкреонекрозе. (Соавт.: Иремашвили Б., Дзнеладзе З., Харебадзе В.) ТГМУ сборник научных трудов, том XLI, 2005-2006, сс-165-167.