

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ**

Ганиев А.К., Сабирова Р.А.

**БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ
АПОПТОЗА ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ
И ПУТИ ЕГО КОРРЕКЦИИ**

Ташкент – 2023

Ганиев А.К. – доктор философии (Phd), директор академического лицея Ташкентской медицинской академии

Сабилова Р.А. доктор медицинских наук, профессор кафедры медицинской и биологической химии Ташкентской медицинской академии

Рецензенты:

Азизова Ф.Х. – доктор медицинских наук, профессор заведующая кафедрой гистологии, медицинской биологии и генетики Ташкентской медицинской академии

Юлдашев Н.М. - доктор биологических наук, профессор, заведующий Кафедрой медицинской и биологической химии Ташкентского медицинского педиатрического института

Аннотация

на монографию А.К.Ганиева и Р.А.Сабировой «**Биохимические механизмы развития апоптоза при остром панкреатите и пути его коррекции**»

Ключевые слова: острый панкреатит, поджелудочная железа, соматостатин, апоптоз, цитохром с.

Объекты исследования: экспериментальные крысы.

Цель работы: изучение биохимических механизмов развития апоптоза при остром панкреатите и совершенствование путей его коррекции. Изучить биохимические механизмы развития апоптоза при остром панкреатите и совершенствовать пути его коррекции.

Методы исследования: морфологические, биохимические, иммуногистохимические, статистические.

Полученные данные и их новизна: На модели острого экспериментального панкреатита впервые комплексно изучено состояние цитокинового статуса и факторов апоптоза и влияние на эти процессы цитохрома с. Впервые была изучена активность металлопротеолитических ферментов и их ингибиторов, а также влияние цитохрома С на развитие острого панкреатита. Доказана роль апоптоза в развитии острого панкреатита и влияние цитохрома с на этот процесс. Впервые морфологически доказано влияние цитохрома с на развитие апоптоза при остром панкреатите.

Практическое значение: расширяет знания о роли биохимических механизмов развития апоптоза при остром панкреатите и совершенствование путей его коррекции и способствует выработке патогенетически обоснованных методов лечения.

Связь монографии с тематическим планом НИР: Монография выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ТМА.

Структура и объем монографии: работа изложена на 110 страницах компьютерного текста (шрифт 14 А; 1,5 интервала), содержит 11 разделов,

заключение, выводы. Иллюстрации: 16 рисунков и 9 таблиц. Библиографический указатель содержит 184 зарубежных и отечественных источников.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ADAMs	a disintegrin and metalloproteinase
ADAMTS	a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type I motif
CAPB	карбоксипептидаза В
DBC	классификация острого панкреатита
ICU	отделение интенсивной терапии
NOD	non-obesediabetic
proCAPB	прокарбоксипептидазы В
TACE	конвертирующий энзимом
TGF- β	тромбоцитарный фактор роста
TNF- α	фактор некроза опухоли - α
ГКГ	гистосовместимость
ГР	гормон роста
КАТ	каталаза
ММР-9	металлопротеиназа - 9
ОБП	острый билиарный панкреатит
ОП	острый панкреатит

ОПЦ	отрицательная прогностическая ценность
ПЖ	поджелудочная железа
ПЖЖ	поджелудочная железа
ППЦ	положительная прогностическая ценность
РХПГ	ретроградная холангиопанкреатография
СОД	супероксиддисмутаза
ССВО	синдромом системной воспалительной реакции
ССТ	соматостатин
фВ	фактор виллебранда
ФИ	Фосфатидилинозитол
ФЛ	Фосфолипиды
ФР	факторами риска
ФС	Фосфатидилсерин
ФХ	фосфатидилхолин (лецитин)
ФЭА	фосфатидилэтаноламин (кефалин)
ЭПК	эйкозапентаеновая кислота

Введение

Острый панкреатит (ОП) продолжает оставаться серьезным заболеванием, и у пациентов с острым панкреатитом есть риск развития различных осложнений от продолжающегося воспаления поджелудочной железы. [115, 17-32]

Заболеваемость ОП в год составляет около 40 случаев на 100 000 взрослых, а тяжелые случаи составляют только около 10-15% от вышеуказанного. Смертность от ОП составляет около 30%, эти данные в тяжелых случаях изменяются и могут достигать 80% [55, 174.]. В Великобритании заболеваемость острым панкреатитом оценивается в 100-250 человек на миллион населения в год. [145, 328-333].

Острый панкреатит часто вызывается желчнокаменной болезнью или чрезмерным употреблением алкоголя. Существует ряд важных вопросов, касающихся клинических особенностей классификации, лечения и прогноза острого панкреатита, а также вариантов лечения осложнений острого панкреатита, включая псевдокисты поджелудочной железы [130, 85-96].

Главной причиной образования и развития острого билиарного панкреатита (АД) является блокирование оттока желчи в дистальной части холедоха и сначала на уровне большого дуоденального сосочка, и, как следствие, развитие рефлюкса в протоки поджелудочной железы, и, следовательно, развитие АД на фоне внутримышечной активации ферменты известны поджелудочной железы. Разумеется, что ОП возникает в результате взаимодействия местных и системных адаптивных реакций в организме человека, главным образом в таких регуляторных системах, как нервная, эндокринная и иммунная. Есть один нюанс: изменения в иммунных реакциях часто нелегко установить у человека, используя только животные модели ОП или охарактеризовать, оценив иммунный статус больных организмов. Однако экспериментальные исследования показали, что прогноз ОП напрямую зависит от степени панкреонекроза и интенсивности полиорганной недостаточности

вследствие синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) [151, 43-48; 98, 1-17]. В настоящее время несколько авторов выделили четыре основных этиологических фактора ОП. [120, 330-335]. К первичным факторам причисляются трипсин, химотрипсин, фосфолипаза А2, липаза и др. , к второстепенным – ферменты, активирующие калликреин-кининовую систему, в результате чего образуются брадикинин, гистамин, серотонин, увеличивающие сосудистую проницаемость, приводящие к нарушениям микроциркуляции, отеку, экссудации и микротромбозам, ишемии, гипоксии и ацидозу тканей. К третьему фактору относятся клетки иммунной системы, в условиях ОП, при ССВО и гипоксии продуцирующие ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-8, ФНО, вызывающие активацию тромбоцитов, простагландины, тромбоксан, лейкотрины, алкены, азотнокислую оксид, приводят к нарушениям регуляторных функций иммунитета. Агрессивные факторы 4-го уровня включают медиаторы воспалительной реакции, ферментные системы, метаболиты различной природы, образующиеся в ткани поджелудочной железы, адипоцитах, стенке кишечника и брюшной полости. Эти соединения повышают проницаемость тканево-гематологического барьера, тем самым транслоцируя кишечную флору в кровь, некротизируя ткани поджелудочной железы, облегчая поступление токсинов, вызывая поражение органов-мишеней: печени, легких, почек, сердца, головного мозга, кишечника, слизи. Оболочки желудка и кишечника. [174, 1427-30; 171, 5565; 102, 407-10]. Очевидно, что элементы, относящиеся к третьему и четвертому порядку, представляются продукцией клеток иммунной системы. следовательно при исследовании механизма происхождения ОП многочисленные эксперты склонны оценивать уровень медиаторов воспалительной реакции, таких как системы комплемента, постоянные метаболиты оксида азота, брадикинин, вещество Р (вещество Р, синонимы: вещество Р, болевое вещество Р - нейропептиды семейства тахикининов). Структура и свойства нейрокинина А.) и сходны с высокомолекулярными полиаминами. Некоторые из этих медиаторов были

обнаружены в высоких концентрациях в плазме крови пациентов с тяжелой формой ОП. Доклинические исследования показали, что многие из этих соединений могут усугублять заболевание и вызывать побочные эффекты. Напротив, некоторые цитокины могут угнетать воспалительные реакции и предотвращать усиление уничтожения поджелудочной железы. представление ключевых механизмов ОП содержит в себе не лишь идентификацию имеющийся средств массовой информации, но и прогнозирование появления иных средств массовой информации и изменений в содержании имеющийся средств массовой информации. Это не только разрешает оценить степень воспаления, однако позволяет использовать данные маркеры на прогностического прогнозирования для улучшения лечения ОП и его осложнений. [63, 759-763; 87, 42-44; 80, 37-42; 39, 197-205]

Мужчины и женщины страдают с одинаковой частотой, хотя этиология различается у разных полов: у женщин чаще встречаются камни в желчном пузыре и желчный шлам (эхогенный гравитирующий материал, состоящий из кристаллов холестерина, гранул билирубината кальция и слизисто-гликопротеинов) и алкоголя, чаще встречается у мужчин. Ятрогенные причины включают эндоскопическую ретроградную холангиопанкреатографию (РХПГ) и лекарственные средства (например, азатиоприн, фруктемид (фуросемид) и салицилаты). Гипертриглицеридемия, гиперкальциемия, гипотермия и неоплазия поджелудочной железы встречаются реже, как вирусные инфекции и наследственный острый панкреатит. У более чем 80% пациентов острый панкреатит является легким и проходит без серьезной заболеваемости, но у 20% он может быть тяжелым и осложненным из-за значительной заболеваемости и смертности [86, 239–243]. Синдром системного воспалительного ответа (ССВО), вторичный по отношению к высвобождению цитокинов из первоначального повреждения паренхимы поджелудочной железы, является основной причиной ранних осложнений в течение первых двух недель, в то время как наложенные инфекции некроза поджелудочной

железы или острые скопления жидкости являются более поздними событиями. Общая смертность достигает 10% [9, 484–492].

Биохимические тесты играют особую роль в установлении диагноза острого панкреатита, прогнозировании его тяжести и выявлении причины.

Установление диагноза

Острый панкреатит обычно сопровождается сильной постоянной болью в верхней части живота, которая может иррадиировать в спину и сопровождаться тошнотой и рвотой. Поскольку атипичные проявления являются частыми и существует широкий дифференциальный диагноз, требуются подтверждающие тесты для подтверждения диагноза острого панкреатита. Три фермента, полученные из ацинарных клеток поджелудочной железы - амилаза, липаза и профермент трипсиноген - были протестированы в качестве биохимических маркеров острого панкреатита; сывороточная амилаза является наиболее часто используемой из них в клинической практике.

Амилаза

Острый панкреатит может быть диагностирован, ежели уровень активности амилазы в сыворотке крови по крайней мере в три раза превосходит максимальный предел нормы. В первые 12 часов спустя появления симптомов активность резко увеличивается и возвращается к норме в течение 3-5 дней. Активность сывороточной амилазы может быть нормальной в 19–32% случаев на момент госпитализации в результате отсроченного проявления или недостаточности экзокринной функции поджелудочной железы, например, вследствие хронического злоупотребления алкоголем [163, 1251-1276; 42, 614–620; 162, 865–869]. Гипертриглицеридемия конкурирует с анализом амилазы и может давать ложно низкие результаты, хотя это является переменной величиной и может быть модулировано с использованием липид-очищающих агентов. И наоборот, активность амилазы в сыворотке крови может быть повышена, если скорость очистки почек снижена из-за других внутрибрюшинных воспалительных состояний и

патологий слюнных желез, почечной недостаточности или гиперемии гигантской амилазы (когда амилаза связывается с иммуноглобулинами или полисахаридами с образованием комплексов с большой молекулярной массой). [163, 1251-1276; 94, 1309–1318; 96, 143-148].

В качестве диагностического теста при остром панкреатите чувствительность и специфичность амилазы зависит от выбранного порога. Когда уровень блокирования повышается до 1000 МЕ/л (более чем в три раза превышает верхний предел нормы), специфичность амилазы близка к 95%, но некоторые исследования имеют чувствительность 61%.

Липаза

По сравнению с сывороточной амилазой активность сывороточной липазы остается увеличенной в течение более длительного периода (до 8-14 дней), обеспечивая более высокую чувствительность у пациентов с отсроченными симптомами. Активность панкреатической липазы более чем в четырежды выше, нежели амилазы, следовательно хроническая недостаточность поджелудочной железы в меньшей степени воздействует на нее [96, 143-148; 166, 746–756]. В недавних британских руководствах по лечению состояния панкреатита: «Там, где есть липаза, она предпочтительна для диагностики острого панкреатита» [119, 1275-1280; 10, 426–436.]. Липаза не ограничивается поджелудочной железой, и активность сыворотки также может быть повышена при других внутрибрюшинных патологиях или почечной недостаточности. Гипертриглицеридемия не мешает лабораторным измерениям, но такие препараты, как фруктемид, могут повышать активность сыворотки. Диагностическая точность липазы, по-видимому, выше, нежели у амилазы. При предельной активности 600 МЕ/л в большинстве изучений сообщалось о специфичности больше 95% и чувствительности в диапазоне от 55% до 100% [177, 502-507; 94, 1309–1318; 127, 1130–1134; 26, 116-123].

Трипсиноген

Проэнзим трипсиноген расщепляется дуоденальной энтерокиназой (или самим трипсином как частью петли положительной обратной связи) с образованием активной протеазы трипсина 24 кДа и активированного трипсиногеном пептида (ТАР). Трипсиноген присутствует в двух основных гомологичных ферментах: трипсиноген-1 (катионный) и трипсиноген-2 (анионный), последний из которых имеет гораздо более высокую концентрацию в сыворотке крови при остром панкреатите. [9, 484–492; 50, 2103–2107; 117, 1-10]. В семьях с наследственным панкреатитом были описаны мутации в катионном гене трипсиногена (PRSS-1) на длинном плече хромосомы 7 (7q35); большинство из них - мутации «усиления функции», которые, вероятно, мешают аутолизу трипсина или вызывают его преждевременную активацию [184, 1327-1338; 176, 141–145.]. Высокие концентрации кальция в сыворотке защищают трипсин от аутолиза и могут также предрасполагать некоторых пациентов к панкреатиту [181, 1-21; 175, 1710–1717].

При остром панкреатите степени трипсиногена-2 в сыворотке и моче увеличиваются до высоких степеней в течение нескольких часов и обычно снижаются в течение трех дней. При панкреатите, вызванном ERCP, концентрация трипсиногена-2 в сыворотке может возрасти в течение часа после инсульта [17, 147-148; 126, 690–695.]. В проспективном исследовании 500 пациентов подряд с острой болью в животе, поступающей в два отделения неотложной помощи в Хельсинки, тест на уровень трипсиногена-2 в моче был положительным у 50 из 53 пациентов с окончательным диагнозом острого панкреатита (чувствительность 94%, специфичность 95 %), в том числе все семь пациентов с тяжелым острым панкреатитом [116, 424-30; 40, 1788–1793]. Чувствительность и специфичность (уровень обнаружения 50 мкг/л) теста на содержание трипсиногена-2 в моче были выше, чем у сывороточной амилазы (300Е/л, 85% и 91% соответственно) и уамилазы (2000е/л, 83% и 88% соответственно). Отрицательная прогностическая ценность (NPV)

трипсиногена в моче составляет 99%, что позволяет с высокой степенью достоверности исключать диагноз острого панкреатита. В более недавнем исследовании 237 последовательных пациентов с болями в животе, из которых у 29 был острый панкреатит (шесть тяжелых), чувствительность и специфичность теста на уровень трипсиногена-2 в моче при поступлении составили 93% (27/29) и 92% (192/208) и сывороточной липазы 79% и 88% соответственно. Трипсиноген-2 в моче снова имел NPV 99% и был лучшим средством исключения острого панкреатита [116, 424-30; 127, 1130–1134.].

Было исследовано несколько отдельных лабораторных маркеров для прогнозирования тяжести острого панкреатита, но многообещающие первоначальные результаты не всегда были подтверждены в более поздних исследованиях. Например, когортное исследование 128 пациентов с острым панкреатитом показало, что объем упакованных клеток (PCV) выше 44% через 24 часа после поступления имел NPV 96% и чувствительность 94% для выявления недостаточности органов [49, 2081–2085.]. Однако, в логистическом регрессионном анализе 316 пациентов с острым панкреатитом, Lankisch et al. подтвердили адекватное значение ОПЦ (отрицательная прогностическая ценность) ППЦ (положительная прогностическая ценность) выше 44% при поступлении (85%), но чувствительность и специфичность были только 56% и 62%, соответственно [7, 367–372.].

Сывороточная амилаза и липаза, стандартные тесты для диагностики острого панкреатита, являются плохими предикторами тяжести. Новые маркеры для раннего прогнозирования остроты острого панкреатита включают профермент трипсиногена-2 поджелудочной железы и его субъединицу ТАП, а также маркеры раннего воспалительного ответа, такие как сывороточный IL6, прокальцитонин, полиморфно-ядерная эластаза и амилоид сыворотки А [7, 367–372.]. Более установленный маркер С. Было показано, что реактивный белок является точным предиктором тяжести (чувствительность и

специфичность выше 80%) через 48 часов после появления симптомов, если используется пороговый уровень 150 мг / л [78, 368-369; 7, 367–372.].

Интерлейкин 6

Провоспалительный цитокин ИЛ6 является одним из основных индукторов синтеза С-реактивного белка в печени и достигает пика раньше, чем С-реактивный белок. В одном центре итальянской исследования 38 пациентов с острым панкреатитом (15 с тяжелым заболеванием), ИЛ - 6, ИЛ - 8, & beta ; 2 - микроглобулина, а также значения реактивного белка С были сравнены при поступлении и затем ежедневно в течение пяти дней. Через 24 часа после поступления чувствительность ИЛ-6 для выявления тяжелого острого панкреатита составила 100%, а специфичность - 86% при пороговой концентрации 2,7 нг/л. [113, 5881-5886; 50, 2341–2348.]. Те же исследователи позже изучили 80 пациентов с острой болью в животе, из которых 40 имели острый панкреатит (15 тяжелых), используя липазу для диагностики и ИЛ6 в качестве прогностического маркера острого панкреатита. При использовании другого порогового значения 3,7 мкг/ л чувствительность ИЛ6 снова составила 100%, а специфичность - 83% для выявления тяжелого острого панкреатита [132, 616-624; 50, 2341–2348]. У 50 пациентов с острым панкреатитом (18 тяжелых), тайваньская группа сообщила, что NPV составляет 93% для ИЛ6 в день поступления. Однако сывороточные концентрации ИЛ6 быстро снижаются, и его применение в клинической практике также было ограничено сложностью анализа [92, 213–218.].

Прокальцитонин

Прокальцитонин, пропептид из 116 аминокислот кальцитонина, является реагентом острой фазы, который широко исследовался в качестве раннего маркера тяжести SIRS и сепсиса. Kylänprää-Bäck [160, 913-921; 71, 145] и соавт. [127, 222–227.] использовали полуколичественный анализ полоски сыворотки у 162 пациентов с острым панкреатитом (38 тяжелых). Через 24 часа после поступления в исследование было выявлено 97% NPV для выявления

пациентов, у которых впоследствии развилась органная недостаточность (отсекали 0,5 пг / л), с чувствительностью 92% и специфичностью 84%. В словацком исследовании 101 пациента с острым панкреатитом сообщалось, что NPV составляет 83% по степени тяжести, когда прокальцитонин измеряется в течение 12 часов после поступления [68, 50]. Ожидаются результаты дальнейших проспективных исследований с использованием этого простого и доступного метода.

Полиморфноядерная эластаза

Активированные полиморфноядерные лейкоциты, первая линия защитных клеток после повреждения ткани, высвобождают фермент, который разрушает внеклеточный матрикс - полиморфноядерную эластазу. В исследовании 182 пациентов с острым панкреатитом (28 тяжелых) активность полиморфноядерной эластазы в сыворотке крови спустя сутки после введения дифференцировалась между легким и тяжелым течением, с NPV 98% и чувствительностью 93%, используя предельное значение 300 мкг / л. [146, 11-12; 27, 1230–1234.]. Однако более поздние исследования японских и швейцарских групп дали противоречивые результаты [36, 1274–1283; 152, 612–619.].

Сывороточный амилоид А

Амилоид сыворотки А, семейство аполипопротеинов, синтезируемых в печени в ответ на травму и воспаление ткани, был исследован в качестве прогностического маркера в многоцентровом европейском исследовании 172 пациентов с острым панкреатитом (35 тяжелых) [155, 421-436; 138, 163–171.]. При использовании иммуноферментного анализа в плазме крови при пороговой концентрации 418 мг/л сообщенный NPV сывороточного амилоида А составлял 89% при поступлении с чувствительностью 67% при прогнозировании тяжелого течения. Однако результаты исследования, проведенного в одном центре Германии, с использованием другого иммуноанализа в популяции, которая также включала здоровых людей и пациентов с хроническим

панкреатитом и злокачественным новообразованием, не подтвердили эти результаты [56, 147-156; 70, 736–742.].

Трипсиноген-2 и трипсиноген-активированный белок

Для определения панкреатического профермента трипсиногена-2 и его субъединицы ТАР был разработан простой метод измерения уровня мочи с помощью иммунохроматографии. Как описано ранее, было показано, что мочевой трипсиноген-2 является высоко диагностирующим острым панкреатитом при предельном значении 50 мкг/л [156, 1979-1993; 127, 1130–1134]. В попытке улучшить специфичность, та же группа исследовали 150 пациентов с использованием последовательных высоких предел обнаружения 2 мг/л. Специфичность трипсиногена-2 осталась неизменной на 87%, но чувствительность упала до 62%, при этом пропущена примерно треть тяжелых случаев острого панкреатита [50, 2103–2107.]. В целом, трипсиноген-2 представляется более полезным в качестве диагностического маркера острого панкреатита, чем в качестве предиктора тяжести [157, 1034-1043; 67, 17–37].

В проспективном европейском многоцентровом исследовании иммуноанализ ТАР в моче был ранним предиктором у 176 пациентов с острым панкреатитом [128, 222–227], (20%) из которых имели тяжелое заболевание [43, 818–829] Через 24 часа после поступления NPV концентрации ТАП в моче, превышающей 35 нмоль / л, был лишь незначительно лучше, чем уровень реактивного белка сыворотки $C > 150$ мг / л при прогнозировании тяжелого течения (89% против 84%); оба были сходны с оценкой АРАСНЕ II (88%). Чувствительность ТАР в моче составила 68% по сравнению с 63% для АРАСНЕ II и 47% для С-реактивного белка. В финско-британском исследовании 190 пациентов с острым панкреатитом, проявляющимся в течение 24 часов после появления симптомов и исключая преходящие повреждения органов в анализе для прогнозирования тяжелого острого панкреатита, сообщалось о сходных характеристических кривых оператора приемника для ТАП в моче, сывороточного реактивного белка С и

клинический АРАСНЕ II балл при поступлении [122, 1027–1033]. Через 24 часа ТАР в моче был более точным (площадь под характеристической кривой оператора приемника (AUC) = 0,81 (доверительный интервал 95%, от 0,72 до 0,90)), чем реактивный белок С (AUC = 0,66 (от 0,54 до 0,78)). Комбинация ТАР в моче (среза 25 нмоль / л) и реактивного белка сыворотки С (среза 100 мг / л) имела самую высокую специфичность (95%) для выявления тяжелого острого панкреатита через 24 часа после поступления, но чувствительность этой комбинация составила всего 35%.

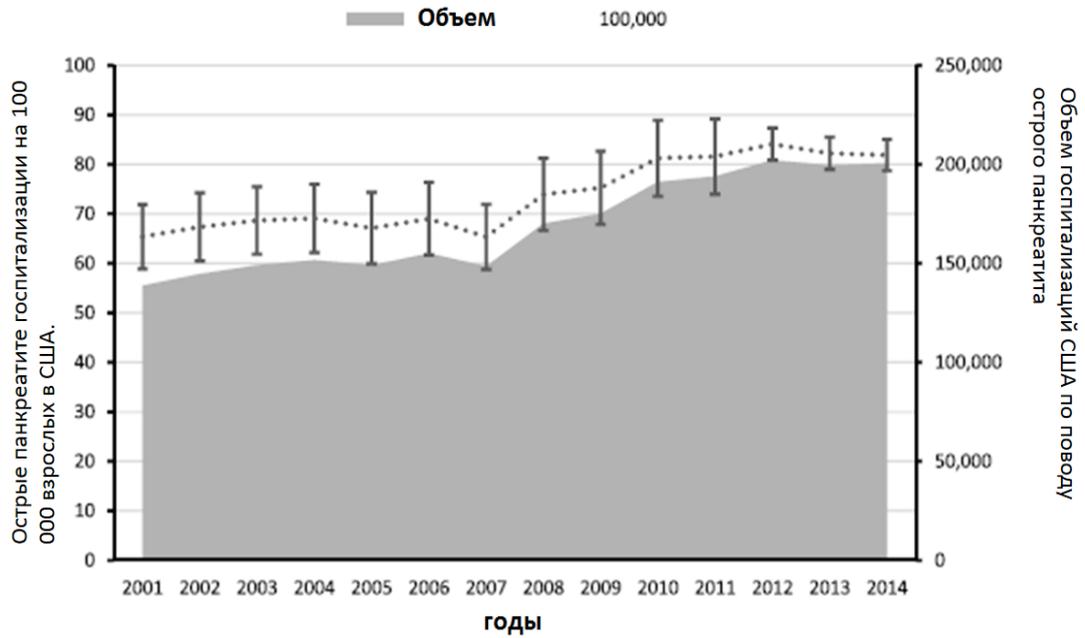
Карбоксипептидаза В

Карбоксипептидаза В (САРВ) представляет собой экзопротеазу, синтезируемую ацинарными клетками в виде неактивного проэнзима прокарбоксипептидазы В (proСАРВ). САРВ из поджелудочной железы может существовать в трех различных молекулярных и иммунореактивных формах: профермент, активный фермент и пептид активации. В исследовании 85 пациентов с острым панкреатитом (классифицированным как отечный или некротический) и 53 пациентов с острой болью в животе непанкреатического происхождения измерение уровней пептида активации при поступлении коррелировало с точностью 92% с последующим развитием некроз поджелудочной железы. Измерение профермента было полезно для диагностики острого панкреатита (точность = 99%), но уровни не коррелировали с более поздним развитием некроза поджелудочной железы (точность = 56%) [158, 63-68; 141, 229–235.]. В сравнительном исследовании измерения САРВ в сыворотке и ТАР в моче у 52 пациентов с острым панкреатитом оба были превосходными прогностическими маркерами, но в течение первого дня приема ТАР в моче был превосходящим [79, 167–187].

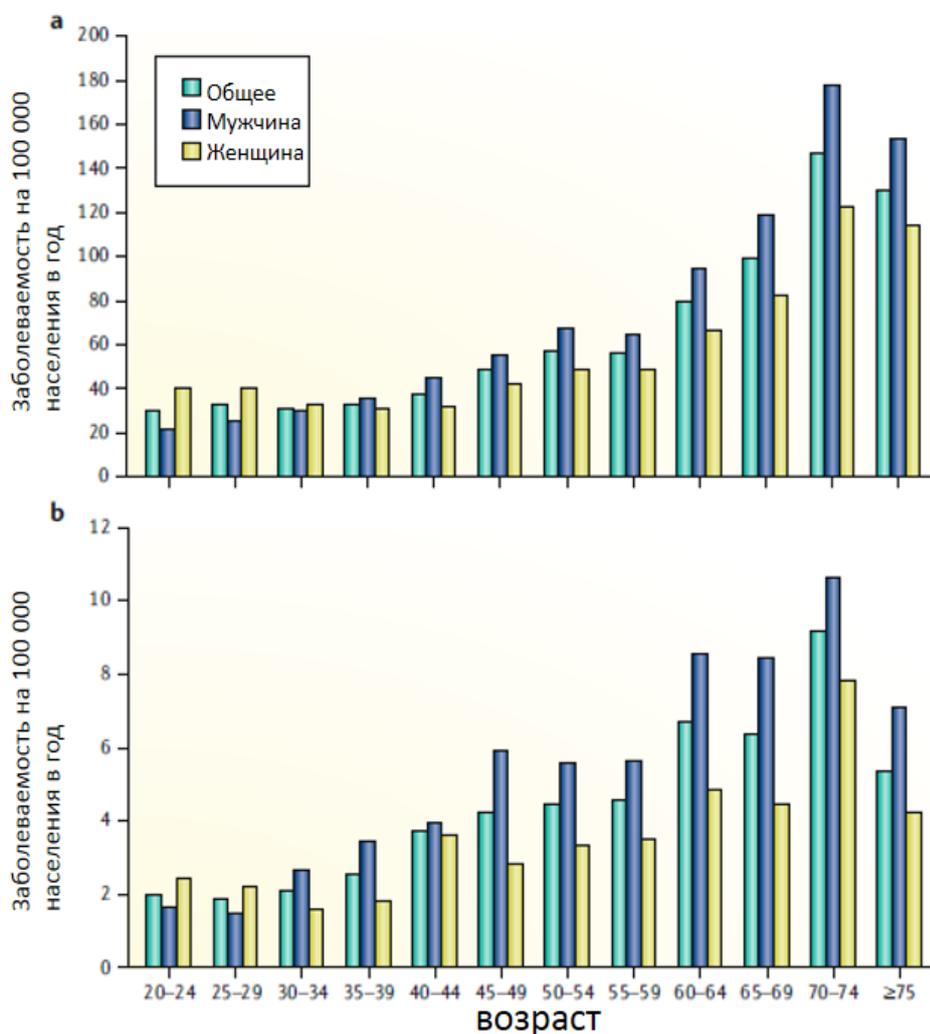
РОЛЬ АПОПТОЗА В РАЗВИТИИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА

В последнее время наблюдается существенное увеличение распространенности хронического и острого панкреатита, чем обуславливается актуальность изучения механизмов течения, диагностики и лечения указанной

патологии. По статистике американских учёных [131, 479-496; 25, 548-554] среди больных, страдающих заболеваниями желудочно-кишечного тракта, в больших случаях были госпитализированы пациенты, болеющие острым панкреатитом. Данная диаграмма доказывает выше указанное:



Распространённость острого и хронического панкреатита в больших случаях зависят от возраста и пола пациента [20, 5-83; 149, 540–544], следующие диаграммы утверждают эти рассуждения:



Заболеваемость панкреатитом среди населения в целом. а)

Заболеваемость от острого панкреатита стратифицирована по возрасту и

полу. б) Заболеваемость хроническим панкреатитом стратифицирована

возраст и пол.

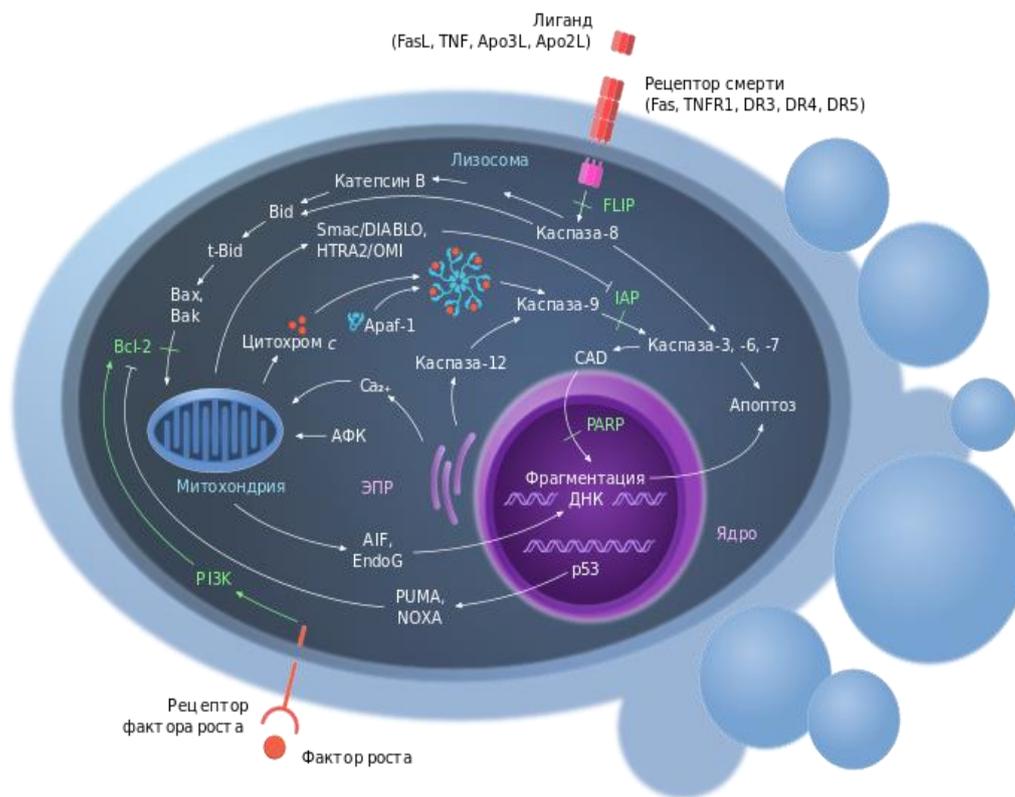
В борьбе против острым и хроническим панкреатитом исследования сосредоточены на роли апоптоза клеток поджелудочной железы и участия ферментов в различных химических и физиологических процессах, особенно в иммунном ответе, метаболизме, воспалении и проведении пищеварения.

Поджелудочная железа является главной секреторной железой пищеварительного тракта. Двенадцатиперстная кишка выделяет ферменты (протеазы: трипсин, химотрипсин, карбоксипептидаза, нуклеаза, степсин, амилаза, липаза).

Апоптоз играет важную роль в поддержании клеточного баланса и гомеостаза в физиологических условиях. В частности, он участвует в удалении избыточных клеток из нервной и иммунной системах [170, 58-66; 31, 1344-1360].

Нарушение регуляции апоптоза лежит в основе аутоиммунных заболеваний [183, 42-48]. Определение молекулярных механизмов, генетического контроля и регуляции апоптотического процесса имеет важное значение для понимания механизмов формирования заболеваний [170, 58–66].

Сигналы, индуцирующие апоптоз, различны, но в зависимости от исходного состояния клетки, и одни и те же сигналы могут также вызывать дифференцировку и пролиферацию [124, 338-339; 170, 58-66]. Триггеры могут действовать на различных стадиях апоптотического каскада, в зависимости от первоначального стимула. Пути, которые активирующие апоптоз, варьируются от клетки к клетке, но завершающие этапы являются общими.



В настоящее время накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что ключевые события апоптоза, такие как появление фосфатидилсерина во внешнем монослое плазматической мембраны, пермеабилзация внешней мембраны митохондрий, активация каспаз, повреждение ДНК и блеббинг цитоплазмы, не являются необратимыми, а также могут участвовать в процессах нормальной жизнедеятельности клетки, не связанных с осуществлением программы апоптоза. Анастаз – восстановление жизнеспособности клетки после индукции апоптоза – может происходить после устранения проапоптотических воздействий. Это явление способствует выживанию поврежденных нормальных или опухолевых клеток. В данном обзоре описаны процессы, характерные для апоптоза, однако не приводящие к гибели, – как в ходе нормальной жизнедеятельности клеток, так и при анастазе. Понимание механизмов и последствий обратимости апоптотических процессов, с одной стороны, может способствовать совершенствованию существующих методов терапии различных заболеваний, в том числе злокачественных новообразований, а с другой – открывает новые

возможности для защиты клеточных элементов тканей и органов от гибели при лечении дегенеративных патологий [31, 1344–1360].

Ферменты поджелудочной железы.

Поджелудочная железа является главной секреторной железой пищеварительного тракта. Ферменты выделяются из просвета двенадцатиперстной кишки.

- Протеазы:
 - Трипсин - это фермент протеазы, аналогичный пепсину в желудке.
 - Химотрипсин - также содержится в ферментах протеазы, которые расщепляют белки пищи.
 - Карбоксипептидаза
 - Существует несколько типов эластазы, которые расщепляют эластин и несколько других белков.
- Нуклеазы, расщепляющие нуклеиновые кислоты, ДНК и РНК.
- Стеапсин, расщепляющий жиры.
- Амилаза, которая расщепляет углеводы, такие как крахмал и гликоген.
- Панкреатическая липаза является одним из основных ферментов, участвующих в переваривании жиров. Этот фермент действует на жиры (триглицериды), которые были предварительно эмульгированы желчью, выделяемой печенью в просвет кишечника.

Матриксные металлопротеиназы считаются одним из предположительных маркеров прогрессирования и дисфункции фибротических изменений в различных внутренних органах [168, 1-12; 133, 99-110]. Это семейство внеклеточных цинксодержащих протеолитических ферментов, которые играют важную роль в метаболизме белков соединительной ткани, развитии нормального субстрата, онкогенной трансформации клеток и ангиогенезе.

ММП-9 активно участвует в формировании воспалительных процессов, так как ее активность оказывается значительно повышенной у пациентов с

хроническим рецидивирующим панкреатитом. [118, 3249; 5, 123-127]. Это позволяет предположить, что он связан с клинически значимыми обострениями хронической соевой болезни и, вероятно, будет использоваться диагностически для оценки тяжести обострения и эффективности проводимого лечения. По данным литературы, TIMP-1 является физиологическим антагонистом MMP-9. [139, 1-20; 123, 265-282]. Как предпосылка для включения Мексидола в стандартное лечение, тот факт, что синтез TIMP-1 увеличился у 54,8% пациентов с CRP по сравнению с 15,6% пациентов со стандартным лечением, указывает на патологическую целесообразность назначения этого препарата как средства, нарушающего воспалительный "каскад" путем ингибирования активности MMP-9. Это свидетельствует о том, что препарат является патологически целесообразным для назначения. Включение антиоксиданта Мексидола в лечение, повышающее выработку TIMP-1 и одновременно снижающее MMP-9 у пациентов с хронической соевой болезнью, открывает возможность его использования в качестве профилактического средства против прогрессирования заболевания.

Таким образом, повышенная активация матриксной металлопротеиназы-9 на фоне сниженной продукции антагониста TIMP-1 может играть важную роль в механизме обострения хронического рецидивирующего панкреатита. Введение Мексидола в стандартную схему лечения пациентов с ХРП является физиологическим антагонистом патологически оправданным, поскольку он снижает активность MMP-9 на фоне повышенной активности TIMP-1.

Семейство ММТ также включает адамицин (АДАМС - разлагающий фермент и металлопротеолитический фермент; адамицин) и Адам TS (разлагающий фермент и металлопротеолитический фермент с мотивом тромбоспондина типа 1). Адамилсин вдобавок расщепляет агрекан до мембраносвязанного MMP, но, что более важно, ADAM-17 активизирует Про-TNF- α в качестве фермента преобразования фактора некроза опухоли- α (TNF- α) (TACE), активизируя воспалительные процессы, включительно панкреатит.

Функции ADAMTS вливают деградацию коллагена, аггрекана, вертикана и бревикана, ингибирование ангиогенеза, поддержание гомеостаза свертывания крови посредством деградации протеазы фактора Билебранда, участие в формировании органов, формировании эмбрионов и воспалении. ММП - это "индуцируемый" фермент, транскрипция которого зависит от различных факторов (цитокины, факторы роста и некроза опухоли, химические вещества и т.д. [18, 21-24].

Стадии апоптоза.

Апоптотический процесс структурно можно разделить на три независимые стадии: инициация (каскад протеинкиназ), эффекторная фаза (активация каспаз и нуклеаз) и деградация. [178, 1-17; 148, 45 - 49]. Факторами, индуцирующими апоптоз, могут быть как внешние (внеклеточные), так и внутренние (внутриклеточные) сигналы. Сигналы распознаются рецепторами и затем передаются различным порядкам молекул-медиаторов, достигая ядра, где программа "самоубийства" клетки активируется путем активации "летальных" генов в ядре и/или ингибирования генов, транскрипты которых препятствуют выполнению этой программы. Во время эффекторной фазы различные пути инициации переключаются на общий апоптотический путь. За эффекторной фазой следует цитолитическая фаза, характеризующаяся разрушением клеточного материала, которая, по-видимому, является общей для всех путей инициации.

Пути активации апоптоза.

Для развития эффекторной стадии выделяют два основных пути. Их различие заключается в механизме инициации передачи сигналов, то есть внешнем рецепторзависимом сигнальном пути и внутреннем митохондриальном пути, который включает рецептор апоптоза (TNF-суперсемейство). Ранние стадии гибели клеток могут быть опосредованы через "рецепторы смерти" [73, 582-592; 107, 483-488; 81, 127 - 133; 161, 728-738].

В его структуре есть мембранный белок, содержащий внеклеточный домен, мембраносвязанный домен и цитоплазматический домен, который, как считается, является белком Fas (APO-1, CD95). Цитоплазматический домен содержит гомологичные домены, необходимые для сигнализации о смерти [129, 27-40; 148, 45–49; 170, 58–66].

Благодаря взаимодействию белков и специфических рецепторов семейства факторов некроза опухоли серия событий, приводящих к апоптозу, была наиболее изучена [148, 45–49; 81, 127–133]. Например, рассмотрим систему Fas-FasL, как если бы это был внешний путь, индуцирующий апоптоз. Фундаментальное различие между внешним и внутренним путями заключается в том, что они обходят регуляцию специфическими белками семейства bcl-2 и являются Ca²⁺-независимыми [165, 474].

Апоптоз играет важную роль в определении количественного и качественного состава клеток иммунной системы [85, 122-142; 148, 45 - 49; 81, 127 - 133]. Одной из фундаментальных особенностей иммунной системы является ее способность не реагировать на собственные молекулы. Для этого в тимусе происходит процесс пролиферации и созревания тимоцитов, а также отбор "правильных" Т-лимфоцитов. Положительный отбор связан с тем, что рецепторы Т-клеток подвергаются последующей дифференцировке только в клетках с низким сродством к собственным основным молекулам комплекса гистосовместимости (МНС). Т-клетки с очень высоким или очень низким сродством к собственным молекулам ГГК подвергаются апоптозу и погибают.

Дисрегуляция апоптоза лимфоцитов считается одним из факторов, участвующих в развитии аутоиммунных заболеваний [37, 12-22; 148, 45 - 49]. Было показано, что механизмы, регулирующие программируемую гибель лимфоцитов, влияют на формирование аутоиммунных заболеваний у мышей без ожирения (NOD); было установлено, что устойчивость к апоптозу Т-клеток у мышей NOD связана с увеличением антиапоптотического фактора Т-клеток Bcl-x, а также с такими заболеваниями, как сахарный диабет и может объяснять

аутоиммунные реакции при диабете. Кроме того, было обнаружено, что на поверхности Т-лимфоцитов снижена экспрессия клеточных саморазрушающихся антигенов Fas. Поэтому, если лимфоциты сопротивляются апоптозу, иммунный ответ может быть продлен, а клональная делеция аутологичных клеток задержана [112, 11795].

Роль апоптоза в деструкции β -клеток

Несколько гипотез объясняют возникновение СД 1 типа апоптозом β -клеток [109, 1694; 148, 45 - 49; 100, 99-158]. Согласно первой модели, β -клетки разрушаются цитотоксическими Т-клетками, которые содержат перфорин и гранзимы в качестве эффекторных молекул. Перфорин вызывает лизис клеток-мишеней, а гранзимы А и В, по-видимому, являются ключевыми факторами в инициации гибели клеток. Согласно другой модели, антигензависимые дифференцированные зрелые Т-хелперы (Тх) синтезируют и выделяют многочисленные воспалительные цитокины [169, 388-400; 148, 45-49; 44, 102-106]. Последние усиливают инфильтрацию воспалительных гнезд мононуклеарными лимфоцитами (моноцитами и макрофагами), инициируют экспрессию молекул адгезии в эндотелиальных клетках и способствуют высвобождению других медиаторов воспаления. Макрофаги, стимулированные интерфероном- γ (IFN- γ), вырабатывают интерлейкин 1β (IL- 1β) и TNF- α , которые вместе с IFN- γ вызывают β -цитотоксичность. Когда человеческие островки ПЯД культивируются с комбинацией цитокинов (IL- 1β +TNF- α +IFN- γ), индуцируется апоптоз β -клеток [108, 8897138; 137, 1005-1029; 154, 267-271]. Более того, эта модель предполагает, что IL- 1β индуцирует экспрессию Fas β -клетками, способствуя лизису Тх-1 и экспрессии FasL в цитотоксических Т-клетках. Однако пока неясно, запускается ли этот процесс апоптозом, некрозом или комбинацией этих процессов.

Существует еще одна гипотеза, которая на сегодняшний день считается преимущественно доказанной [148, 45-49]. Согласно ей, патологические иммунные реакции опосредуются Тх типа 1, тогда как защитные реакции

связаны с T_H типа 2. Подтипы T_H производят различные цитокины; T_H-1: секреция IL-2, IFN- γ и TNF- β опосредует клеточный иммунитет; T_H-2: секреция IL-4, IL-5, IL-6, IL -9, IL-10 и IL-13 участвуют в гуморальном иммунитете; многие исследования поддерживают гипотезу, что цитокины, секретируемые T_H-1, разрушают β -клетки, а цитокины, секретируемые T_H-2, подавляют T_H-1 и защищают β -клетки. IL-4 и производный от тромбоцитов фактор роста (TGF- β), доставляемые бета-клеткам поджелудочной железы мышей NOD, предотвращают аутоиммунный диабет.

Рассматривая непосредственно патогенез острого панкреатита, становится ясно, что существует множество других теорий, объясняющих его механизм. Основными, по-видимому, являются теория "общего канала" и теория сосудистой гипертензии, сосудистая, неврологическая, травматическая, инфекционно-аллергическая, вирусная, аутоиммунная и метаболическая. Экспериментальные данные показывают, что когда трипсиноген превращается в трипсин в течение 15 минут после индукции апоптоза панкреатита, он активируется в проэнзимных и железистых клетках на самых ранних стадиях заболевания [164, 8298-8314; 23, 107].

Мелкие клетки, по-видимому, являются источником синтеза белков в больших везикулах, которые транспортируются в комплекс Гольджи для посттрансляционной обработки. Кроме того, железистые клетки синтезируют ферменты, предназначенные для переваривания внутриклеточных субстратов, которые ограничиваются комплексом Гольджи в железистых лизосомах. Лизосомальные протеолитические ферменты, которые проходят через комплекс Гольджи, фосфорилируются и отделяются от секретируемых белков, связываются с рецепторами Гольджи и транспортируются отдельно от секретируемых белков в лизосомальный компартмент клетки. Потенциальное воздействие лизосомальных протеолитических ферментов на панкреатические ферменты обусловлено нарушением пути диссоциации этих веществ при их прохождении через Гольджи на ранних стадиях острого панкреатита. В

результате лизосомальные протеолитические и пищеварительные ферменты находятся в одной внутриклеточной вакуоли [23, 107; 182, 3211-3222].

Протеазы, присутствующие в лизосомах железистых клеток, например, катепсин В, могут играть важную роль в активации и превращении трипсиногена в трипсин. Его активность повышается при остром панкреатите [110, 69-77; 23, 107].

Было установлено, что во время формирования острого панкреатита содержание активного трипсина в клетках железы и количество некротических клеток железы снижается примерно на 50% (23, 107). Когда повреждение поджелудочной железы опускается ниже порогового уровня, возникает системный ответ, независимо от первоначальной активации трипсиногена и/или степени повреждения клеток железы. Независимо от степени активации трипсиногена, предполагается, что развитие клеток, подвергающихся апоптозу, связано с агрессивностью этиологического агента. Эта точка зрения подтверждается различной степенью участия апоптотических клеток при панкреатите разной степени тяжести.

Некроз железы при остром панкреатите сопровождается нарушением целостности клеточной мембраны, что приводит к аутолизу поджелудочной железы. Когда происходит апоптоз, цитоплазматическая мембрана остается неповрежденной, поэтому ферменты не воздействуют на паренхиму. Эта гипотеза подтверждается несколькими экспериментальными исследованиями, показавшими, что апоптоз клеток железы выражен при легком отечном панкреатите, а некроз - при тяжелом деструктивном панкреатите. [23, 107].

При остром панкреатите апоптоз клеток сопровождается экспрессией генов, способствующих апоптозу и антиапоптозу (p53, bax, BclXL). В этом процессе участвуют различные медиаторы, которые опосредуют регуляцию молекулярного механизма апоптоза. [28, 178-183; 148, 45 – 49; 23, 107].

Было показано, что при остром панкреатите повышение активности фосфолипазы А2 в сыворотке крови коррелирует с тяжестью заболевания, но

было обнаружено, что повышение активности обусловлено ферментами II типа, которые участвуют в системных воспалительных реакциях и воздействуют как белки острой фазы, вызывающие системные осложнения острого панкреатита. [134, 11834-9; 23, 107].

Таким образом, приведенные выше литературные данные указывают что острый и хронический панкреатит являются наиболее часто встречающейся патологией среди желудочно-кишечных заболеваний. В патогенезе его развития особую роль играет апоптоз, который зависит от активности ферментов, иммунной и цитокиновой систем, что необходимо учитывать при проведении патогенетической терапии.

Основные принципы лечения острого панкреатита

Существует два периода, когда количество смертей наиболее велико: ранний период из-за формирования панкреатического шока и поздний период пиогенных осложнений катастрофического ОП. В то же время, пиогенные осложнения ОП очень разнообразны по форме и локализации и требуют практически индивидуального лечения для каждого пациента.

В этом контексте разработка медикаментозных методов лечения ОП требует понимания патогенетических механизмов, а также формулирования подходов для обеспечения профилактики и улучшения результатов лечения при различной тяжести и этиологических формах ОП. [21, 38-43; 145, 162; 79, 167–187; 51, 3-11; 61, 116-118].

Многие из потенциальных маркеров для прогнозирования тяжести острого панкреатита являются частью системной воспалительной реакции на первоначальное повреждение (например, интерлейкин 6 (IL6), реактивный белок С и прокальцитонин). Теоретически, раннее лечение антицитокинами может снизить SIRS и риск полиорганной дисфункции. До настоящего времени попытки фармакологического вмешательства с помощью антисекреторных препаратов, таких как соматостатин или ингибиторы протеаз, таких как габексат

мезилат и апротинин, были в значительной степени разочаровывающими [136, 727-732; 8, 586–590; 13, 149–159].

Несколько тенденций в лечении тяжелого острого панкреатита в настоящее время меняют нашу клиническую практику; раннее энтеральное питание, избирательная роль профилактических антибиотиков, отказ от операции у пациентов с асептическим некрозом, более консервативный подход к инфицированному некрозу с отсроченным вмешательством, будь то эндоскопическое или хирургическое, и лечение билиарного панкреатита. Целью данного руководства является предоставление научно обоснованного международного консенсуса по ведению тяжелого острого панкреатита, основанного на консенсусе экспертов на Всемирном конгрессе по неотложной хирургии, состоявшемся в Бертиноро, Италия, 27-30 июня 2018 года.

В то же время в 2012 году были опубликованы две новые системы классификации AP: Классификация острого панкреатита на основе детерминант (DBC) и пересмотренная Атлантическая классификация 2012 года (RAC) [176, 141-145]. Новая DBC основана на глобальном веб-опросе и специальном международном симпозиуме с участием представителей различных дисциплин. 528 панкреатологов из 55 стран получили электронную почту, 240 панкреатологов из 49 стран приняли участие в опросе; на Всемирном конгрессе Международного панкреатического общества в 2011 году (Кочи, Индия) около 100 участников рассмотрели предложенную систематизацию и согласовали определения. [176, 141–145.]. Медицинское лечение легкого острого панкреатита является относительно простым. Пациент находится в режиме NPO (ноль per os, то есть ничего не принимается внутрь), и обеспечивается внутривенная (IV) гидратация жидкости.

Анальгетики назначают для облегчения боли. Антибиотики, как правило, не указаны.

Если на УЗИ обнаружены признаки желчных камней и если причиной панкреатита считается билиарный, холецистэктомия должна быть выполнена во время того же госпитализации. Кормление следует вводить энтерально, так как анорексия пациента и боль исчезают. Пациенты могут быть начаты на диете с низким содержанием жиров вначале, и им не обязательно начинать свой рацион с использованием прозрачной жидкой диеты. Систематические обзоры и мета-анализы показали, что введение энтерального питания может снизить смертность и инфекционные осложнения по сравнению с парентеральным питанием [97, 428-432; 46, 102-106]. Хотя идеальное время для начала энтерального питания остается неопределенным, администрация в течение 48 часов представляется безопасной и приемлемой [46, 102-106].

Уровни сывороточной амилазы и липазы могут быть повышены у пациентов с повреждением головного мозга (например, цереброваскулярной травмой или травмой головного мозга). Об этих пациентах обычно заботятся в отделении интенсивной терапии (ICU), и им требуется искусственная вентиляция легких. Повышение уровня поджелудочной железы может значительно возрасти и падать в течение многих дней или недель. Считается, что повышение происходит в результате гиперстимуляции поджелудочной железы через центральный механизм, но в исследованиях визуализации нет никаких признаков острого панкреатита.

Пациенты с тяжелым острым панкреатитом нуждаются в интенсивной терапии. В течение нескольких часов или дней может развиваться ряд осложнений (например, шок, легочная недостаточность, почечная недостаточность, желудочно-кишечное кровотечение или полиорганная система). Цели медицинского управления состоят в том, чтобы оказывать агрессивную поддерживающую помощь, уменьшать воспаление, ограничивать инфекцию или суперинфекцию, а также выявлять и лечить осложнения по мере необходимости.

Аутоиммунный панкреатит - редкое заболевание. Кортикостероиды не должны использоваться для лечения этого состояния в краткосрочной перспективе у пациентов с подозрением на аутоиммунный панкреатит и имеющих острый панкреатит.

При остром экспериментальном панкреатите в печени и крови установлена накопление окисленного глутатиона в результате снижения активности ферментов, участвующих в его восстановление и распаде и возможность ее восстановления при предварительном введении α -токоферола [75, 33-36; 74, 50-52]. Показано существенное увеличение продуктов ПОЛ в микросомальной фракции печени и крови крыс экспериментальном остром панкреатите, при одновременном понижении антиоксидантной и монооксигеназной систем организма. Альфа-токоферол предотвращает накопление токсичных метаболитов липопероксидации, выраженно активизирует супероксиддисмутазу (СОД) и каталазу (КАТ); сохраняет микросомальные гемопротеиды от ингибирования, способствуя, тем самым, активизации детоксицирующей функции печени и уменьшению эндотоксемии. Показано, что предварительное введение α -токоферола экспериментальным животным на 80% снижало летальность при ОП, уменьшало активность амилазы в 2 раза, что позволяет сделать вывод о важной роли обеспеченности организма α -токоферолом при остром экспериментальном панкреатите.

А.П.Власовым и соавторами [12, 21-23] проведено изучение эффективности ремаксолола у больных острым панкреатитом тяжелой степени. Выявлено, что острый панкреатит в ранней фазе сопровождается активацией процессов перекисного окисления липидов и фосфолипазы A_2 , гиперкоагуляцией и гипофибринолизом, выраженность данных изменений сопряжена с тяжестью патологического процесса. Включение в комплексную терапию ремаксолола способствовало более быстрой коррекции гомеостатических показателей у больных острым панкреатитом тяжелой степени. У этих пациентов выявлено снижение показателей окислительного стресса на 13,4 – 17,1 % ($p < 0,05$),

активности фосфолипазы A_2 — на 18,2 – 20,6 % ($p < 0,05$), гемокоагуляционных расстройств — на 9,2 – 14,7 % ($p < 0,05$) относительно контроля.

В последние годы октреотид, аналог соматостатина (SST), стал более широко применяться при лечении ОП, особенно деструктивных форм [172, 506-512; 2, 68-69; 24, 33-35; 84, 16-18; 105, 92-98].

SST - это форма пептида, который подавляет секрецию гипофизарных аденокортикотропных, энтеральных и панкреатических гормонов и подавляет экзокринную функцию многих клеток желудочно-кишечного тракта и поджелудочной железы. [173, 371-376; 14, 45-46]. Впоследствии было установлено, что SST вырабатывается не только в гипоталамусе, но и в других отделах ЦНС, в δ -клетках панкреатических островков и в центральной части желудка. Известно несколько форм SST, но преобладает 14-аминокислотная форма. Центральный тетрапептид молекулы, содержащий фенилаланин, триптофан, лизин и треонин, отвечает за биологическую активность SST.

Действие SST опосредуется рецепторами, расположенными на плазматической мембране клеток-мишеней; рецепторы SST обнаружены в различных специализированных типах клеток в центральной нервной системе (гипоталамус, гипофиз, лимбическая система, спинной мозг), коре надпочечников, желудочно-кишечном тракте и поджелудочной железе [2, 68-69; 14, 45-46; 91, 22]. Механизм действия SST на клетки-мишени связан с ингибированием аденилатциклазы, снижением уровня цАМФ, открытием K^+ каналов и активацией фосфотириозинфосфатазы.

В желудочно-кишечном тракте SSTs действуют как медиаторы, влияющие на различные функции через эндокринные и паракортикостероидные пути. Недавно было показано, что SST физиологически подавляют желудочную и

панкреатическую секрецию. Считается, что СТГ также подавляют высвобождение ионов Ca^{2+} из костной ткани, стимулируя секрецию кальцитонина. Эти ионы, как известно, играют важную роль в активации секреции панкреатической жидкости. [181, 69; 34, 257].

Ключевые октреотиды подавляют различные функции желудочно-кишечного тракта. Описаны только стимулирующие эффекты на слюноотделение и секрецию желудочной слизи.

Было показано, что октреотид подавляет секрецию энтероглюкагона, гастрин, цереутина, холецистокинина, вазоактивных кишечных полипептидов, мотилина, нейротензина и бомбезина, снижает секрецию желудочной кислоты, пепсина, панкреатических ферментов и бикарбоната, замедляет перистальтику и скорость транзита в тонкой кишке. В частности, октреотид снижает секрецию воды клетками поджелудочной железы на 86%, бикарбоната - на 45%, амилазы - на 80% и липазы - на 16%. Умеренное сосудосуживающее действие октреотида на брюшные артерии способствует снижению портального давления за счет уменьшения притока крови к портальной системе.

Октреотид стал играть важную роль в протоколах панкреатэктомии и панкреатикодуоденального анастомоза с высоким операционным риском. В этом контексте эффективность октреотида зависит от выраженного подавления экзокринной функции поджелудочной железы, стабилизации мембран железы и ингибирования секреции определенных цитокинов, ответственных за некроз опухоли. Ингибирующее действие октреотида на панкреатическую секрецию обусловлено снижением поглощения аминокислот крови клетками панкреатической железы и ингибированием синтеза ферментов и активности этих клеток. Эффект октреотида в лечении

ОП меньше, чем предотвращение разрастания некротических участков и прогрессирования процесса на забрюшинную клетчатку. Ингибирование синтеза ферментов в ткани поджелудочной железы является основной причиной [122, 7223; 34, 257; 91, 22].

Таким образом, терапевтический эффект октреотида при ОП обусловлен выраженным ингибированием экзокринной функции поджелудочной железы, стабилизацией мембран железы и ингибированием синтеза цитокинов. Октреотид быстро снижает активность панкреатических ферментов, уменьшает лейкоз и устраняет левостороннее смещение лейкоцитарной формулы.

МЕТОДОЛОГИЯ И МОНИТОРИНГ РАЗВИТИЯ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА И ПУТИ ЕГО КОРРЕКЦИИ

Характеристика экспериментального материала

Эксперименты проводились на 120 половозрелых гибридных крысах-самцах с начальной массой 120-140 г, соблюдавших стандартную диету. Эксперимент проводился в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных (Страсбург, 1985), которая используется в экспериментальных и других научных целях. Острый экспериментальный панкреатит р. Его индуцировали у мышей методом Симовариана [82, 59-62]: локальным замораживанием поверхности поджелудочной железы хлористым этилом.

Операция проводилась под эфирно-макотоновой анестезией в асептических условиях. абдоминальная полость была вскрыта, и желудок и двенадцатиперстная кишка были извлечены совместно с поджелудочной железой. Отдельные участки кишечника с железами были тщательно изолированы от остальной абдоминальной полости салфетками. впоследствии обе поверхности части селезенки поджелудочной железы орошали хлорэтилом в стандартной ампуле. Для каждого орошения использовали 1,5-2 мл хлорэтила. Полив каждой соседней секции фонтана продолжался до тех пор, пока не появился слой легкого инея. Во время орошения охлажденные ткани становились толще и легче по сравнению с неповрежденной железистой тканью. Примерно через 4-5 минут после орошения, когда фонтан стал ярко-красным, орган был введен в брюшную полость и последняя зашита слой за слоем. Контрольным животным проводили только резекцию целиакии без замораживания поджелудочной железы. Время работы занимало в среднем 10-12 минут.

Характеристика экспериментального материала

Эксперименты проведены на 120 крысах самцах

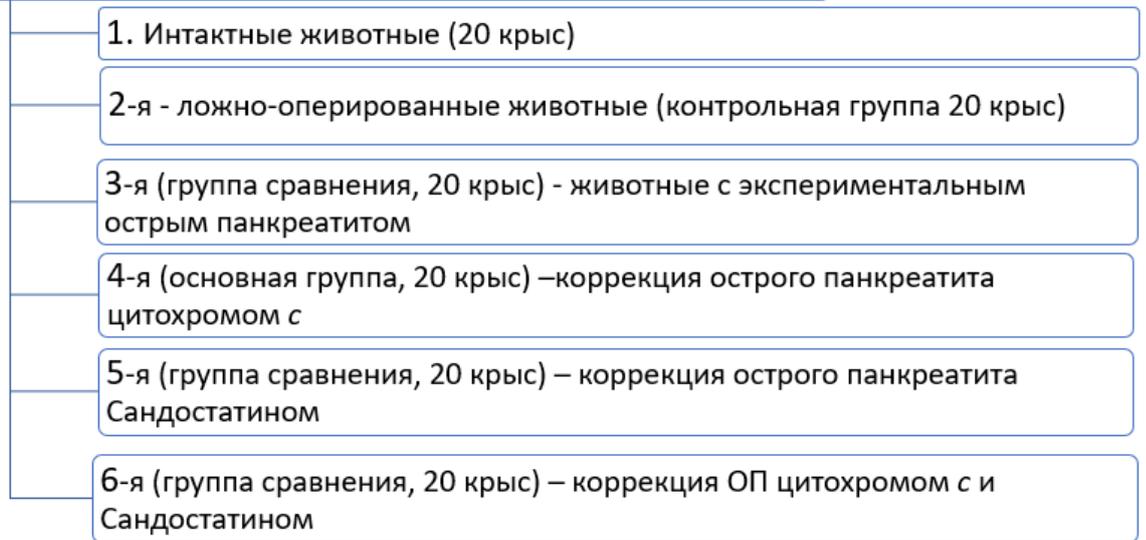


Рис. 2.1. Этапы проведения эксперимента

Активность амилазы измеряли в крови, чтобы определить степень повреждения поджелудочной железы. Тест был проведен через 7 дней после операции, через 10 дней после нее.

Свойства экспериментального материала показаны на рисунке 2.1. Во второй серии экспериментов (20 крыс) мы изучали корригирующее воздействие цитохрома С на показатели апоптоза при формировании экспериментального острого панкреатита. Для этого контрольным и экспериментальным животным ежедневно в течение 10 суток вводили цитохром С в дозе 0,15 мг на кг массы тела. Препарат вводили внутримышечно, а курс лечения составлял 10 дней.

В третьей серии экспериментов, во время развития экспериментального острого панкреатита, животным вводили -0,007 мг сандостатина на кг массы тела (20 крыс) и изучали параметры апоптоза.

В четвертой серии экспериментов животным одновременно вводили цитохром С и сандостатин и изучали показатели апоптоза при развитии экспериментального острого панкреатита. Для этого контрольным и

экспериментальным животным ежедневно в течение 10 дней вводили 0,15 мг цитохрома С на кг массы тела и 0,007 мг ингибитора протеазы сандостатина на кг массы тела.

Цитохром С является особенно важным небольшим белком, содержащимся в крови, который передает электроны от цитохром С-редуктазы к цитохром С-оксидазе между эндоплазматическим ретикулулом митохондрий и внешней мембраной [103, 73-81]. Вмешательства для защиты от свободных радикалов могут способствовать кардиопротекторным эффектам при реперфузионных повреждениях [121, 8693-8709].

Многие исследователи показали, что экзогенный цитохром с интегрирован в цепь переноса электронов митохондрий в том месте, где находится эндогенный цитохром с, нормализуя биоэнергетические процессы в тканях [167, 826-831]. Экспериментальные исследования митохондрий с дефицитом цитохрома С показали, что интенсивность полосы поглощения в направлении 520 нм и 550 нм, которая характерна для цитохрома С, изменяется однонаправленно. В то же время сила полосы поглощения, которая характеризует цитохромы в, а и а3, осталась неизменной [54, 410-412; 90, 68-71.].

Добавление экзогенного цитохрома с увеличивало интенсивность окислительного фосфорилирования и соотношение Р/О. Расчет концентрации цитохрома по пикам спектральной кривой показал, что содержание цитохрома с значительно увеличивалось в цитохром-дефицитных митохондриях гепатоцитов. Исследование показало, что терапевтический эффект цитохрома с объясняется его прямым проникновением в поврежденные клетки и взаимодействием с компонентами дыхательной цепи митохондриальной мембраны. [52, 152–157; 53, 62–65; 54, 410–412; 89, 23; 90, 68–71].

Цитохром с ингибирует перекисное окисление липидов и способствует синтезу ингибиторов протеолиза независимо от факторов гипоксии. Он

стабилизирует лизосомальные мембраны и способствует защите кислых фосфатаз и дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [83, 27-31; 58, 585-589]. Цитохром с усиливает связывание гидролаз с лизосомальными структурами, что является одним из основных моментов антигипоксического механизма цитохрома с. Возможно. [62, 52-57].

Цитохром С оказывает стимулирующее действие на синтез иммуноглобулинов [57, 29-30]. Было обнаружено, что уровни IgG в группе больных брюшным тифом, получавших лечение от брюшного тифа, были на 17% выше, чем в контрольной группе. В то же время уровни IgM и А также превышали контрольные уровни, но были менее интенсивными. Влияние цитохрома С на формирование иммунитета является результатом его стимулирующего действия на окислительное фосфорилирование и дыхательные процессы [57, 29-30].

Препарат Сандостатин - синтетический октапептид, являющийся производным естественного гормона соматостатина и обладающий сходными с ним фармакологическими эффектами, но большей продолжительностью действия. Препарат подавляет патологически повышенную секрецию гормона роста (ГР), а также пептидов и серотонина, продуцируемых в гастро-энтеро-панкреатической эндокринной системе.

В экспериментах на животных октреотид ингибирует секрецию ГН, глюкагона и инсулина сильнее, чем соматостатин, и обладает более высокой селективностью в отношении ингибирования ГН и глюкагона.

У пациентов, перенесших операцию на поджелудочной железе, применение Сандостатина® во время и после операции может снизить частоту возникновения распространенных послеоперационных осложнений (например, панкреатического свища, абсцесса, сепсиса и послеоперационного острого панкреатита).

Животное забивали через 7, 10 дней после операции.

Анализы сыворотки крови проводили в соответствии с целью:

1. Состояние цитокинового статуса.
2. Активность металлопротеиназ и содержания ТИМП-1.
3. Содержание факторов апоптоза.
4. Морфологию и иммуногистохимию печени и поджелудочной железы.

Методы исследования

В день вышеупомянутого исследования животных забивали на стадии 1 и собирали кровь в центрифужную пробирку. Брюшная полость животного была вскрыта, и печень была быстро извлечена.

Исследование содержания цитокинов, факторов апоптоза, активность металлопротеиназ и содержание ТИМП-1 проводили в GenoTechnologiya (директор - PhD Ж.Д.Хужахмедов) с помощью иммуноферментного анализа на иммуноферментном анализаторе фирмы «HUMAN» (ГЕРМАНИЯ) с использованием набора тест-систем (ООО «Цитокин», Санкт-Петербург), морфологические исследования – Республиканском патологоанатомическом центре (директор – проф. Р.И.Исраилов).

Кусочки поджелудочной железы и печени фиксировали в 10% формалине в фосфатном буфере в течение 48 часов, потом промывали под проточной водой в течение 3-4 часов, обезвоживали увеличенной концентрацией спирта и хлороформа, а далее помещали в парафин. Из парафиновых блоков были получены срезы ткани толщиной 5 мкм, депарафинизированные в ксилоле, и проведено иммуногистохимическое окрашивание.

Имуногистохимические исследования проведены в 10 образцах. Использованы ткани зафиксированные 10% забуференным формалином в течение 24 часов. Рутинная проводка тканей проводилось на карусельном процессоре STP120, ThermoFisher, Германия. Серийные срезы толщиной 3 мкм подвергались депарафинизации, дегидратации, демаскировки и окраску

антигенами производили при помощи специализированной автоматизированной системы VentanaBenchmarkXT, Roche, Швейцария. Исследование проводили с антителами bcl2 и ki-67.

Содержание интерлейкинов в сыворотке крови изучали с помощью иммуноферментного анализа. Уровень интерлейкинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6), фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α), p53 определяли на иммуноферментном анализаторе фирмы «Stat-Fax» (США) с использованием набора тест-систем производства ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург). Единица измерения- пг/мл.

Иммуноферментный анализ определения ФНО- α человека проведен набором реактивов «ИФА-TNF- α », предназначенной для количественного определения TNF- α в исследуемых образцах твердофазного иммуноферментного анализа.

Принцип работы. Набор ELISA-TNF-Alpha использует иммуноферментный анализ типа "сэндвич". В анализе используются два моноклональных антитела с различной эпитопной специфичностью к TNF- α . Одно из них иммобилизовано на твердой фазе (внутренняя поверхность лунки), а другое представляет собой конъюгат с биотином. На первом этапе анализа TNF- α в образце и тестируемом образце связывается с антителом, иммобилизованным на внутренней поверхности лунки. На втором этапе анализа иммобилизованный TNF- α взаимодействует со вторым антителом, меченным биотином. Количество связывания конъюгата прямо пропорционально количеству TNF- α в исследуемом образце. На последнем этапе в лунки добавляется связанная стрептавидиновая пероксидаза.

Инкубация с субстратной смесью окрашивает раствор в лунке. Степень окрашивания прямо пропорциональна количеству связывания меченого антитела. После измерения оптической плотности раствора в лунках

концентрация TNF- α в исследуемом образце рассчитывается по калибровочной кривой.

Проведение анализа. В зависимости от количества анализируемых образцов готовят соответствующее количество реагента, тщательно перемешивают и доводят до комнатной температуры для анализа. Добавьте 0,10 мл "буфера А" в каждую лунку и 0,10 мл калибровочного образца или сыворотки для тестирования в каждой лунке. Полоски инкубировали встряхиванием при температуре 370°C в течение 2 часов. В конце инкубации содержимое лунки сцеживали и удаляли, а лунку промывали 3 раза.

Добавляли 0,3 мл промывочного буфера во все лунки для каждой промывки. Каждый раз при сцеживании рамку лунки переворачивают вверх дном на фильтровальную бумагу, чтобы осторожно удалить оставшуюся жидкость из лунки. В каждую лунку добавляли 0,1 мл раствора антител. Лунку микропланшета инкубируют встряхиванием при температуре 370°C в течение 1 часа. В конце культивирования лунки промывали, в каждую лунку добавляли 0,1 мл раствора соединения Е, а затем инкубировали встряхиванием при 370°C в течение 30 минут.

Перед окрашиванием рекомендуется промыть полоску дистиллированной водой, чтобы более полно удалить несвязанную зиготу. За 5 минут до окончания культивирования готовили необходимое количество субстратной смеси в стакане, содержащем субстратный буфер во флаконе с надписью "BufferC", и добавляли необходимое количество раствора тетраметилбензидина во флаконе с надписью "ТМВ". После тщательного перемешивания храните в темном месте до использования.

Добавьте 0,1 мл смеси субстрата в каждую лунку и инкубируйте лунки микропланшетов в темной комнате в течение 15-20 минут, в зависимости от степени окрашивания. Чтобы остановить ферментативную реакцию, добавьте 0,05 мл стоп-раствора во все лунки с той же скоростью и в том же порядке, что и смесь субстрата, и встряхивайте в шейкере в течение 5-10 минут.

Измеряли оптическую плотность в лунках при длине волны 450 нм. Рассчитывали для каждой калибровочной или исследуемой пробы величину $V - V_0$, где:

V - среднее значение оптической плотности в лунках, содержащих калибровочные или исследуемые пробы,

V_0 - среднее значение оптической плотности в лунках, содержащих калибровочную пробу «0 пг/мл».

Оптическая плотность по сравнению Концентрация TNF- α (пг/мл) в единицах оптической плотности (OD) отображалась в линейных координатах на бумаге для калибровки образца, и содержание TNF- α в образце определялось на калибровочном графике. Если оптическая плотность тестируемого образца выше оптической плотности максимальной точки калибровочной кривой, тестируемый образец растворяют в "буфере А" во время повторного анализа.

Коэффициент вариации 10 измерений TNF-альфа в одном и том же образце с использованием набора не превышает 10%. Чувствительность - минимальная обнаруживаемая концентрация TNF- α в тестируемом образце не превышает 1 г/мл.

Определение активности металлопротеиназ. Активность металлопротеолитических ферментов MMP-1, MMP-9 и их ингибитора TIMP-1 изучали в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием стандартного тест-набора фирмы Quantihain, R@D Systems, США. Этот тест основан на количественном твердофазном иммуноферментном анализе методом "сэндвич". Оптическую плотность измеряли с помощью компьютерного иммуноферментного анализа AT-858 (China, LTD) при длине волны 450 нм. Концентрацию изучаемых параметров в лизате выражали в нанограммах (нг/мг белка) на 1 мг общего белка, что составляет О.Н. Ее определяли по методу Lowry et al . [135, 265-275]. Составление калибровочного графика и расчет концентрации исследуемых показателей ММП-1, ММП-9 и

ТИМП-1 проводились с использованием уровня линейной регрессии алгебраических координат.

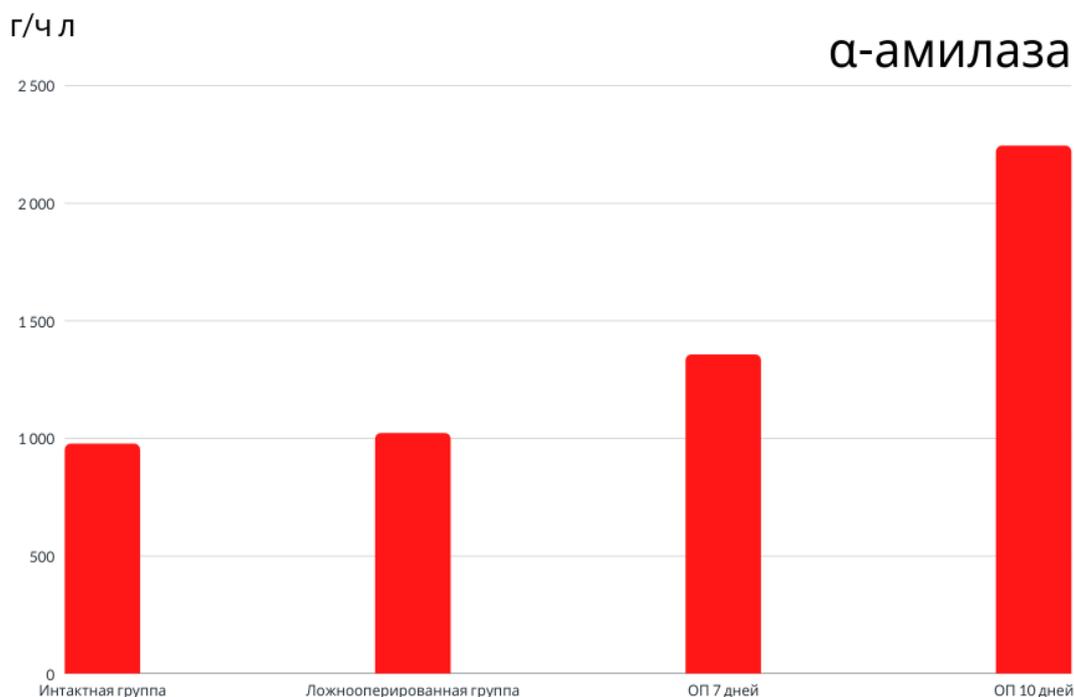
Статистические методы.

Статистическую обработку информации проводили на персональном компьютере Pentium-IV с использованием программного пакета Microsoft Office Excel-2012, включающего встроенные возможности статистической обработки. Метод статистики вариационных параметров использовался для вычисления среднего арифметического (M), стандартного отклонения (σ), стандартной ошибки (M) и относительного значения (частота, %) исследуемых параметров. Статистическая значимость показателей по сравнению со средними значениями определялась с помощью критерия Стьюдента (t), который вычисляет вероятность ошибки (P) при проверке нормальности распределения (критерий эксцесса) и одинаковости общей дисперсии (F - критерий Фишера). Значимый уровень $P < 0,05$ считался статистически значимым.

Состояние цитокинового статуса в динамике развития острого экспериментального панкреатита и влиянии цитохрома с

Для установления степени развития острого панкреатита в сыворотке крови определяли активность амилазы (рис.3.1.).

АКТИВНОСТЬ А-АМИЛАЗЫ КРОВИ КРЫС ПРИ С ОСТРЫМ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПАНКРЕАТИТОМ



Как видно из рис.3.1. активность амилазы крови у ложно оперированных животных достоверно не изменяется. На 7-, особенно, на 10-й день развития ОП активность амилазы повышается в 1,4 и 2,3 раза соответственно по сравнению с интактной группой. Приведенные данные указывают развитие экспериментального ОП у исследуемых животных.

Таким образом, на 7- и 10-е можно получить острый экспериментальный панкреатит.

**Состояние цитокинового статуса в динамике развития острого
экспериментального панкреатита и влиянии цитохрома с**
Изменение содержания цитокинов в динамике развития острого
экспериментального панкреатита

В настоящее время изучены не все патофизиологические механизмы развития острого панкреатита. С учетом того, что иммунные реакции являются неотъемлемой частью патогенеза панкреатита, крайне важно изучить взаимосвязь механизмов воспаления и активации иммунного ответа [9, 484–492.]

Роль интерлейкина (IL) в патогенезе панкреатита в последнее время широко обсуждается, и этиологически обоснованное лечение заболевания основано на целенаправленном снижении выработки интерлейкина.[15, 211-213; 48, 11-20; 65, 79-84; 66, 82- 599].

Широко сообщалось о роли IL в механизме воспалительных изменений в ткани поджелудочной железы (PJ) [8, 586-590; 22, 46]. В частности, интересно изучить уровни IL-1 как факторы, которые могут определять тяжесть панкреатита [16, 395-396., 22, 46; 64, 289 – 300; 143, 113-118.].

Интерлейкин-2 играет ведущую роль в регуляции иммунного ответа благодаря своему широкому спектру биологических эффектов. IL-2 усиливает выработку нескольких лимфокинов, и клетками-мишенями этих лимфоцитов являются Т- и В-лимфоциты, NK-клетки и макрофаги, которые усиливают иммунный ответ за счет функциональной активации этих клеток [41, 154; 104, 583-588].

IL-1 и TNF- α являются основными системными индукторами IL-6 и IL-8 у пациентов с ОП. Экспрессия цитокинов не ограничивается поджелудочной железой, но также распространяется на другие органы и системы. Цитокины вызывают накопление лейкоцитов в воспалительных очагах, а противовоспалительные цитокины вызывают локальную и системную экспрессию молекул адгезии. Повышая проницаемость, пальпируемость и экстравазацию прилипших лейкоцитарных клеток, воспалительные цитокины

вызывают секрецию белков острой фазы в печени и играют важную роль в системной экспрессии ОП и ПИД. [1, 31-34; 72, 359-364; 104, 583-588].

Результаты исследования содержания интерлейкинов в сыворотке крови в динамике развития экспериментального острого панкреатита приведены в таблице 3.1.1.

Таблица 3.1.1.

Изменение содержания цитокинов в сыворотке крови в динамике развития экспериментального острого панкреатита (пг/мл), n=6-8

Показатели	Интактная группа	Ложно оперированная группа	ОП 7 дней	ОП 10 дней
Интерлейкин 1	7,0±0,16	7,8±0,225	15,1±1,7	17,3±0,225
Интерлейкин 2	7,0±0,44	6,5±0,417*	3,8±0,07	2,4±0,05
Интерлейкин 6	7,1±0,33	7,8±0,4*	16,0±0,5 3	18,7±0,2
TNF-альфа	4,5±0,9	6,8±1,225	14,6±0,6 5	19,1±0,7

Примечание: * - P>0,05 по сравнению с интактной группой. В остальных случаях P<0,05

Как видно из данных представленных в таблице 3.1.1. содержание изученных интерлейкинов изменяется у животных ложнооперированной группы. У этой группы животных содержание TNF-альфа, интерлейкин – 1 достоверно

повышается в 51,1; 11,4% по сравнению с интактной группой. Такая же динамика была характерна и для ложноперированной группы.

Нами установлено, что на 7 и 10 дни развития острого панкреатита содержание интерлейкина -1, -6 и TNF-альфа достоверно повышается по сравнению с интактной группой, а содержание интерлейкина-2, наоборот, снижается в 1,8 и 2,9 ($P < 0,05$) раза соответственно.

Таким образом, острый панкреатит характеризуется изменением содержания интерлейкинов в сыворотке крови, особенно на 10-й день эксперимента.

Влияние цитохрома с и сандостатина на цитокиновый статус в динамике острого панкреатита.

Результаты исследования влияния цитохрома с на цитокиновый статус в динамике развития острого панкреатита приведены в таблице 3.2.1.

Таблица 3.2.1.

Изменение содержания цитокинов в сыворотке крови после лечения животных острым панкреатитом цитохромом с (пг/мл), n=6-8

Показатели	Интактная группа	ОП 7 дней		ОП 10 дней	
		До лечения	После лечения цитохромом с	До лечения	После лечения цитохромом с
Интерлейкин 1	7,0±0,16	15,1±1,7	12,2±0,04	17,3±0,2	9,9±0,625
Интерлейкин 2	7,0±0,44	3,8±0,07	4,7±0,06	2,4±0,05	4,9±0,17
Интерлейкин	7,1±0,33	16,0±0,5	10,06±0,6	18,7±0,2	11,75±1,0

6		3	5		5
TNF-альфа	4,5±0,9	14,6±0,6	9,75±0,27	19,1±0,7	13,6±0,13
		5			

Примечание: во всех случаях $P < 0,05$ по отношению к нелеченной группе

В группе с 7 дневным острым панкреатитом лечение цитохромом с приводит к достоверному понижению интерлейкина -1, -6 и TNF-альфа на 19,2; 18,38 и 33,22% по сравнению с нелеченной группой соответственно. А содержание интерлейкина-2 по сравнению с нелеченной группой достоверно повышается на 23,7%.

У животных с 10 дневным панкреатитом лечение цитохромом с достоверно снизило содержание интерлейкина -1, -6 и TNF-альфа на 42,8; 37,17 и 28,8% соответственно по сравнению с нелеченной группой. У этой группы животных содержание интерлейкина-2 повышается на 2,04 раза по сравнению с нелеченной группой.

Таким образом, лечение цитохромом с экспериментальных животных с острым панкреатитом способствует снижению дисбаланса цитокинов, особенно у животных с 10 дневным острым панкреатитом.

Результаты определения содержания цитокинов животным острым панкреатитом после введения сандостатина приведены в таблице 3.2.2.

Таблица 3.2.2.

Изменение содержания цитокинов в сыворотке крови после лечения животных острым панкреатитом сандостатином (пг/мл), n=6-8

Показатели	Интактная группа	ОП 7 дней		ОП 10 дней	
		До лечения	После лечения сандостатином	До лечения	После лечения сандостатином

Интерлейкин 1	7,0±0,16	15,1±0, 7	13,6±0,3 *	17,3±0,2 2	10,71± 1,2
Интерлейкин 2	7,0±0,44	3,8±0,0 7	4,4±0,17	2,4±0,05	3,7±0,0 6
Интерлейкин 6	7,1±0,33	16,0±0, 53	12,75±0, 52	18,7±0,2	10,2±0, 9
TNF-альфа	4,5±0,9	14,6±0, 65	11,7±1,3 5	19,1±0,7	14,6±1, 47

Примечание: * - $P>0,05$, в остальных случаях $P<0,05$ по отношению к нелеченной группе

Как видно из данных таблицы 3.2.2. лечение сандостатином животных 7 и 10 дневным острым панкреатитом приводит к снижению содержания интерлейкина-1, -6 и TNF-альфа. У животных с 7 дневным острым панкреатитом снижение указанных интерлейкинов по сравнению с нелеченной группой составило 9,9; 20,32 и 19,87% соответственно. Сандостатин приводит к повышению содержания интерлейкина-2 у этой группы животных на 15,8% по сравнению с нелеченной группой.

У животных 10 дневным острым панкреатитом после лечения сандостатином понижение интерлейкина-1,-6 и TNF-альфа составило 38,1; 45,46 и 23,56% ($P<0,05$) соответственно, а повышение интерлейкина-2 было равно 54,2%.

Таким образом, сандостатин оказывает положительное влияние на содержание цитокинов при остром экспериментальном панкреатите.

Результаты сочетанного влияния цитохрома *c* и сандостатина на цитокиновый статус в динамике развития острого панкреатита приведено в таблице 3.2.3.

Таблица 3.2.3.

Изменение содержания цитокинов в сыворотке крови после лечения животных острым панкреатитом цитохромом с (пг/мл), n=6-8

Показатели	Интактная группа	ОП 7 дней		ОП 10 дней	
		До лечения	После лечения цитохромом с и сандостатином	До лечения	После лечения цитохромом с и сандостатином
Интерлейкин 1	7,0±0,16	15,1±0,7	10,15±0,76	17,3±0,22	8,7±1,275
Интерлейкин 2	7,0±0,44	3,8±0,07	6,4±0,9	2,4±0,05	5,1±0,37
Интерлейкин 6	7,1±0,33	16,0±0,53	9,5±1,43	18,7±0,2	8,1±1,13
TNF-альфа	4,5±0,9	14,6±0,65	7,36±1,64	19,1±0,7	8,12±0,11

Примечание: во всех случаях $P < 0,05$ по отношению к нелеченной группе

Как видно из данных таблицы 3.2.3. сочетанное введение цитохрома с и сандостатина животным с 7 и 10 дневным острым панкреатитом приводит к повышению интерлейкина-2 в 1,68 и 2,12 раза соответственно по сравнению с нелеченной группой. Содержание интерлейкина-1, -6 и TNF-альфа достоверно снижается на 32,8; 40,6 и 49,6% у животных с 7 дневным и на 49,7; 56,7 и 57,5% ($P < 0,05$) с 10 дневным острым панкреатитом.

Таким образом, совместное назначение цитохрома и сандостатина экспериментальным животным с острым панкреатитом оказалось более эффективным в улучшении цитокинового статуса, чем отдельное введение этих препаратов.

Активность металлопротеиназ и содержания их ингибиторов при остром экспериментальном панкреатите и влиянии цитохрома с

Повышенная продукция матриксной металлопротеазы-9 (ММП-9) играет важную роль в формировании хронического рецидивирующего панкреатита (СРБ). Этот процесс вызывает повышение уровня воспалительных цитокинов TNF- α и IL-1 β . Антиоксидант мексидол включен в лечение обострения хронической болезни сои. Он снижает содержание ММП-9 на фоне повышенного синтеза физиологического антагониста ТИМП-1, что указывает на возможность его применения в комплексном лечении хронического рецидивирующего панкреатита.[4, 43-47].

Матриксные металлопротеиназы [133, 99-110] - это семейство внеклеточных цинксодержащих протеолитических ферментов, играющих важную роль в метаболизме белков соединительной ткани, процессах формирования нормального матрикса, модификации канцерогенных клеток и ангиогенезе. Их активность регулируется взаимодействием с эндогенными ингибиторами (тканевыми ингибиторами металлопротеиназ).

Основным патогенетическим механизмом острого панкреатита является разложение ферментативного дефицита в паренхиме поджелудочной железы ее собственными ферментами, высвобождение их в кровоток и повреждение других органов. [88, 17-19]. Причем, ключевым ферментом этого процесса считают панкреатическую эластазу, агрессивность которой способна вызывать протеолитическую деструкцию и ткани поджелудочной железы, окружающих тканей, т.е. формировать перитонит [144, 675–684; 159, 153-66].

Мы установили (рис.4.1.), что активность эластазы у ложнооперированных животных увеличивается на 12,8% от показателя интактных (норма) животных. У животных с 7- и 10- дневным острым панкреатитом активность амилазы повышает норму в 2,2 и 3,3 раза, соответственно по сравнению с интактными животными (312,5 \pm 5,76; 460,8 \pm 10,8мкг/г).

Панкреатическая эластаза

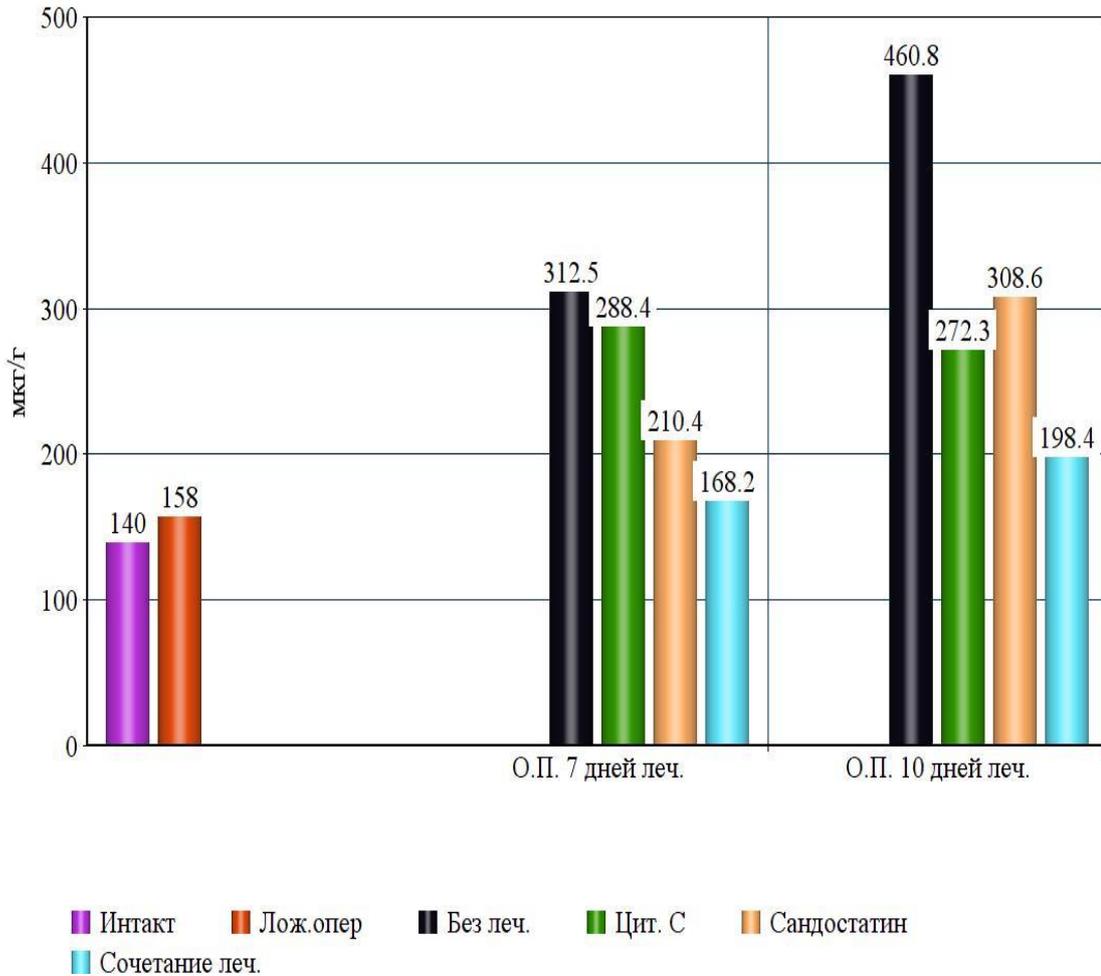


Рис.4.1. Влияние цитохрома с на активность панкреатической эластазы у животных с острым экспериментальным панкреатитом, мкг/кг

Лечение цитохромом с снижает активность эластазы у животных с 7- и 10-дневным острым панкреатитом на 7,7 и 40,9%, соответственно, по сравнению с нелеченной группой. Сандостатин более выражено ингибировал активность эластазы, чем цитохром с. Активность эластазы после лечения сандостатином снизилась на 32,7 и 33%, соответственно, чем 7 и 10 дней от исходного. Наиболее эффективное лечебное действие установлено при сочетанном введении сандостатина с цитохромом с. У животных 7- и 10-дневным панкреатитом активность эластазы снизилась после лечения в 1,9 и 2,3 раза соответственно.

Сравнение биохимических и молекулярно-генетических характеристик, особенно степеней и экспрессии ММП у пациентов с патологией поджелудочной железы, обладает настоящей значимостью для усовершенствования диагностики

заболеваний и осложнений, предпочтения определенных способов лечения и более буквального определения персонального прогноза процесса. Потому что потенциалы ММП могут не только остановить воспаление и фиброз поджелудочной железы, но и контролировать рост опухоли и инвазию ПЖ в окружающие органы [19, 27–30].

Исследование активности матриксных протеаз и содержания их ингибитора ТИМП-1 показало (табл.4.1.), что активность ММП-1 и ММП-9 у животных с острым панкреатитом на 7- и 10-й дни развития достоверно повышалась в 2,5 и 3, в 3,6 и 3,9 раза, соответственно от нормы. Содержание ТИМП-1 в эти же сроки снижалось на 31,7 и 57%, соответственно.

Таким образом, для острого панкреатита характерным является повышение активности матриксных металлопротеиназ и снижение содержания ТИМП-1, особенно на 10-й день развития патологического процесса.

Лечение цитохромом *c* понижает активность ММП-1 и ММП-9 у животных с 7- и 10-дневным острым панкреатитом на 16,8 и 47,4 и на 20,6 и 35,7%, соответственно, от исходного. А при лечении сандостатином эти показатели снижались на 33,2 и 35,2 и на 15,5 и 33,8% ($P < 0,05$). Сочетание сандостатина и цитохрома *c* еще более выраженно снижает.

Таблица 4.1.

Влияние препаратов на активность металлопротеиназ и содержание ТИМП-1 при развитии острого экспериментального панкреатита, $n=6-8$

Пок азате	Ин такт	Ложноо перирова	через 7 дней		через 10 дней	
			Бе	После лечения	Б	После лечения

ль, Pg/ ml	ная груп па	нная группа	з лече ния	ЦИТ охро мом с	санд остати ном	соче тание сандо стати на с цитох ромо м с	ез леч ени я	ЦИТ охро мом с	санд остати ном	соче тание сандо стати на с цитох ромо м с
ММ П-1	13, 5±1, 01	15,8±1,1 3*	34, 5±1, 73	28,7 ±1,46	23,04 ±0,86	14,8 2±1,2 4	48 ,18 ± 1, 28	25,3 ±1,23	31,26 ±1,27	20,1 4±0,7 25
ММ П-9	28 ±1,7	31,1±1,5 3*	84, 7±1, 4	67,3 ±1,66	71,8± 1,9*	32,2 ±1,33	10 9,8 ± 1, 06	70,6 ±1,66	72,6± 1,4	33,4 ±0,93
ТИ МП- 1	26, 5±1, 2	23,7±1,1 3	18, 1± 0,9 6	22,2 ±1,3	23,8± 1,0	25,6 ±1,01	11 ,4± 1, 93	18,2 ±1,13	20,5± 1,63	24,9 ±1,13

Примечание. * - $P > 0,05$, в остальных случаях $P < 0,05$

по сравнению с интактной группой активность ММП-1 и ММП-9, особенно у животных с 10-дневным панкреатитом.

Сочетанное лечение экспериментальных животных способствовало повышению содержания ТИМП-1 (22,2±1,3; 18,2±1,13 и 22,2±1,3; 20,5±1,63 с 7-

и 10-дневным ОП), причем, более выражено, чем при отдельном введении этих препаратов.

Таким образом, при остром панкреатите значительно активизируются матриксные металлопротеиназы и угнетается их ингибитор ТИМП-1, особенно на 10-й день эксперимента. Включение в терапию ОП цитохрома с и сандостатина, особенно их совместное введение, нормализует исследуемые показатели.

Результаты нашего исследования показали, что ТИМП-1 является физиологическим антагонистом ММП-9 [123, 265–282]. Кроме того, эффективность сочетанного введения цитохрома с и сандостатина животным острым панкреатитом указывает на патогенетическую целесообразность назначения этих препаратов как средств, прерывающих воспалительный «каскад», угнетая активность матриксных металлопротеиназ.

Поэтому углубленное изучение этиологии острого панкреатита, согласно правилам доказательной медицины, имеет не только теоретическое, но и практическое значение [147, 355-66]. Учитывая важную патогенетическую роль протеаз в развитии панкреатита, дальнейшие исследования развития ОП являются неотложными, поскольку недостаточно информации о статусе местного потенциала ингибирования протеаз при панкреатите. Этот результат может послужить основой для разработки новых, этиологически обоснованных и эффективных методов диагностики и лечения острого панкреатита.

В ходе исследования мы обнаружили, что имитация острого панкреатита у крыс активирует неспецифические протеолитические ферменты на системном и местном уровнях. Кроме того, уровень локальных изменений более выражен. Подтверждены подходы к улучшению лечения острого панкреатита, которые могут быть основаны на местном использовании препаратов с антипротеазными механизмами воздействия и возможном использовании ингибиторов протеазы с преимущественно антирастворяющими механизмами действия.

Заключение по 4 главе

Активация матричных металлопротеаз-1 и -9 на фоне сниженной продукции антагониста TIMP-1 играет важную роль в механизме острого панкреатита. В некоторых случаях ингибиторы матричных металлопротеиназ TIMP-1 и TIMP-3 демонстрируют анти- или про-апоптотические свойства, и соответственно, клеточная гибель в определенной степени может определяться состоянием их баланса.

Введение цитохрома C с сандостатином экспериментальным животным с острым панкреатитом может быть патологически оправданным, поскольку оно ингибирует исходно повышенную активность MMP-1 и -9 на фоне активации физиологического антагониста TIMP-1.

Данные, полученные в результате исследований содержания цитокинов, активности металлопротеазы и содержания ее ингибиторов, согласуются с литературными данными. Авторы обнаружили, что у пациентов с хроническим рецидивирующим панкреатитом на момент госпитализации были активированы как воспалительные цитокины, так и синтез протеолитического фермента матричных металлов. Оценка взаимосвязи между синтезом металлопротеаз и воспалительными цитокинами показала прямую корреляцию между уровнями продукции TNF- α и MMP-9 ($r = 0,87$, $p = 0,001$), уровнями продукции IL-1 β и MMP-9 ($r = 0,81$, $p = 0,001$). Повышенная продукция матричной металлопротеазы-9, которая вызывает увеличение синтеза воспалительных цитокинов TNF- α и IL-1 β , важна для механизма хронического рецидивирующего панкреатита. Включение антиоксиданта амексидола в лечение обострения хронического рецидивирующего панкреатита снижает продукцию MMP-9 на фоне увеличения синтеза физиологического антагониста TIMP-1, открывая возможность применения в комплексном лечении пациентов с хроническим рецидивирующим панкреатитом. [4, 140-143].

Содержание факторов апоптоза при развитии острого панкреатита и влиянии цитохрома с

Изменение содержания факторов апоптоза при развитии острого панкреатита

Острый и хронический панкреатит является наиболее частым желудочно-кишечным заболеванием, в патогенезе развития которого особую роль играет апоптоз. Нарушение регуляции клеточной гибели лежит в основе многих аутоиммунных заболеваний. Чтобы понять механизм возникновения заболевания, важно определить молекулярный механизм, генетический контроль и регуляцию процесса апоптоза. Апоптоз зависит от активности ферментов иммунной и цитокиновой систем, что необходимо учитывать при назначении патогенетической терапии пациентам с острым панкреатитом.

Основными патологическими признаками ОП считаются смерть из-за сиротливых милиумов, ранняя внутripеченочная активация пищеварительных ферментов, накопление больших вакуолей в гепатоцитах, активация медиаторов воспаления, саморазрушение клеток и некроз гепатоцитов. Митохондриальная дисфункция, возникающая при остром панкреатите, сопровождается нарушением синтеза АТФ и развитием апоптоза и некроза [29, 6-10].

Митохондриальная и лизосомальная дисфункция является этиологической основой ОП и снижает жизнеспособность панкреатических клеток. Митохондриальная и лизосомальная дисфункция затем инициирует апоптоз, некроз, активацию трипсиногена и вакуолизацию клеток железы. Необходимы дальнейшие исследования для разработки терапевтических стратегий, направленных на митохондрии и лизосомы. [29, 6-10].

В настоящее время [31, 1344–1360; 77, 1613-1627] выделяют около 15 вариантов программированной клеточной гибели (ПКГ), среди которых одним

из наиболее распространенных и хорошо изученных является апоптоз. Рассмотрены механизмы индукции апоптоза с участием плазматической мембраны и таких мембранных органелл, как митохондрии, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, лизосомы и ядро. В этих процессах важным является нарушение проницаемости митохондриальной мембраны и/или активация эффекторных каспаз. Эти события тесно связаны между собой и служат центральным местом интеграции путей апоптотической гибели клетки.

Одной из функций цитохрома с в живых клетках, по-видимому, является катализ перекисного окисления липидов внутренних мембран митохондрий, приводящего к гибели клетки, для чего цитохром с, связанный с кислыми липидами, такими как кардиолипин, играет ключевую роль. Комплекс цитохрома с и кардиолипина образуется в результате связывания молекул цитохрома с с поверхностью мембраны электростатическими взаимодействиями, а дальнейшие гидрофобные взаимодействия вводят одну или две жирнокислотные цепи кардиолипина в сферу белка, разрывая координационную связь $>Fe-S$ (Met80) и выражая с и пероксидазную активность. Цитохром с образует сферические наночастицы вместе с кардиолипином, а белок окружен одним слоем молекул кардиолипина. Под влиянием кооперации белки внутри сфер значительно увеличиваются в объеме, искажают форму и приобретают пероксидазные свойства. В расширенных мембранах, таких как гигантские монослойные липосомы, а в некоторых случаях даже в биологических мембранах, образование комплексов цитохром с-кардиолипин-наносфера приводит к слиянию мембранных доменов, вызывая резкий хаос в общей структуре мембраны. Затем, когда целостность внешней мембраны митохондрий нарушается,

цитохром с высвобождается из митохондрий и начинается серия реакций запрограммированной клеточной смерти [11, 1391-1404].

Результаты исследования содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови в динамике развития экспериментального острого панкреатита приведены в таблице 5.1.1.

Таблица 5.1.1

Изменение содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови в динамике развития экспериментального острого панкреатита, n=6-8

Показатели	Интактная группа	Ложно оперированная группа	ОП 7 дней	ОП 10 дней
Цитохром <i>c</i> (нг/мл)	4,9±0,18	5,55±0,17	9,0±0,43	20,0±0,58
P53 Е/мл	47,0±0,14	62±1,26	190,0±2,83	249,3±2,03

Примечание: Во всех случаях $P < 0,05$ по сравнению с интактной группой

Как видно из данных таблицы 5.1.1, содержание цитохрома *c* у животных ложнооперированной группы по сравнению с интактной группой увеличивается на 13,3%. На 7 и 10-дни развития острого панкреатита увеличение содержания цитохрома *c* составило 1,8 и 4,01 ($P < 0,05$) раз соответственно по сравнению с интактной группой. развития структурных изменений на фоне тяжелой бактериальной интоксикации.

Начиная с 10-го дня от начала экспериментального острого панкреатита, экспрессия цитохрома увеличивается в отсутствие метаболизма,

что указывает на усиление апоптотических процессов на фоне высокого уровня атрофии и некроза. [95, 47-54].

Белок p53 является продуктом гена-супрессора опухоли p53 и экспрессируется во всех клетках организма. p53 - это фактор, который запускает транскрипцию группы генов и активируется при накоплении повреждений ДНК. В результате активации p53 нарушается клеточный цикл и репликация ДНК, а сильные сигналы стресса запускают апоптоз [3, 9-13]. p53 способен не только активировать гены, участвующие в индуцировании апоптоза посредством транскрипционной функции, но также непосредственно участвует в индукции митохондриальных путей апоптоза. Активируемый всеми видами стресса, p53 проникает в митохондрии и взаимодействует с анти- и проапоптотическими белками семейства Bcl (BclXL/Bcl2 и Bax соответственно). Эти взаимодействия приводят к повреждению проницаемости внешней митохондриальной мембраны, утечке цитохрома C и индукции апоптоза.

Содержание P53 у ложнооперированных животных по сравнению с интактной группой увеличилось на 31,9%. При развитии острого панкреатита мы наблюдали резкое увеличение содержания P53 на 7, особенно, на 10 день развития острого панкреатита, оно было равно 4,04 и 5,3 ($P < 0,05$) раза соответственно по сравнению с интактной группой.

Прогрессирование многих заболеваний и тяжесть их последствий в конечном счете определяются особенностями вторичных неспецифических нарушений обмена веществ, степенью нестабильности клеточных мембран, способностью реактивировать структурные и ферментативные белки в условиях гипоксии. В частности, когда цитохром C теряется в митохондриях, способность митохондрий к фосфорилированию снижается и совместный процесс окислительного фосфорилирования и дыхания прекращается. [93, 60-63; 32, 7-10].

Таким образом, при развитии острого панкреатита из-за нарушения проницаемости митохондриальной мембраны и активации каспаз происходит

усиление апоптоза, более выраженное усиление данного процесса на установлено на 10-е сутки развития острого панкреатита.

§5.2. Влияние цитохрома *c* на содержание факторов апоптоза при остром экспериментальном панкреатите

В последние годы увеличилась заболеваемость острым панкреатитом и возросла смертность пациентов с панкреонекрозом. Считается, что причиной панкреонекроза является дисфункция митохондрий и лизосом, приводящая к снижению жизнеспособности клеток поджелудочной железы. Затем митохондриальная и лизосомальная дисфункция запускает процессы апоптоза, некроза, активации трипсиногена и вакуолизации клеток железы. Дальнейшие исследования важны для разработки терапевтических стратегий в отношении митохондрий и лизосом. [29, 6-10.].

Учитывая то, что нарушение функции митохондрий составляет патогенетическую основу острого панкреатита мы в своих исследованиях для коррекции выявленных нарушений использовали цитохром *c*. Результаты исследования содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови после лечения животных острым панкреатитом цитохромом *c* приведены в таблице 5.2.1.

Таблица 5.2.1

Изменение содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови после лечения животных острым панкреатитом цитохромом *c*, n=6-8

Показатели	Интактная группа	ОП 7 дней		ОП 10 дней	
		До лечения	После лечения цитохромом	До лечения	После лечения цитохромом

			м с		ом с
Цитохром с (нг/мл)	4,9±0,18	9,0±0, 43	7,05±0,5	20,0 ±0,58	13,45±1, 1
P53 Е/мл	47,0±0,14	190,0 ±2,83	141,8±2,6 6	249, 3±2,0 3	168,5±2, 53

Примечание: Во всех случаях $P < 0,05$ по сравнению с интактной группой

Как видно из данных таблицы 5.2.1, лечение цитохромом *c* животных с 7 дневным острым панкреатитом приводит к уменьшению содержания цитохрома *c* в сыворотке крови по сравнению с данными до лечения на 21,7%. Необходимо отметить, что у леченных животных содержание цитохрома *c* на 43,8% выше по сравнению с интактной группой.

Лечение животных с 10 дневным острым панкреатитом показало, что введение цитохрома *c* снижает содержание цитохрома *c* в сыворотке крови на 32,75 и 274,5% по сравнению с нелеченной и интактной группами соответственно. Это свидетельствует об улучшении метаболических процессов, уменьшении выраженности дистрофических, некробиотических и некротических процессов, восстановлении детоксикационных и катаболических функций у животных с острым панкреатитом. Предположительно, возникшие изменения повторяют благоприятный ответ на добавление цитохрома *c*.

Исследование влияния цитохрома *c* на содержание P53 в сыворотке крови у животных с 7- и 10-дневным панкреатитом показало уменьшение его 25,4 и 32,4% соответственно по сравнению с нелечеными животными.

Таким образом, экзогенное введение цитохрома *c* животным с 7- и 10-дневным панкреатитом приводит к снижению содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови, что указывает на уменьшение процесса апоптоза после лечения цитохромом *c*.

Для лечения животных острым панкреатитом мы применили сандостатин, так как он взаимодействуя с рецепторами в желудочно-кишечном тракте, оказывает сильное угнетающее действие на секрецию желудка и поджелудочной железы посредством блокады ацинарных клеток [35, 63-66].

Изучение действия сандостатина на содержание цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови показало (таблица 5.2.2), у животных с 7- и 10-дневным панкреатитом их содержание снижается на 10,2 и 20; 9,5 и 27,6% соответственно. Эти приведенные данные указывают на более выраженный противоапоптотический эффект цитохрома *c* при введении его в течение 10 дней животным острым панкреатитом.

Таблица 5.2.2

Изменение содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови после лечения животных острым панкреатитом сандостатином, n=6-8

Показатели	Интактная группа	ОП 7 дней		ОП 10 дней	
		До лечения	После лечения сандостатином	До лечения	После лечения сандостатином
Цитохром <i>c</i> (нг/мл)	4.9±0,18	9,0±0,43	8,09±0,46	16,0±0,75	10,71±1,2
P53 Е/мл	47,0±0,14	190,0±2,83	172,0±5	249,3±2,03	180,5±3,7

Примечание: Во всех случаях $P < 0,05$ по сравнению с интактной группой

Результаты исследования совместного введения цитохрома *c* и сандостатина животным острым панкреатитом приведены в таблице 5.2.3.

Таблица 5.2.3

Изменение содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови после лечения животных острым панкреатитом цитохромом *c*, n=6-8

Показатели	Интактная группа	ОП 7 дней		ОП 10 дней	
		До лечения	После лечения цитохромом <i>c</i> и сандостатином	До лечения	После лечения цитохромом <i>c</i> и сандостатином
Цитохром <i>c</i> (нг/мл)	4,9±0,18	9,0±0,43	6,02±0,72	20,0±0,58	9,3±0,78
P53 Е/мл	47,0±0,14	190,0±2,83	127,0±3,66	249,3±2,03	100,9±2,337

Примечание: Во всех случаях $P < 0,05$ по сравнению с интактной группой

Как видно из данных таблицы 5.2.3, совместное введение цитохрома *c* и сандостатина животным с 7- и 10-дневным острым панкреатитом приводит более выраженному снижению содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови по сравнению группами, которым отдельно вводили цитохром *c* и сандостатин.

Таким образом, острый панкреатит характеризуется усилением апоптоза, что проявляется увеличением содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови, особенно на 10 сутки эксперимента. Применение цитохрома *c* и сандостатина для коррекции выявленных изменений показал более выраженный корректирующий эффект цитохрома *c* по сравнению с сандостатином, более выраженный эффект установлен при совместном введении цитохрома *c* и сандостатина.

Исходя из прогрессивного понимания этиологического механизма острого панкреатита, роль системы цитокинов, наряду с другими механизмами гибели клеток, в развитии фатальных результатов болезненных процессов обладает

разрешающее значение. Однако, невзирая на значительный прогресс в изучении ОП, в настоящее время существует побольше вопросов, чем ответов о механизме возникновения заболевания. Подтверждена наиглавнейшая роль апоптоза в развитии острого панкреатита.

Последующие исследования воздействия апоптоза и корректоров на механизм происхождения острого панкреатита представляются источником к пониманию основания данного заболевания, раннему прогнозированию прогрессирования и исхода заболевания и созданию новых способов лечения.

ГЛАВА VI. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика поджелудочной железы и печени при экспериментальном панкреатите и его коррекции цитохромом с

В последнее время наблюдается существенное увеличение заболеваемости острым и хроническим панкреатитом [30, 223; 33, 181; 76, 258]. Поэтому изучение механизмов поражения ткани поджелудочной железы, значение процесса апоптоза, его ферментного и цитокинового механизмов развития необходимо учитывать при патогенетической терапии пациентов с острым панкреатитом [29, 6-10]. В лечении и профилактике острого и хронического панкреатита большое внимание необходимо уделять исследованию роли апоптоза клеток поджелудочной железы. Этот процесс занимает ведущее место в поддержании гомеостаза, сохранении клеточного обновления как в физиологических, так и патологических состояниях [11, 1391-1404; 77, 1613-1627]. Его, значение апоптоза заключается в том, что в каждом органе одновременно происходит пролиферация и созревание функционально активных клеток и параллельно процессы селекции. При альтерации или воспалении процесс апоптоза активизируется. Сигналы, его индуцирующие, разнообразны.

Результаты морфологических исследований ткани поджелудочной железы на 7-ой день после моделирования острого панкреатита показали наличие очагов некробиоза и некроза паренхиматозных элементов железы в виде беструктурной массы. При этом поражаются и экзокринные ацинусы, и эндокринные островки (рис 6.1). При этом некротизированные участки представлены беструктурной массой, состоящей из гомогенного эозинофильно окрашенного белкового вещества, в толще которого определяются единичные клеточные структуры с признаками апоптоза. Участок некроза окружает интерстициальная соединительная ткань в которой имеются воспалительные клетки из лейкоцитов, лимфоцитов и макрофагов. Сосуды интерстиция резко расширены, полнокровны, стенка их истончена с диапедезными кровоизлияниями.

Экзокринные ацинусы разрыхлены за счет сильного отека межклеточного вещества, в клетках ацинусов нарушена гистотопографию - сморщивание ядра в виде апоптоза, вакуолизация цитоплазмы и деформация ацинарного расположения клеток.

На 10-ый день эксперимента отмечается дистрофия, деструкция эпителиальных клеток экзокринного ацинуса. Гистотопография ацинусов разрушена, железистые эпителиальные клетки расположены беспорядочно. Ядра их - разной формы и величины, в большинстве из них определяются признаки апоптоза. Ядерный хроматин гиперхромизирован с беспорядочным расположением скоплений гетерохроматина и неравномерностью кариоплазмы. Одни ядра без цитоплазмы, фрагментированны, другие - распавшиеся на части, которые расположены в межклеточном пространстве (рис 6.2). Перечисленные морфологические изменения в цитоплазме и ядре характерны для апоптоза эпителия ацинусов при остром панкреатите.

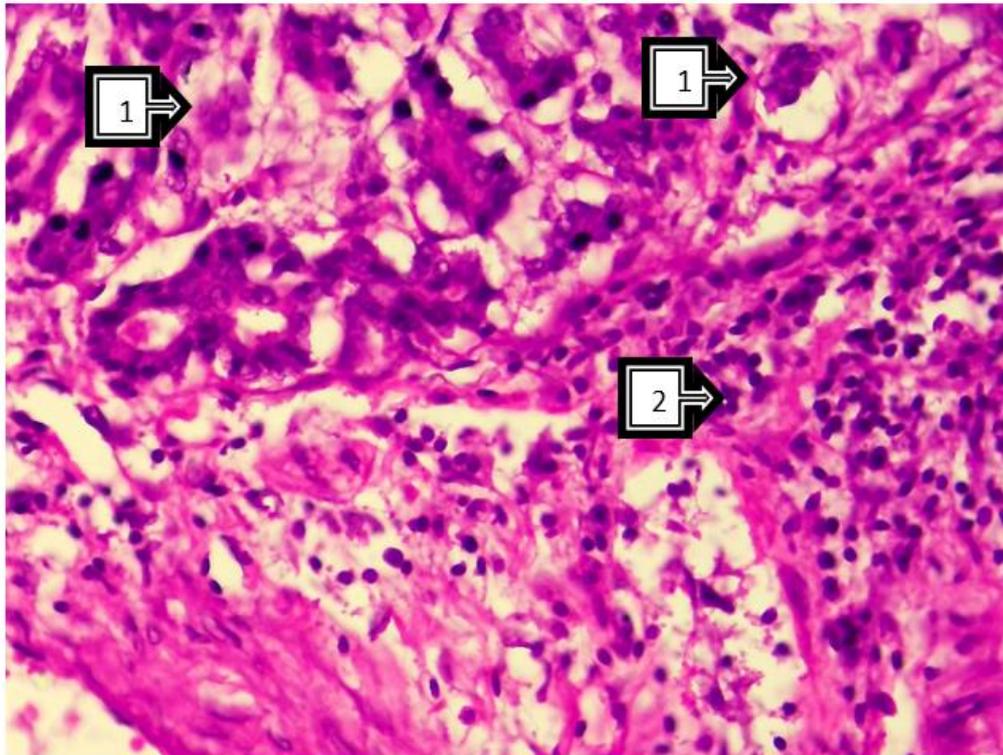


Рис 6.1. Экспериментальный панкреатит, 7-ой день. Экзокринные ацинусы и эндокринные островки подвергнуты распаду и некрозу (1). Вокруг интерстиция лейкоцитарная инфильтрация (2). Окраска: Г-Э. Ув: 10x40.

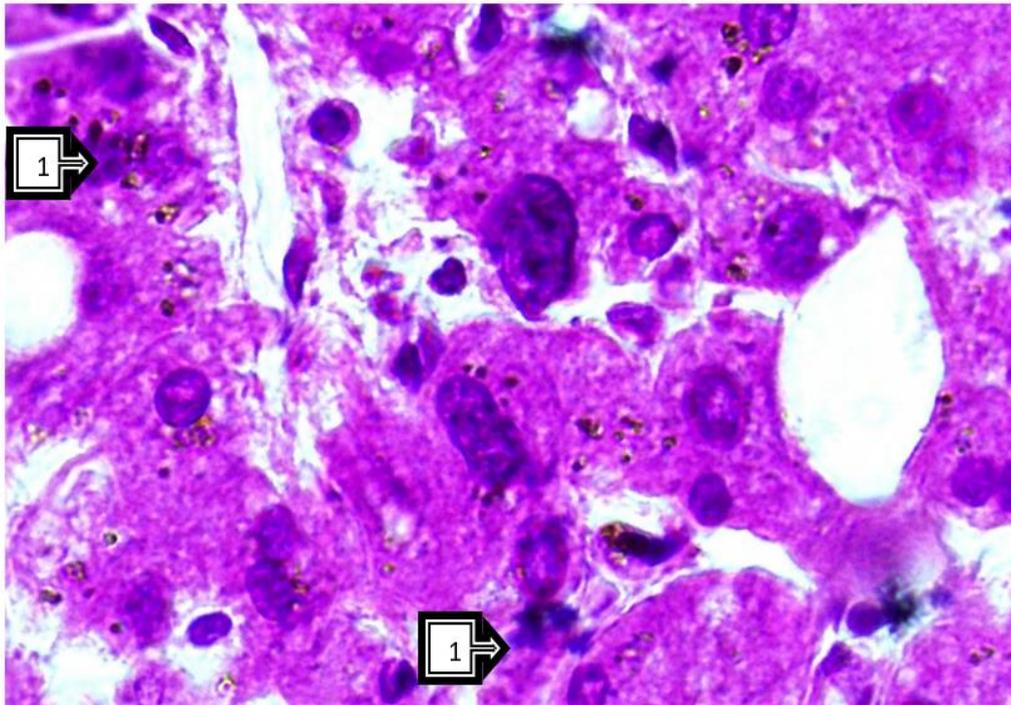


Рис 6.2. Экспериментальный панкреатит, 10-ый день. Появление признаков апоптоза в эпителии экзокринных желез (1). Окраска: Г-Э. Ув: 10x100.

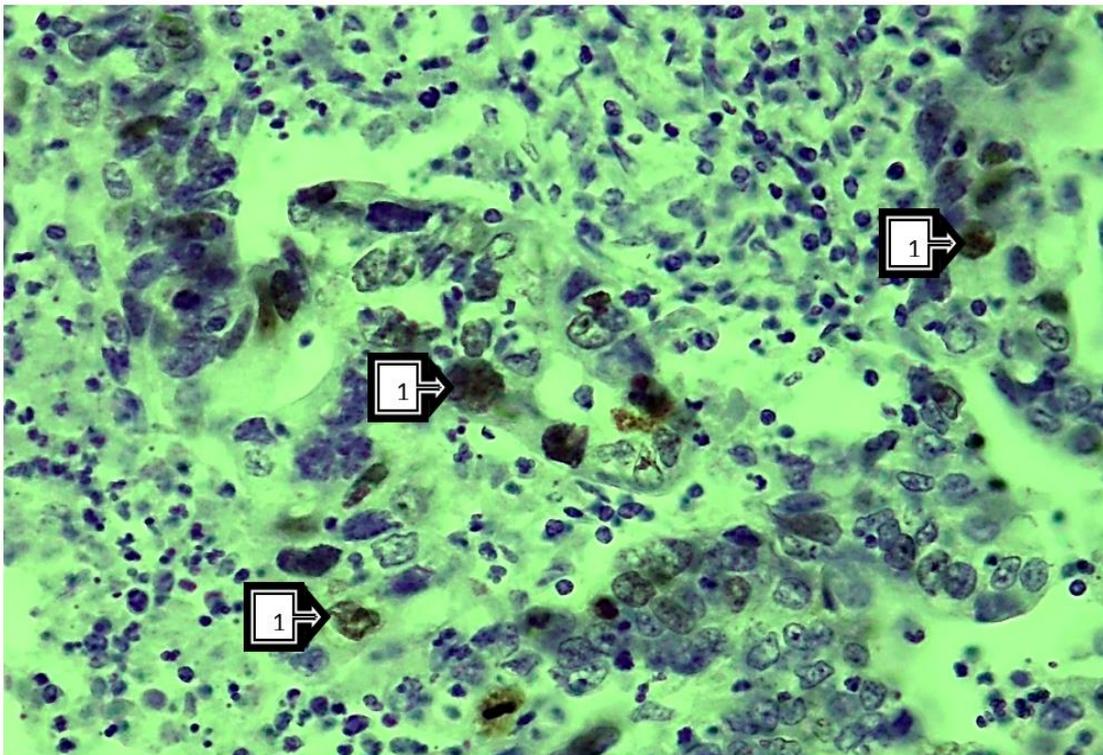


Рис 6.3. Экспериментальный панкреатит, 7-ой день. Положительная экспрессия маркера Ki-67 в ядрах отдельных эпителиальных клеток экзокринной части железы (1). Окраска: Даб хромоген Ki-67. Ув: 10x100.

На 7-ой день развития панкреатита иммуногистохимические исследования маркера белка Ki-67, определяющего пролиферативную активность клеток, показали в ядерных структурах части ацинарного эпителия положительную экспрессию данного маркера (рис 6.3). На этом фоне отмечено полное разрушение ацинусов экзокринной части железы, в межацинарной соединительной ткани диффузный воспалительный процесс. На 10-ый день экзокринный эпителий с положительной экспрессией маркера Ki-67 - в состоянии дистрофии и деструкции. Его ядра несколько гипертрофированы, объемная доля составляет в среднем 17,5% от общего объема эпителия экзокринной части железы.

Изучение роли антиапоптотических белков Bcl-2 при остром и хроническом панкреатите может дать ценную информацию для понимания механизмов поражения экзокринной и эндокринной частей железы. Известно, что механизм некротических и репаративных процессов зависит от соотношения генетически запрограммированных процессов апоптоза и антиапоптотической защиты. Антиапоптотическим действием обладают Bcl-2 белки, которые регулируют апоптоз двумя механизмами: митохондриальный путь и процесс активизации каспаз. В первом случае представители этого семейства влияют на проницаемость митохондриальной мембраны, осуществляя контроль за высвобождением цитохрома *c* из митохондрий. Активизация каспазного каскада запускается как с участием белков семейства Bcl-2, так и с присутствием в клеточном цитозоле цитохрома *c*. Экспрессия Bcl-2 усиливается при любом процессе с низким уровнем клеточной пролиферации. Таким образом, белок Bcl-2 способен тормозить клеточную пролиферацию, скорость дифференцировки и её созревание.

Результаты иммуногистохимического исследования Vcl-2 белка на 7-ой день эксперимента показали в эпителии экзокринной части положительную экспрессию белка Vcl-2: была определена в небольшой части клеток ацинуса в виде коричневого окрашивания цитоплазмы эпителия (рис 6.4).

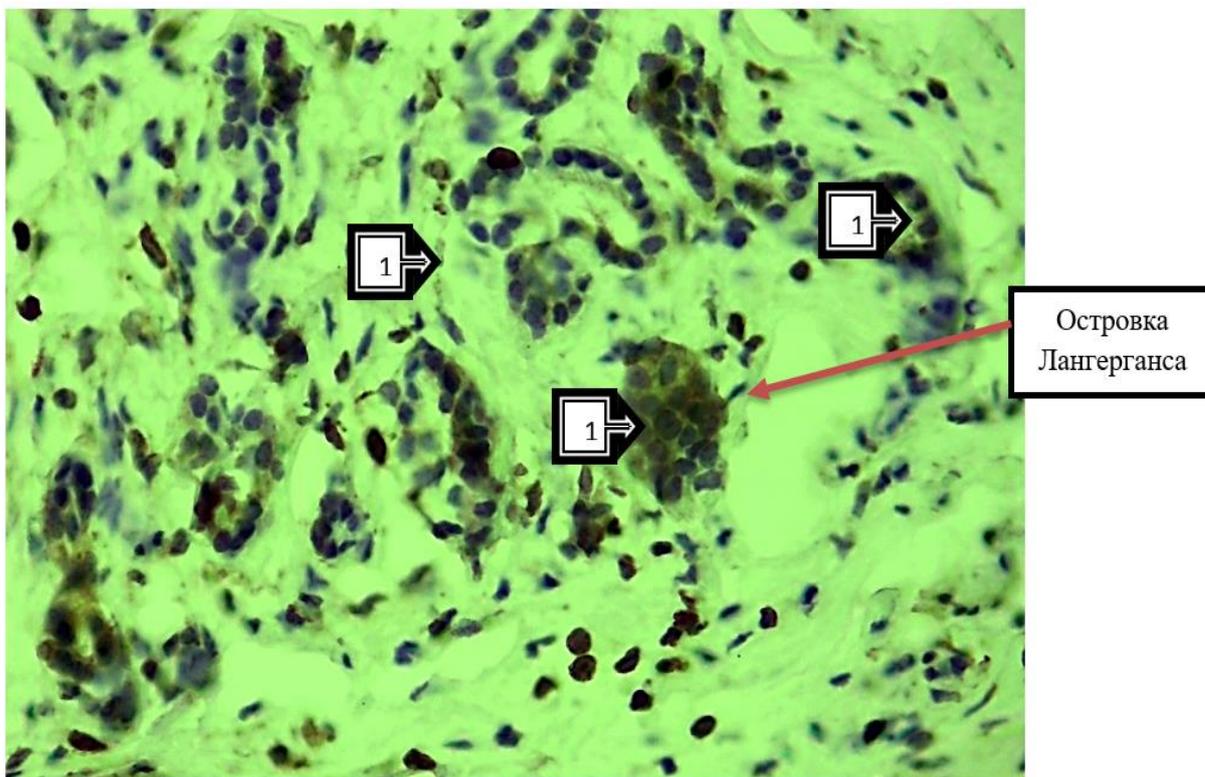


Рис 6.4. Экспериментальный панкреатит, 7-ой день. Экспрессия Vcl-2 белка в экзокринной и эндокринной частях поджелудочной железы (1). Окраска: Даб хромогенУв: 10x100.

Это свидетельствовало о блокировании процесса апоптоза в отдельных эпителиальных клетках и угнетении пролиферативной активности почти во всех клетках ацинуса. На 10-ой день исследования отмечена положительная экспрессия Vcl-2 белка в стромальных клетках. Видимо, подавление апоптоза контролирует процесс пролиферации, дифференцировки стромальных клеток, участвующих в процессе воспаления. В эндокринном островке отмечалась умеренная экспрессия Vcl-2 белка почти во всех клетках, что указывало на их воспалительные факторы.

Результаты иммуногистохимического исследования ткани печени на 7-ой день эксперимента показали, что экспрессия белка Ki-67 ткани печени, была

незначительной. Синусоиды и пространство Диссе расширены, экспрессия белка Ki-67 определяется в единичных гепатоцитах, расположенных в ядерных структурах и около ядерного пространства, в незначительной концентрации (рис 6.5). На 10-ой день исследования экспрессия белка Ki-67 определялась в виде пылевидного распределения слабо окрашенного в светло-коричневый цвет, местами имела мелко зернистый вид. Эти патоморфологические и иммуногистохимические проявления экспрессии белка Ki-67 указывали на незначительную пролиферативную активность гепатоцитов в ответ на экспериментальный панкреатит.

Результаты иммуногистохимического исследования Vcl-2 белка на 7-ой день эксперимента при остром панкреатите показали, что в ткани печени положительную экспрессию белка Vcl-2 в небольшой части гепатоцитов и клеток стенки синусоидов. (рис 6.6). Это указывает на блокирование процесса апоптоза в отдельных гепатоцитах и подавление пролиферативной активности, дифференцировку и созревание гепатоцитов. На 10-ый день исследования отмечена положительная экспрессия Vcl-2 белка в эндотелиальных и купферовских клетках стенки синусоидов. Подавление апоптоза параллельно совпадало с угнетением пролиферации, дифференцировки стромальных клеток, участвующих в процессе воспаления.

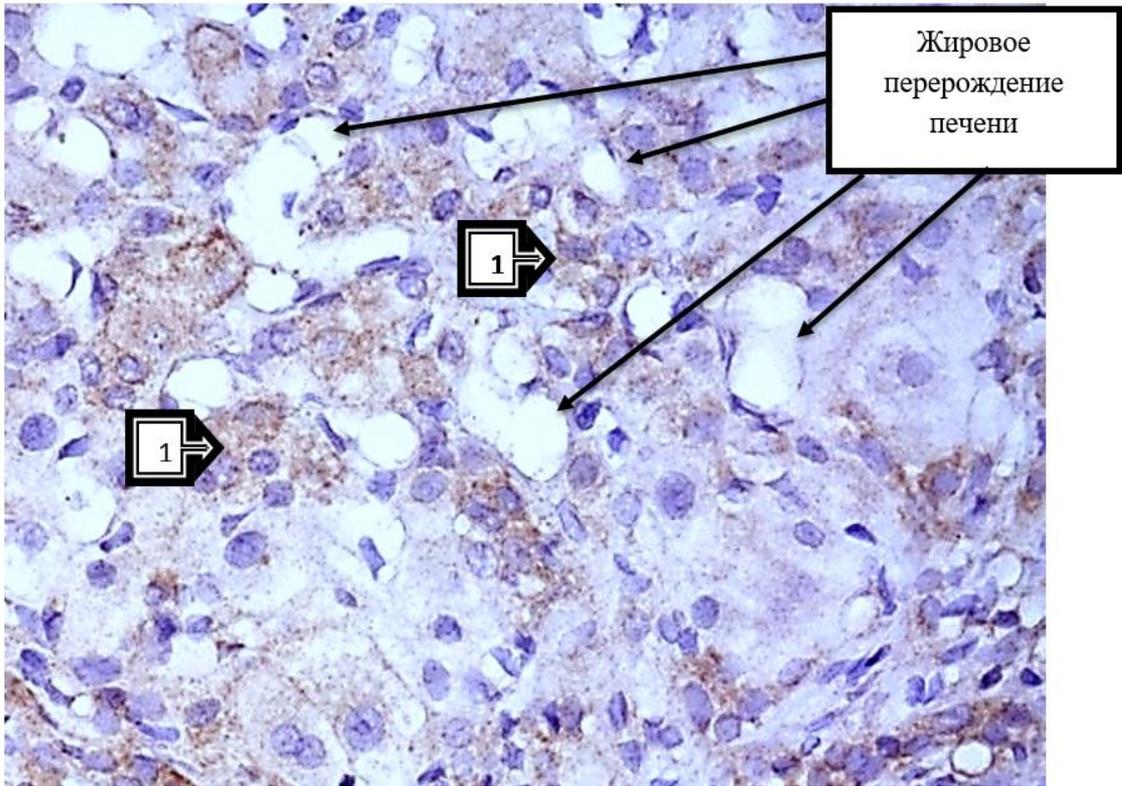


Рис 6.5. Экспериментальный панкреатит, 7-ой день. Печень, экспрессия белка Ki-67 в гепатоцитах. Окраска: Даб хромоген. Ув: 10x100.

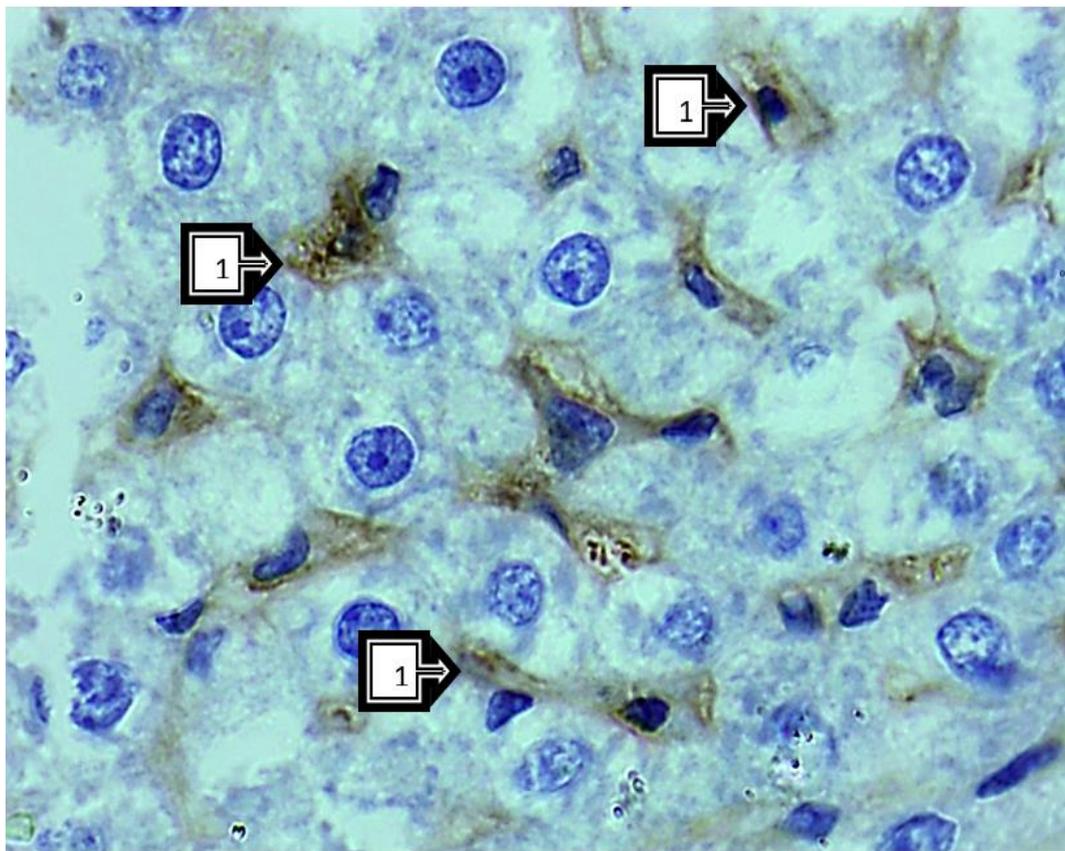


Рис 6.6. Экспериментальный панкреатит, 7-ой день. Печень, экспрессия Vcl-2 белка в гепатоци и в клетках стенки синусоидов (1). Окраска: Даб хромоген. Ув: 10x100.

После лечения животных с 7-дневным острым панкреатитом цитохромом *c* результаты морфологического исследования ткани поджелудочной железы показали некоторое стихание общих патологических процессов. Некробиотические и некротические очаги в ткани поджелудочной железы рассасывались, вместо них отмечалось разрастание воспалительной грануляционной ткани. В интерстициальной соединительной ткани сохранялось небольшое количество воспалительных клеток. Ацинусы экзокринной части железы были расположены беспорядочно с нарушением гистотопографии; между ними определялся сильный отек интерстиция. Отмечено, что грануляционно-тканевые прослойки состоят из отдельных пучков волокнисто-клеточных структур, между которыми определяется тонкостенные кровеносные сосуды с диапедезными кровоизлияниями. Воспалительные клетки проникают между ацинусами экзокринной части железы. Эпителий ацинусов-дистрофичен и отечен.

При изучении животных с 10-дневным панкреатитом после лечения цитохромом *c* определялось наличие ацинарных эпителиев с признаками апоптоза в виде концентрации ядерного хроматина, уплотнения матрикса цитоплазмы и равномерного гематоксилинового окрашивания кариоплазмы (рис 6.7). Кроме того регистрировали отсутствие межклеточной десмосомы, слияние цитоплазмы клеток друг с другом, очаговое расширение межклеточного пространства. Все эти признаки указывали на развитии некробиотических изменений в виде апоптоза.

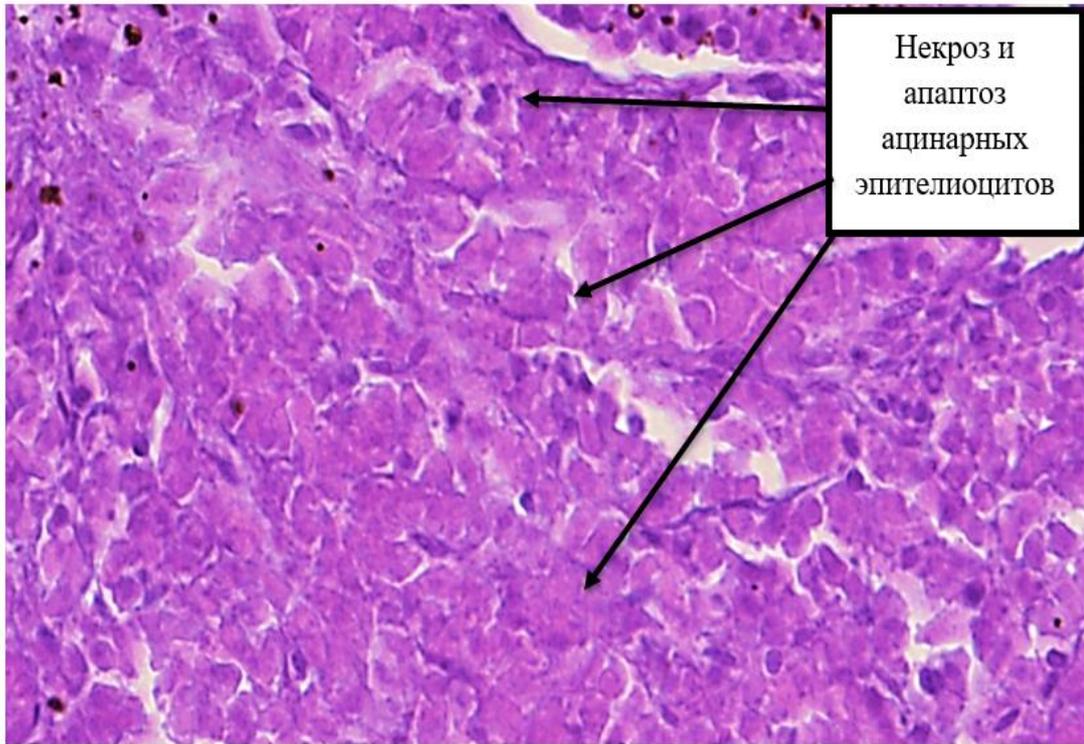


Рис 6.7. Экспериментальный панкреатит, 7-ой день, лечение цитохромом *c*. Некробиотические и апоптотические изменения экзокринной части железы (1). Окраска: Г-Э. Ув: 10x100.

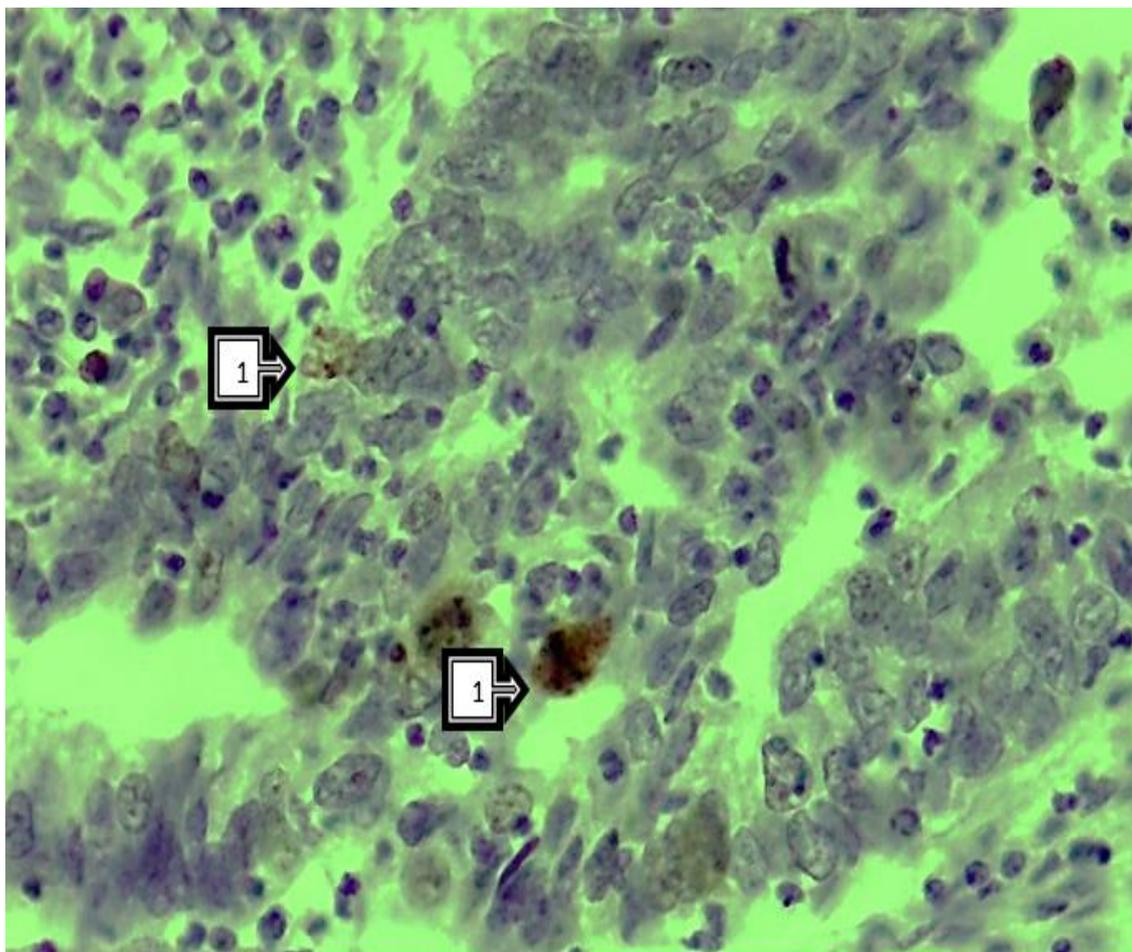


Рис 6.8. Экспериментальный панкреатит, 10-ый день, лечение цитохромом с. Более интенсивная положительная экспрессия белка Ki-67 в ацинарных эпителиальных клетках (1). Окраска: Даб хромоген. Ув: 10x100.

Иммуногистохимические исследования ткани поджелудочной железы у животных с 10-дневным острым панкреатитом после лечения цитохромом с показали, что в ядерных структурах ацинарных эпителиальных клетках положительную экспрессию маркера Ki-67 более выраженую темно-коричневым окрашиванием ядерных структур (рис 6.8). При этом выявлено полное разрушение ацинусов экзокринной части железы; межацинарная соединительная ткань диффузно воспалена. Экзокринный эпителий с положительной экспрессией маркера апоптоза Ki-67 в состоянии дистрофии и деструкции, ядра

эпителиоцитов несколько гипертрофированы, их объемная доля составляет 28,5% от общего объема эпителия экзокринной части железы.

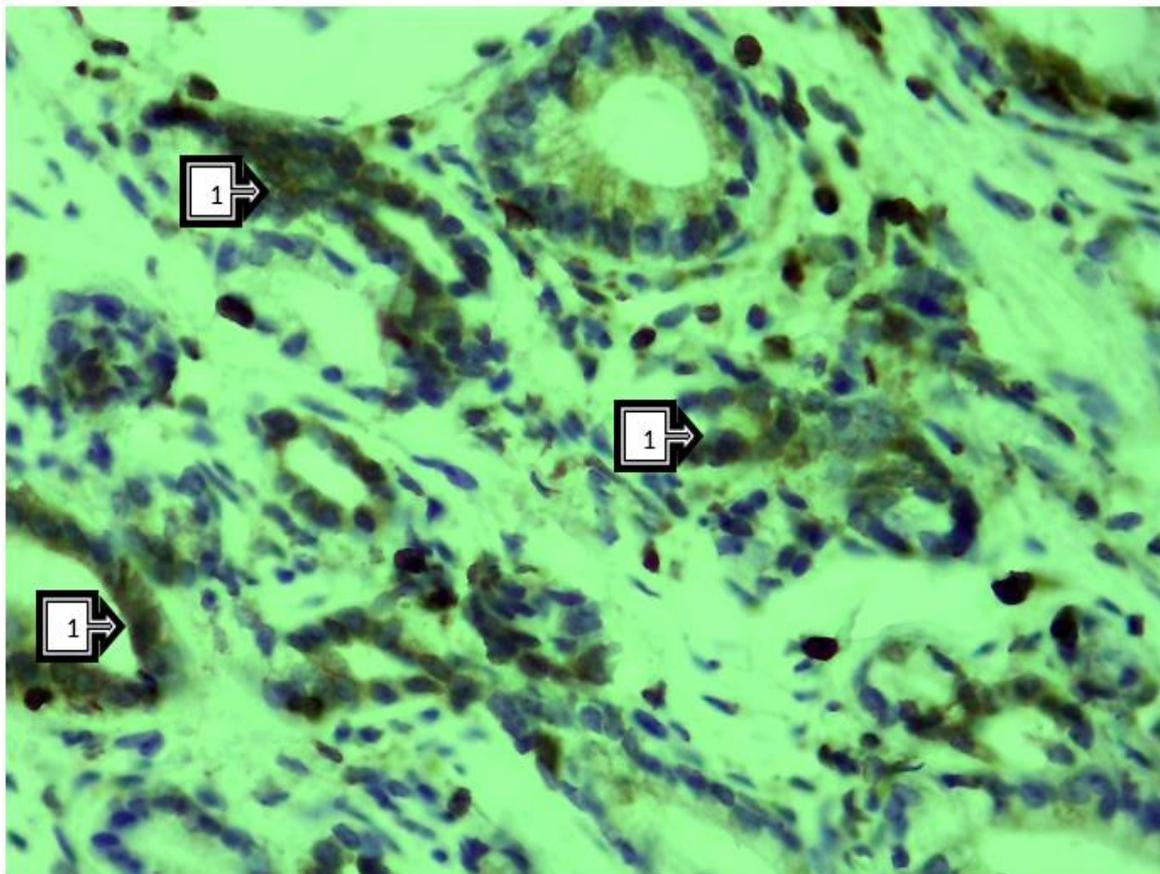


Рис. 6.9. Экспериментальный панкреатит, 7-ой день, лечение цитохромом *c*. Экспрессия Bcl-2 белка в клетках экзокринной и эндокринной частей железы (1).
Окраска: Даб хромоген. Ув: 10x100.

Мы провели иммуногистохимическое исследование антиапоптотического Bcl-2 белка у животных с 7-дневным острым панкреатитом после лечения цитохромом *c* оказалось, что в среди эпителия экзокринной части с положительной экспрессией белка Bcl-2 некоторое количество клеток было слабее окрашено в темно-коричневый цвет и в цитоплазме и ядерных структурах (рис 6.9). Это свидетельствует о снижении степени блокирования процесса апоптоза в отдельных эпителиальных клетках и повышении пролиферативной активности клеток ацинуса. Степень положительной экспрессии Bcl-2 белка в

стромальных клетках также снижалась. В эндокринной части поджелудочной железы отмечалась умеренная экспрессия Vcl-2 белка почти во всех эндокринных клетках, то есть эти клетки в той или иной степени были повреждены воспалительными факторами.

После лечения цитохромом *c* иммуногистохимическое исследование ткани печени у животных с 7-дневным экспериментальным панкреатитом после показало усиление экспрессии белка Ki-67, определяющего пролиферативную активность гепатоцитов. Это проявляется в виде значительной концентрации темно-коричневого пигмента в ядерных структурах и около ядерном пространстве. Такие патоморфологические и иммуногистохимические проявления экспрессии белка Ki-67 указывают на усиление пролиферативной активности гепатоцитов в ответ на панкреатит.

Результаты иммуногистохимического исследования антиапоптотического Vcl-2 белка у животных с 7-дневным экспериментальным панкреатитом после лечения цитохромом *c* показали в ткани печени положительную экспрессию белка в отдельных гепатоцитах и в клетках стромальных структур (рис. 6.10).

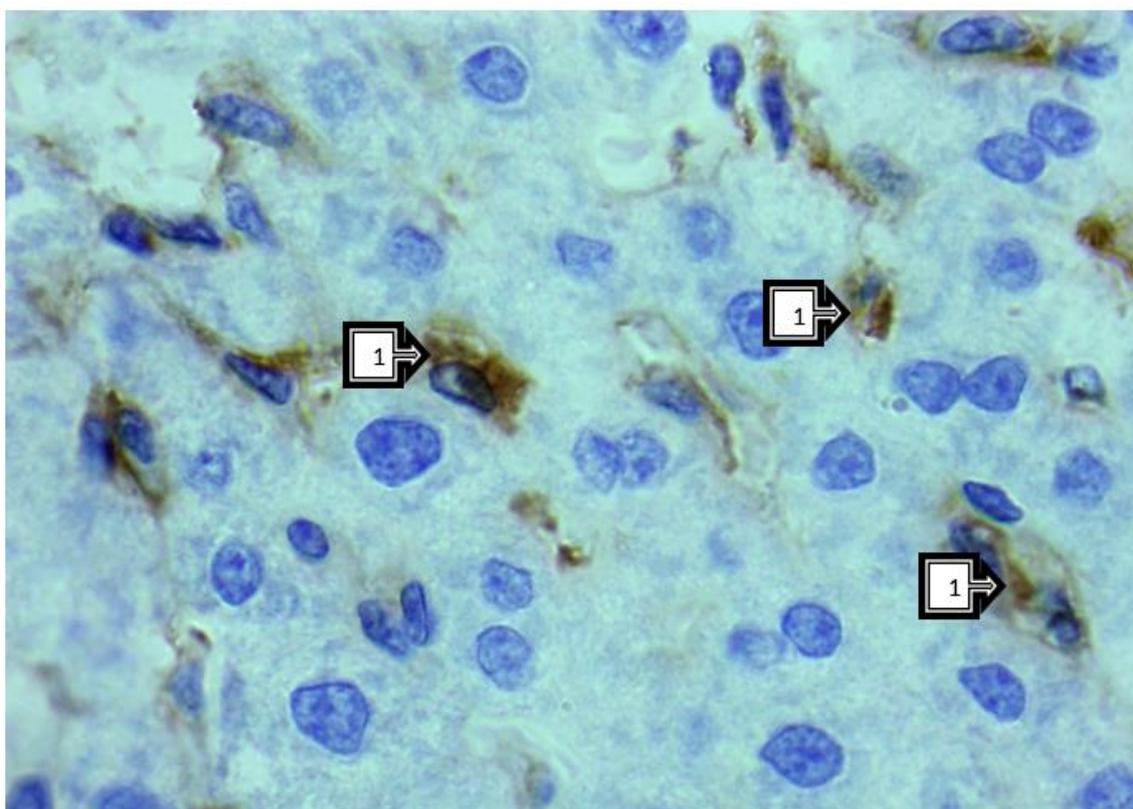


Рис 6.10. Экспериментальный панкреатит, 7-ой день, лечение цитохромом *c*. Экспрессия Bcl-2 белка в ткани печени. Окраска: Даб хромоген. Ув: 10x100.

Что свидетельствует об ослаблении блокирования апоптоза в отдельных гепатоцитах и усилении пролиферации, дифференцировки и созревания гепатоцитов. Эти процессы совпадали с аналогичными в стромальных клетках, участвующих в процессе воспаления.

Таким образом, общеморфологическое исследование ткани поджелудочной железы при экспериментальном панкреатите показало наличие признаков апоптоза клеток в экзокринной и эндокринной части железы. Слабая положительная экспрессия белка Ki-67 в клетках ацинарной частях железы и эндокринных клетках указывало на снижение пролиферативной активности этих клеток. Более высокая степень экспрессии Bcl-2 белка в эпителии экзокринной части и эндокринных клетках свидетельствует об угнетении процесса апоптоза при экспериментальном панкреатите. Более выраженная положительная экспрессия белка Ki-67 в клетках ацинарной части железы и эндокринных клетках является следствием усиления пролиферативной активности этих клеток после лечения цитохромом *c*. Понижение степени экспрессии Bcl-2 белка в эпителии экзокринной части и эндокринных клетках также указывало на активизацию апоптоза после лечения цитохромом *c*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Частота острого панкреатита (АП) составляет около 40 случаев на 100 000 взрослых в год, при этом тяжелые случаи достигают примерно 10-20%. Смертность от ОП составляет около 30%, а в тяжелых случаях она может достигать 80%. Тяжелые случаи характеризуются высокой частотой развития местных гнойно-некротических и системных панкреатогенных осложнений» [125, 251-259]. Заболеваемость острым панкреатитом в Соединенном Королевстве оценивается в 100-250 случаев на миллион населения в год. Изучение эпидемиологических особенностей ОП в регионах Ферганской долины рост частоты заболеваемости с 9 (2009-2013 гг.) до 13,3 случая на 100 тыс. населения (2014-2018 гг.), при этом уровень этого показателя оказался относительно ниже общестатистических данных в мире 13-45 на чел. 100 тыс. населения [142, 660-667].

Некоторые американские исследователи, указывают, что среди больных, страдающих заболеваниями желудочно-кишечного тракта, большинство приходится на пациентов с острым панкреатитом. Острый панкреатит является актуальной проблемой экстренной хирургии органов брюшной полости. Несмотря на совершенствование разнообразных консервативных и хирургических методов лечения данной серьезной патологии, смертность по-прежнему достаточно возвышенна - от 7 до 15%, а при деструктивных формах - от 40 до 70%. Распространённость острого и хронического панкреатита в большинстве случаев зависит от возраста и пола пациента. Он часто вызывается желчно-каменной болезнью или чрезмерным употреблением алкоголя. Не решен ряд важных вопросов, касающихся клинических особенностей классификации, лечения и прогноза острого панкреатита, а также вариантов лечения его осложнений, включая псевдокисты поджелудочной железы.

Известно, что основной причиной острого билиарного панкреатита (АД) является закупорка оттока желчи в дистальном отделе желчного пузыря и главным образом на уровне большого дуоденального сосочка. После этого происходит регургитация в проток поджелудочной железы и, как следствие, ОП на фоне внутримышечной активации ферментов поджелудочной железы. V [38, 328; 145, 162; 59, 320; 60, 143]. Непосредственно изучая возникновение острого панкреатита, мы сталкиваемся с разнообразными теориями, поясняющими механизм заболевания. Ключевыми факторами представляются теория "общих каналов" и сосудистая гипертензия, сосудистая, невротическая, травматическая, инфекционно-аллергическая, вирусная, аутоиммунная, метаболическая и т. Было обнаружено, что превращение трипсиногена в трипсин активирует проэнзим и внутрипеченочные клетки на самых ранних стадиях заболевания. Согласно экспериментальным данным, гибель клеток запускается в течение 15 минут после начала панкреатита [23, 107].

На активацию трипсиногена и его превращение в трипсин может влиять катепсин В, протеаза, присутствующая в лизосомах железистых клеток. Его активность повышается при остром панкреатите [23, 107; 110, 69-77].

Во время развития острого панкреатита содержание активного трипсина в железистых клетках и железистых клетках, подвергшихся некрозу, снизилось почти на 50%. Когда повреждение поджелудочной железы опускается ниже порогового уровня, возникает системный ответ, независимо от первоначальной активации трипсиногена и/или степени повреждения клеток железы. Независимо от степени активации трипсиногена, апоптоз клеток железы, согласно гипотезе, зависит от агрессивности причинного фактора. Эта точка зрения подтверждается тем фактом, что при панкреатите различной степени тяжести наблюдается разная степень вовлечения в апоптоз железистых клеток.

При остром панкреатите бесклеточный некроз сопровождается нарушением целостности клеточной мембраны. Это запускает аутолиз поджелудочной железы. При апоптозе клеточная мембрана остается неповрежденной, поэтому ферменты не воздействуют на паренхиму. Эта гипотеза подтверждается многочисленными экспериментальными исследованиями о том, что клеточная гибель железистых клеток более выражена при легком отечном панкреатите, а некроз более выражен при тяжелом деструктивном панкреатите [23, 107].

При остром панкреатите апоптоз желез сопровождается стимуляцией апоптоза и экспрессией антиапоптозных генов p53, bax и BclXL. В этом процессе участвуют различные медиаторы, которые опосредуют регуляцию молекулярного механизма апоптоза [23, 107; 148, 45 - 49].

Было показано, что активация фосфолипазы A2 в сыворотке крови связана с тяжестью заболевания при остром панкреатите. Эта активность также обусловлена ферментами II типа с функцией белков острой фазы. Она играет роль в системной воспалительной реакции и является причиной системных осложнений острого панкреатита. [23, 107; 148, 45 - 49].

Цель нашей работы - изучить биохимические механизмы развития апоптоза при остром панкреатите и совершенствовать пути его коррекции. Для достижения данной цели определены несколько задач:

1. Изучить состояние цитокинового статуса в динамике развития острого экспериментального панкреатита и влияние цитохрома *c* в его лечении.
2. Исследовать активность металлопротеиназ и содержание их ингибиторов при остром экспериментальном панкреатите и влиянии цитохрома *c* на их нормализацию.
3. Изучить содержание факторов апоптоза при развитии острого панкреатита и результаты лечения цитохромом *c*.

4. Исследовать морфологию печени и поджелудочной железы в динамике развития ОП и влияние на неё цитохрома с.

В эксперименте приняли участие в общей сложности 120 половозрелых гибридных крыс-самцов. Эксперимент проводился в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях. Острый экспериментальный панкреатит р. Его индуцировали у мышей по методу Симовариана [82, 59-62]: локальным замораживанием поверхности поджелудочной железы хлористым этилом.

Степень повреждения поджелудочной железы определяли по активности амилазы крови. Исследования проводились через 7 и 10 дней после операции.

Роль интерлейкина (IL) в патогенезе панкреатита в последнее время широко обсуждается, и этиологически обоснованное лечение заболевания основано на целенаправленном ингибировании выработки интерлейкина.[15, 211-213; 48, 11-20; 65, 79-84; 66, 582- 599].

Широко сообщалось о роли IL в механизме воспалительных изменений в ткани поджелудочной железы (PJ) [8, 586-590; 22, 46]. В частности, интересно изучить уровни IL-1 как факторы, которые могут определять тяжесть панкреатита [16, 395-396; 22, 46; 64, 289 - 300; 143, 113-118].

Интерлейкин-2 играет ключевую роль в регуляции иммунного ответа благодаря своему широкому спектру биологических эффектов. IL - 2 усиливает выработку нескольких лимфокинов, клетками-мишенями которых являются Т- и В-лимфоциты, НК-клетки и макрофаги. Все эти медиаторы усиливают иммунный ответ за счет функциональной активации [41, 154; 104, 583-588].

IL-1 и TNF- α являются основными системными индукторами IL-6 и IL-8 у пациентов с ОП. Экспрессия цитокинов не ограничивается поджелудочной железой, но также распространяется на другие органы и системы. Цитокины способствуют накоплению лейкоцитарных клеток в воспалительных очагах и вызывают местную и системную экспрессию молекул адгезии.

Воспалительные цитокины индуцируют печеночную секрецию белков острой фазы, повышая проницаемость, пальпируемость и экстравазацию адгезированных лейкоцитарных клеток, и играют важную роль в системной экспрессии ОП и ПИД. [1, 31-34; 72, 359-364; 104, 583-588].

Мы установили, что на 7- и 10-ый дни развития острого панкреатита содержание интерлейкина -1, -6 и TNF-альфа достоверно повышается по сравнению с интактной группой, а содержание интерлейкина-2, наоборот, снижается в 1,8 и 2,9 раза, соответственно. ОП характеризовался снижением содержания интерлейкинов в сыворотке крови, особенно на 10-ый день эксперимента.

Несмотря на многочисленные исследования, механизмы иммунологической деградации АР остаются невыясненными и требуют дальнейшего изучения. Его влияние на такие сложные процессы, как регуляция клеточной гибели и активация специфических иммунных звеньев, несомненно, открывает возможности для улучшения терапии патогенеза острого панкреатита.

Лечение цитохромом с экспериментальных животных с острым панкреатитом позволило нормализовать дисбаланс цитокинов, особенно у животных с 10-дневным острым панкреатитом. Сандостатин также нормализовал содержание цитокинов при ОП. Сочетанное введение цитохрома с сандостатином более благоприятно корректирует цитокиновый статус, чем отдельное введение этих препаратов.

На 7- и 10-ый дни развития острого панкреатита цитохром с увеличивая содержание в 1,8 и 4 раза, соответственно по сравнению с интактной группой. Острый панкреатит характеризовался резким увеличением содержания Р53 на 7-ой, особенно, на 10-ый день развития острого панкреатита.

Лечение цитохромом *c* животных с 7-дневным острым панкреатитом снизило содержание цитохрома *c* в сыворотке крови по сравнению с исходным показателем на 21,7%. Необходимо отметить, что у леченых животных содержание цитохрома *c* на 43,8% превышало норм. Экзогенное введение цитохрома *c* животным с 7- и 10-дневным панкреатитом привело к снижению содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови, что указывает на снижение процесса апоптоза после лечения цитохромом *c*.

Острый панкреатит характеризовался усилением апоптоза, что проявилось увеличением содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови, особенно на 10 сутки эксперимента. Применение цитохрома *c* и сандостатина показал более выраженный корригирующий эффект цитохрома *c* по сравнению с сандостатином, наибольший эффект установлен при совместном введении цитохрома *c* и сандостатина.

Матриксные металлопротеиназы (ММП) - это группа структурно родственных протеолитических ферментов, содержащих ионы цинка $2+$ в своих активных центрах; ММП гидролизуют все компоненты внеклеточного матрикса (ECM) различных клеток (фибробласты, макрофаги, сосудистые гладкомышечные клетки, нейтрофилы, хондроциты, остеокласты и т.д.), такие как коллаген, проколлаген, протеогликаны, эластин, фибронектин, ламинин, адгезины и другие белки соединительной ткани. Существует два основных способа регулирования активности ферментов в физиологических условиях. Существует взаимодействие между активацией фермента и специфическими тканевыми ингибиторами, т.е. тканевыми ингибиторами матриксных металлопротеаз (ТИМП), которые стехиометрически и избирательно связываются с проММП и активными ММП. В настоящее время хорошо изучены четыре ТИМП: Представители семейства TIMP могут регулировать пролиферацию и апоптоз клеток независимо от механизма ингибирования ММП, что может быть использовано в терапевтических целях.

ММП может реконструировать поврежденную воспалением ткань предстательной железы, например, регулируя функцию миофибробластов вокруг предстательной железы. Экспрессия ММП, особенно желатиназы и стромелицина, повышается при панкреатите, связана с тяжестью и осложнениями заболевания, снижается по мере улучшения состояния пациента.[140, 613–8; 179, 1118–1127].

Результаты наших исследований показали, что активность ММП-1 и ММП-9 у животных с острым панкреатитом на 7- и 10-й дни развития достоверно повышалась в 2,5 и 3, в 3,6 и 3,9 раза, соответственно, от нормы. Содержание ТИМП-1 в эти же сроки снижалось на 31,7 и 57%, соответственно. Эти данные указывают, но то что для острого панкреатита характерным является активизация матриксных металлопротеиназ и снижение содержания ТИМП-1, особенно на 10-й день развития патологического процесса.

Лечение цитохромом *c* угнетает активность ММП-1 и ММП-9 у животных с 7- и 10-дневным острым панкреатитом на 16,8 и 47,4 и на 20,6 и 35,7%, соответственно, от исходного. А при лечении сандостатином эти показатели снижались на 33,2 и 35,2 и на 15,5 и 33,8%. Сочетание сандостатина и цитохрома *c* еще более выражено подавляло активность ММП-1 и ММП-9, особенно у животных с 10-дневным панкреатитом. Сочетанное лечение экспериментальных животных способствовало повышению содержания ТИМП-1 (на $22,2 \pm 1,3$; $18,2 \pm 1,13$ и $22,2 \pm 1,3$; $20,5 \pm 1,63$) с 7- и 10-дневным ОП).

Следовательно, при остром панкреатите значительно активизируются матриксные металлопротеиназы и угнетается их ингибитор ТИМП-1, особенно на 10-ый день эксперимента. Включение в терапию ОП цитохрома *c* и сандостатина (особенно их совместное введение) нормализует исследуемые показатели. Как известно, ТИМП-1 является физиологическим антагонистом ММП-9 [123, 265–282.]. Эффективность комбинированного введения цитохрома *C* и ацидостатина животным с острым панкреатитом указывает на то, что с патологической точки зрения целесообразно назначать эти препараты в качестве

средства остановки воспалительного "каскада" путем ингибирования активности протеолитических ферментов субстратного металла.

Поэтому углубленное изучение этиологии острого панкреатита, согласно правилам доказательной медицины, имеет не только теоретическую, но и практическую ценность [159, 153-66]. Учитывая важную патогенетическую роль протеаз в развитии панкреатита, недостаточно данных о состоянии местного потенциала ингибирования протеаз при панкреатите, поэтому необходимы дальнейшие исследования по развитию ОП. Этот результат может послужить основой для разработки новых, этиологически обоснованных и эффективных методов диагностики и лечения острого панкреатита.

В ходе исследования, имитирующего острый панкреатит у крыс, мы обнаружили, что неспецифические протеолитические ферменты активируются на системном и местном уровнях. Кроме того, уровень местных расстройств более выражен. Обоснован подход к улучшению лечения острого панкреатита, который может быть основан на применении местных препаратов с антипротеазными механизмами действия и возможном применении ингибиторов протеазы с преобладающими антирастазными механизмами действия.

Общеморфологическое исследование ткани поджелудочной железы при экспериментальном панкреатите показало наличие признаков апоптоза клеток как экзокринной, так и эндокринной частей железы. Слабая положительная экспрессия белка Ki-67 в клетках ацинарной части железы и эндокринных клетках показало некоторое снижение пролиферативной активности этих клеток. Более высокая степень экспрессии Bcl-2 белка в эпителии экзокринной части и эндокринных клетках свидетельствует о подавлении процесса апоптоза при экспериментальном панкреатите. Более выраженная положительная экспрессия белка Ki-67 в клетках ацинарной части железы и эндокринных клетках указывает на пролиферативную активизацию этих клеток после лечения цитохромом с экспериментального панкреатита. Понижение экспрессии Bcl-2 белка в экзокринной части, и эндокринных клетках также явилось следствием усиления

процесса апоптоза после лечения цитохромом с экспериментального панкреатита.

ВЫВОДЫ

Результаты исследования на тему: «Биохимические механизмы развития апоптоза при остром панкреатите и пути его коррекции» позволяет сделать определенные выводы:

1. Острый панкреатит характеризуется изменением содержания интерлейкинов в сыворотке крови, особенно на 10-й день эксперимента, на 7 и 10 дни развития острого панкреатита содержание интерлейкина -1, -6 и TNF-альфа достоверно повышается по сравнению с интактной группой, а содержание интерлейкина-2, наоборот, снижается в 1,8 и 2,9 раза соответственно. Сочетанное введение цитохрома с сандостатином оказывает более благоприятное корригирующее влияние на цитокиновый статус, чем отдельное введение этих препаратов экспериментальным животным с острым панкреатитом.

2. Острый панкреатит характеризовался усилением апоптоза, что проявилось увеличением содержания цитохрома *c* и P53 в сыворотке крови, особенно на 10 сутки эксперимента. Применение цитохрома *c* и сандостатина для коррекции выявленных изменений показал более выраженный корригирующий эффект цитохрома *c* по сравнению с сандостатином, наиболее выраженный эффект установлен при совместном введении цитохрома *c* и сандостатина.

3. В механизме острого панкреатита важную роль играет активация протеолитических ферментов субстратного металла -1 и -9 на фоне снижения уровня антагониста TIMP-1. Введение цитохрома *C* с ацидостатином экспериментальным животным с острым панкреатитом является патогенным, поскольку оно подавляет исходную повышенную активность MMP-1 и -9 на фоне активации физиологического антагониста TIMP-1.

4. Слабая положительная экспрессия белка Ki-67 в клетках ацинарной части железы и эндокринных клетках показало снижение пролиферативной активности этих клеток при экспериментальном

панкреатите. Более высокая степень экспрессии Bcl-2 белка как в эпителии экзокринной части и эндокринных клетках свидетельствует о подавлении процесса апоптоза при экспериментальном панкреатите. Более выраженная положительная экспрессия белка Ki-67 в клетках ацинарной части железы и эндокринных клетках свидетельствует о повышении пролиферативной активности этих клеток после лечения цитохромом с экспериментального панкреатита. Понижение степени экспрессии Bcl-2 белка как в эпителии экзокринной части и эндокринных клетках также показало повышение процесса апоптоза после лечения цитохромом с экспериментального панкреатита.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аверкиев В.Л., Аверкиева Л.В. Изменения некоторых иммунологических показателей при панкреонекрозе и их коррекция/ Хирургия.- 2003.-№5.-С.31-34
2. Антипов А.Б. Сандостатин - синтетический аналог природного соматостатина // Клиническая фармакология и терапия. 1993. № 3. С. 68-69.,
3. Асатурова А.В. Изоформы белка р53: роль в норме и патологии, особенности выявления и клиническое значение//Успехи современного естествознания. – 2015. – № 3 – С. 9-13.
4. Ахмедов В. А., Будылгин А., Долгих В. Т. Участие матриксных металлопротеиназ (ММП-9, тимп-1) в механизмах обострения и хронизации панкреатита.//Клин. мед.-2010.-С. 43-47.
5. Ахмедов В.А., Будылгин А.Л., Долгих В.Т., Притыкина Т.В. Особенности активности матриксных металлопротеиназ при хроническом рецидивирующем панкреатите / // Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина. 2009. Том 7, выпуск 4 С. 123-127
6. Багненко С.Ф., Бахмутова Е.Е., Бельчикова Н.С., Борсуков А.В., Вальков М.Ю., Васильева М.А., Гольцов В.Р., Давыденко П.И., Дементьева Т.В., Дзидзава И.И., Драпалюк И.Б., Дубова Е.А., Жестовская С.И., Завадовская В.Д., Золотков А.Г., Зубарев А.Р., Зяблова Е.И., Игнатьев Ю.Т., Израйлов Р.Е. и др. ЛУЧЕВАЯ ДИАГНОСТИКА И ТЕРАПИЯ В ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИИ//Национальное руководство / Москва, 2014. Сер. Национальные руководства по лучевой диагностике и терапии,
7. Браун А., Орав Б., Бэнкс П. А. и др. Гемоконцентрация является ранним маркером недостаточности органов и некротического панкреатита. Поджелудочная железа 2000 20 367–372

8. Брэдли Э. Клиническая система классификации острого панкреатита. Резюме Международного симпозиума по острому панкреатиту, Атланта, Джорджия, с 11 по 13 сентября 1992 года. Arch Surg 1993 128 586–590.
9. Булава Г.В. Иммунопатогенез острого панкреатита//Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care. 2022; 11(3):484–492.
10. Вернер Дж., Фейербах С., Уль В. и др. Лечение острого панкреатита: от хирургического вмешательства до интервенционной интенсивной терапии. Гут 2005 54 426–436.
11. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В., Алексеев А.В. Молекулярные механизмы апоптоза. Структура комплекса цитохрома с с кардиолипином //Биохимия.-2013.-т.78, вып.10.-с.1391-1404.
12. Власов А.П., Аль-Кубайси Ш.С., Власова Т.И., Маркин О.В., Муратова Т.А., Умнов Л.Н., Колесов А.В. Оптимизация фармакотерапии острого панкреатита тяжелой степени // Экспериментальная и клиническая фармакология.-Том 83, № 8 (2020).-С.
13. Воробей, А.В. Международная классификация острого панкреатита (Атланта, 1992) — современные тенденции в пересмотре / А.В. Воробей, А.А. Литвин, В.М. Хоха // Новости хирургии. — 2010. — Том 18, № 10. — С. 149–159.
14. Гальперин Э.И., Чевокин А.Ю. О применении сандостатина в абдоминальной хирургии (по материалам зарубежной печати) // Хирургия. 1994. № 9. С. 45-46.
15. Георгадзе А.К., Георгадзе А.А., Гудкова Н.И. Современные принципы иммунокоррекции в лечении острого панкреатита // 1 Московский международный конгресс хирургов. – М., – 1995. – С. 211-213.
16. Герасимов А.А., Намоконов Е.В., Давыдов С.О. Иммунологические критерии прогнозирования гнойно-воспалительных осложнений в хирургии // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № 3-4. – С. 395-396.

17. Голдовский Б.М., Поталов С.А., Сидь Е.В., Сериков К.В., Каюков А.В. Трипсиноген-2 - маркер острого панкреатита: возможности применения на догоспитальном этапе // МНС. 2014. №7 (62). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/tripsinogen-2-marker-ostrogo-pankreatita-vozmozhnosti-primeneniya-na-dogospitalnom-etape> (дата обращения: 10.12.2022).

18. Григорьева И.Н. Матриксные металлопротеиназы при заболеваниях поджелудочной железы / И.Н. Григорьева // Consilium medicum. Гастроэнтерология. – 2010. – № 1. – С. 21-24.

19. Григорьева И.Н. Наследственные панкреатиты. Клин. перспект. гастроэнтерол., гепатол. 2007; 6: 27–30

20. Гриневич В.Б., Кравчук Ю.А., Педь В.И., Сас Е.И., Саликова С.П., Губонина И.В., Ткаченко Е.И., Ситкин С.И., Лазебник Л.Б., Голованова Е.В., Белоусова Е.А., Макаручук П.А., Еремина Е.Ю., Сарсенбаева А.С., Абдулганиева Д.И., Тарасова Л.В., Громова О.А., Ратников В.А., Козлов К.В., Ратникова А.К. Ведение пациентов с заболеваниями органов пищеварения в период пандемии covid-19. клинические рекомендации российского научного медицинского общества терапевтов и научного общества гастроэнтерологов россии (2-е издание) // ЭиКГ. 2021. №3 (187). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vedenie-patsientov-s-zabolevaniyami-organov-pischevareniya-v-period-pandemii-covid-19-klinicheskie-rekomendatsii-rossiyskogo> (дата обращения: 10.12.2022).

21. Гройзик К.Л., Костырной А.В., Алексеева Е.С., Косенко А.В., Каминский И.В., Маркелова Е.Ю. НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА // ТМБВ. 2022. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/novye-vozmozhnosti-lecheniya-ostrogo-pankreatita> (дата обращения: 10.12.2022).

22. Громов М.И. Реаниматологические проблемы хирургического сепсиса (оценка тяжести, прогнозирование исхода, иммунотерапия). – Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. – СПб, 1998. – 46 с.,

23. Давыдов В.Г. Роль апоптоза ацинарных клеток поджелудочной железы в патогенезе острого панкреатита, Казанский медицинский журнал, 2004г., том 85, № 5, С. 107
24. Демидов В.Н. Ультразвуковая эхография поджелудочной железы // Клиническая медицина. 1981. № 1. С. 33-35.
25. Джонатан Гапп, Александр Дж. Холл штат Массачусетс, Райан В. Уолтерс, доктор философии, ДариусДжаханн, доктор медицины, Тенденции и результаты госпитализации Связанный с острым панкреатитом Эпидемиология с 2001 по 2014 в США, Pancreas. • Том 48, номер 4 апреля 2019 года. стр 548-554
26. Дичева Д.Т., Гончаренко А.Ю., Заборовский А.В., Привезенцев Д.В., Андреев Д.Н. Функциональные заболевания билиарной системы: современные критерии диагностики и принципы фармакотерапии // МС. 2020. №11. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/funktsionalnye-zabolevaniya-biliarnoy-sistemy-sovremennye-kriterii-diagnostiki-i-printsipy-farmakoterapii> (дата обращения: 05.12.2022).
27. Домингес-Муньос С., Карбальо Ф., Гарсия М. Дж. И др. Клиническая польза полиморфно-ядерной эластазы в прогнозировании тяжести острого панкреатита: результаты многоцентрового исследования. Br J Surg 1991 78 1230–1234.
28. Дричиц О. А., Кизюкевич Л. С., Копыцкий А. В., Кизюкевич И. Л. Роль эндогенной интоксикации в регуляции экспрессии гена Bcl-2 в динамике экспериментального подпеченочного обтурационного холестаза // Гепатология и гастроэнтерология. 2019. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-endogennoy-intoksikatsii-v-regulyatsii-ekspressii-gena-bcl-2-v-dinamike-eksperimentalnogo-podpechenochnogo-obturatsionnogo> (дата обращения: 10.12.2022).
29. Евсютина Ю.В., Ивашкин В.Т., Абгаджавя Э.З. Роль дисфункции митохондрий и лизосом в патогенезе острого панкреатита Российский журнал

гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2016;26(2):6-10.
<https://doi.org/10.22416/1382-4376-2016-26-2-6-10>, 6-10.

30. Затевахин И.И., Цициашвили М.Ш., Будурова М. Д. [и др.]. Панкреонекроз: диагностика, прогнозирование и лечение – М. : [б. и.], 2007. – 223 с

31. Захаров И.И., Савицкая М.А., Онищенко Г.Е. Проблема обратимости апоптотических процессов. ОБЗОР// БИОХИМИЯ, 2020, том 85, вып. 10, с. 1344–1360

32. Зуева И.Б., Ким Ю.В. Применение цитохрома С в реальной клинической практике на современном этапе// Педиатрия № 4 (16) 2019 г.с.7-10

33. Иванов С.В., Охотников О.И., Бондарев Г.А. и др. /Лечение острого панкреатита и его осложнений – Курск : КГМУ, 2005. – 181 с., 181;

34. Иванов Ю.В. Поиск новых средств лечения острого панкреатита // Дисс. д. м. н., 2001. 257 с.

35. Ивашкин, В.Т. Рациональная фармакотерапия заболеваний органов пищеварения / Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л., и др. // М.: Литера, 2003.

36. Икей С., Огава М., Ямагучи Ю. Концентрации полиморфноядерной лейкоцитарной эластазы и интерлейкина 6 в крови являются показателями возникновения полиорганной недостаточности на ранней стадии острого панкреатита. J Gastroenterol Hepatol 1998 13 1274–1283.

37. Ишутина Н.А., Андриевская И.А. Роль некоторых липидов и их метаболитов в программируемой клеточной гибели // Acta Biomedica Scientifica. 2022. №4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rol-nekotoryh-lipidov-i-ih-metabolitov-v-programmiruemoy-kletochnoy-gibeli> (дата обращения: 10.12.2022).

38. Караулов, А.В. Иммунология, микробиология, иммунопатология кожи / А.В. Караулов, С.А. Быков, А.С. Быков. – Изд.: Бином, 2012. – 328 с.

39. Карпицкий А. С., Летковская Т. А. Первый опыт применения иммуногистохимических методов исследования забрюшинной клетчатки в ранней фазе острого некротизирующего панкреатита // Гепатология и

гастроэнтерология. 2019. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/pervyy-opyt-primeneniya-immunogistohimicheskikh-metodov-issledovaniya-zabryushinnoy-kletchatki-v-ranney-faze-ostrogo> (дата обращения: 05.12.2022).

40. Кемппайнен Э.А., Хедстром Дж., Пуолаккайнен П. и др. Быстрое измерение уровня трипсиногена-2 в моче в качестве скринингового теста на острый панкреатит. *N Engl J Med* 1997 336 1788–1793

41. Кетлинский С.А., Симбирев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы.- СПб.: Гиппократ, 1992.- 154с.

42. Клавьен П.А., Роберт Дж., Мейер П. и др. Острый панкреатит и нормаамилаземия. Не редкая комбинация. *Ann Surg* 1989 210 614–620.;

43. Кнауц В. А., Дрейпер Е. А., Вагнер Д. П. и др. АРАСНЕ II: серьезность системы классификации болезней. *Crit Care Med* 1985 13 818–829.

44. Коляда Татьяна Ивановна, Макаревич Валерия Анваровна Модулирующее влияние герпетической вакцины на регуляцию цитотоксического потенциала лимфоцитов моноцитами периферической крови // *EESJ*. 2015. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/moduliruyuschee-vliyanie-gerpeticheskoy-vaktsiny-na-regulyatsiyutsitotoksicheskogo-potentsiala-limfotsitov-monotsitami> (дата обращения: 10.12.2022).

45. Конопля А.И., Лазаренко В.А., Локтионов А.Л. Взаимосвязь иммуно-метаболических и эритроцитарных нарушений с этиологией острого панкреатита. – Курск: Изд-во ГОУ ВПО КГМУ Минздрава России, 2013. – 162с

46. Кришнан К. Диетологическое лечение острого панкреатита. *Курр Opin Гастроэнтерол* . 2017 март 33 (2): 102-6.

47. Крохин А.А. Оценка риска формирования наружных панкреатических свищей после хирургического лечения деструктивных панкреатитов / А.А. Крохин, А.Г. Бухвалов, Д.М. Смирнов // Актуальные вопросы хирургии. Сборник научно-практических работ. Региональная дирекция мед. обеспечения на ЮУЖД, ГБОУ ВПО ЮУГМУ Министерства здравоохранения РФ. — Челябинск, 2014. — С. 52.

48. Кузнецов В.П., Маркелова В.П., Лазанович В.А. и др. Дисбаланс цитокинов как фактор патогенеза гнойно-септических заболеваний и иммунокорригирующие эффекты лейкинтерферона // Медицинская иммунология. – 2002. – Т. 4, № 1. – С. 11-20., 11-20
49. Ланкиш П.Г., Малке Р., Блум Т. и др. Гемоконцентрация: ранний маркер тяжелого и / или некротического панкреатита. *Am J Gastroenterol* 2001 96 2081–2085
50. Лемпинен М., Киланпаа-Бэк М.Л., Стенман У. и др. Прогнозирование степени острого панкреатита путем быстрого измерения уровня трипсиногена-2 в моче. *Clin Chem* 2001 47 2103–2107.
51. Локтионов, А.Л. Острый панкреатит как клинико-иммунологическая проблема (обзор литературы) / А.Л. Локтионов, А.И. Конопля, И.В. Евсегнеева // Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогенетика. – 2013. – Т.17, №11. – С.3-11
52. Манойлов С.Е. Орлова Б.А. Применение спектральных методов исследования для изучения состояния железосодержащих соединений в животном организме при облучении его рентгеновскими лучами // Вопросы радиобиологии. Л., 1960. С. 152–157.,
53. Манойлов С.Е., Нестерова Л.А., Орлова И.А. и др. Действие цитохрома С, галактозы и уридинтрифосфата на рост перевиваемых опухолей // Вопросы онкологии. 1973. Т.19. № 7. С. 62–65.,
54. Манойлов С.Е., Хансон К.П. Влияние экзогенного цитохрома С на окислительное фосфорилирование в митохондриях, выделенных из тканей облученных животных // *Вопр. мед. химии*. 1964.Т.10. № 4. С. 410–412.,
55. Микаелян П.К., Оптимизация хирургической тактики при остром билиарном панкреатите с учетом тяжести заболевания и изменений на фоне лечения показателей иммунной системы.// Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. – 2019. С. 174

56. Морозов А.М., Сергеев А.Н., Жуков С.В., Новикова Н.С., Беляк М.А. Современные маркеры воспалительного процесса в хирургической практике // Стационарозамещающие технологии: Амбулаторная хирургия. 2022. №1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-markery-vozpалitelnogo-protsessа-v-hirurgicheskoj-praktike> (дата обращения: 10.12.2022).

57. Мусабаев И.К., Мецкан Т.И., Хамитов М.Х. Применение цитохрома С в комплексном лечении больных тифопаратифозными заболеваниями // Матер. IV съезда гигиенистов, сан. врачей, эпидемиологов, микробиологов и инфекционистов Узбекистана. Ташкент: Медицина УзССР, 1980. С. 29–30.

58. Мхитарян Л.М. Механизм лечебного действия цитохрома С при остром вирусном гепатите В // Экспериментальная и клиническая медицина. 1987. Т. 27. №6. С. 585–589.

59. Назаренко Д.П. Разработка патогенетически обоснованных консервативных и хирургических способов лечения острого панкреатита: дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.27 / Д.П. Назаренко. – Курск, 2006. – 320 с.

60. Назаренко П.М. Хирургические и эндоскопические методы лечения заболеваний большого сосочка двенадцатиперстной кишки и их клинико-анатомическое обоснование / П.М. Назаренко, Ю.В. Канищев, Д.П. Назаренко. – Курск, 2005. – 143 с.

61. Нехаев, С.Г. Полиморфноядерные лейкоциты как система антиэндотоксиновой защиты организма / С.Г. Нехаев, Ю.И. Григорьев // Иммунология. – 2010. - №3. – С.116-118.

62. Новиков В.С. Применение цитохрома С для нормализации нарушения резистентности // Цитохром С и его клиническое применение. Л.: ЛНИИГиПК, 1990. С. 52–57.,52–57.

63. Орлова Е.А., Рагулина В.А., Локтионов А.Л., Конопля А.И. Коррекция нарушений иммунного гомеостаза производными 3-гидоксипиридина при

патоло-гии органов панкреатобилиарной области // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 759-763.;

64. Останин А.А., Леплина О.Ю. Иммунологические маркеры основных синдромов системного воспаления у больных с хирургической инфекцией // Russ. J. Immunol. – 2000. – V. 5, N 3. – P. 289 - 300.

65. Останин А.А., Зайнутдинов Ю.Г., Стрельцова Е.И. и др. Хирургический сепсис. Сообщение 2. Эффективность иммунотерапии рекомбинантным IL-2 // Вестник хирургии. – 2002. –Т. 161, № 4. – С. 79-84.

66. Павловський М.П., Чуклін С.М., Переяслав А.А. Патогенез острого панкреатиту та поліорганна недостатність: сучасні погляди (огляд літератури) // Журнал АМН України. – 1997. – Т. 3, № 4. – С. 582- 599.

67. Папахристу Г.И., Уиткомб Д.С. Воспалительные маркеры тяжести заболевания при остром панкреатите. Clin Lab Med 2005 25 17–37.

68. Пиндак Д., Паррак В., Печан Дж. И др . Клиническое значение прокальцитонина в прогнозе тяжести и исхода острого панкреатита. Гепатогастроэнтерология . 2003; 50: ссviii – ix, (Suppl.2)

69. Пирогова Н.И. Комплексное лечение острого панкреатита//Журнал: Хирургия. Журнал им.. 2010;(4): 63-66

70. Рау Б., Стейнбах Г., Баумгарт К. и др. Сывороточный амилоид А в сравнении с С-реактивным белком при остром панкреатите: клиническая ценность альтернативного реагента острой фазы. Crit Care Med 2000 28 736–742.

71. Рейнхарт К., Карле Дж. Прокальцитонин - новый маркер тяжелой инфекции и сепсиса. Интенсивная медицинская помощь 2000 26 (Suppl 2) 145

72. Робинсон М.В., Труфакин В.А. Апоптоз и цитокины// Успехи совр.биол.-1999.-Т 119.-№4.-С.359-364

73. Рыжов С. В., Новиков В. В. Молекулярные механизмы апоптотических процессов // Российский биотерапевтический журнал. 2002. №3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/molekulyarnye-mehanizmy-apoptoticheskikh-protsessov> (дата обращения: 10.12.2022). D'Arcy MS. Cell death: a review of the

major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. Cell Biol Int. 2019 Jun;43(6):582-592. doi: 10.1002/cbin.11137. Epub 2019 Apr 25. PMID: 30958602.

74. Сабирова Р.А., Сулейманов С.Ф., Шукуров И.Б. Изучение действия токоферола на состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты крыс с острым панкреатитом // Проблемы биологии и медицины №4.1 (22) 2001 С 50-52

75. Сабирова Р.А., Шукуров И.Б., Абдуллаев Ш.А. Влияние токоферола на обмен глутатиона при остром экспериментальном панкреатите //Патология.-1999.-№1.-С.33-36.

76. Савельев В.С., Филимонов М.И., Бурневич С.З. Панкреонекрозы /– М. :Мед.информ. агентство, 2008. – 258 с.

77. Савицкая М.А.,Онищенко Г.Е. Механизмы апоптоза//Биохимия.-2015.т.80.-вып.11.-с.1613-1627.

78. Саганов В. П., Хитрихеев В. Е., Цыбиков Е. Н., Жигаев Г. Ф., Гармаев Б. Г., Содномов Ч. В. С-реактивный белок в диагностике панкреонекроза // Acta Biomedica Scientifica. 2009. №3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/s-reaktivnyy-belok-v-diagnostike-pankreonekroza> (дата обращения: 10.12.2022).

79. Саез Дж., Мартинес Дж., Триго С. и др. Сравнительное исследование активационного пептида карбоксипептидазы В и трипсиногена как ранних предикторов тяжести острого панкреатита. Панкреатология 2002 2 167–187.

80. Салмина А. Б., Маркелова Н. М., Миллер С. В. Особенности регуляции апоптоза иммунокомпетентных клеток крови при остром деструктивном панкреатите // Новости хирургии. 2011. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-regulyatsii-apoptoza-immunokompetentnyh-kletok-krovi-pri-ostrom-destruktivnom-pankreatite> (дата обращения: 05.12.2022).

81. Сибиряк С.В., Капулер О.М., Курчатова Н.Н., Каут Д.А., Юсупова Р.Ш., Нелюбин Е.В. Апоптоз и иммунная система УДК 1 – 2006. Стр 127 – 133

82. Симоварян П.С., Тименина Р.С. Показатели жиро-углеводного обмена при экспериментальном панкреатите // Патол. Физиол. Иэксп. Тер.-М.: Медицина.-1973.-№2.-С.59-62,
83. Слепнева Л.В., Ханевич М.Д., Зыбина Н.Н. и др. Состояние биоэнергетических процессов в печени и слизистой тонкой кишки при экспериментальном перитоните и возможности их коррекции цитохромом С // Цитохром С и его клиническое применение. Л.: ЛНИИГиПК, 1990. С. 27–31.
84. Смаков Т.М. Применение соматостатина для лечения и профилактики острого панкреатита // Клиническая медицина. 1995. № 2. С. 16-18.
85. Снигиревская Е.С., Комиссарчик Я.Ю. Ультраструктурные изменения внутриклеточных органелл при апоптозе // Биосфера. 2018. №2. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/ultrastrukturnye-izmeneniya-vnutrikletochnyh-organell-pri-apoptoze> (дата обращения: 10.12.2022).
86. Тох С.К., Филлипс С., Джонсон С. Д. Проспективная проверка на соответствие национальным стандартам представления и ведения острого панкреатита на юге Англии. GUT 2000 46 239–243
87. Уханова И.Ю., Караулов А.В., Локтионов А.Л., Сунайкина О.А. Функциональная активность перитонеальных макрофагов при остром деструктивном панкреатите: оценка, значение // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. - № 6. – С. 42-44.
88. Ушаков А.А., Овчинников В.И., Бабушкин Д.А. Современные аспекты этиологии, патогенеза, классификации острого панкреатита // Совр. Пробл. науки и образования. 2016.- № 2. С. 17-19 URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=24168>.
89. Хансон К.П. К вопросу о механизме нарушения окислительного фосфорилирования при общем облучении крыс летальными дозами рентгеновских лучей: автореф. дис. ... к. м. н. Л.: ЦНИРРИ, 1964. 23 с., 23;

90. Хансон К.П., Манойлов С.Е., Полосова П.Г. Влияние экзогенного цитохрома С на окислительное фосфорилирование в некоторых органах животных при экспериментальном опухолевом росте и лучевой болезни // Митохондрии. М.: Наука, 1967. С. 68–71.

91. Ходарева Н.Н. Компьютерно-томографическая семиотика острых заболеваний и повреждений поджелудочной железы и их осложнений // Автореф. дисс. к. м. н. М., 1999. 22 с.

92. Чен С.С., Ван С.С., Ли Ф. Я. и др. Провоспалительные цитокины в ранней оценке прогноза острого панкреатита. *Am J Gastroenterol* 1999 94 213–218.

93. Чеснокова Н. П., Понукалина Е. В., Бизенкова М. Н. Научное обозрение // *Медицинские науки*. 2017. № 2. С. 60-63

94. Ядав Д., Агарвал Н., Пичумони С. С. Критическая оценка лабораторных исследований при остром панкреатите. *Am J Gastroenterol* 2002 97 1309–1318.

95. Яроцкая Н.Н., Косинец В.А., Королькова Н.К. Изменение функциональной активности печени при экспериментальном распространенном перитоните на фоне применения энерготропной коррекции *Вестник ВГМУ*, 2017, №6, 47-54.

96. AlEdreesi M.H., AlAwamy M.B. Serum pancreatic enzymes and imaging in paediatric acute pancreatitis: Does lipase diagnostic superiority justify eliminating amylase testing? *Saudi J Gastroenterol*. 2022 Mar-Apr;28(2):143-148. doi: 10.4103/sjg.sjg_204_21. PMID: 34472445; PMCID: PMC9007081.

97. Arvanitakis M., Gkolfakis P., Fernandez Y. Viesca M. Nutrition in acute pancreatitis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2021 Sep 1;24(5):428-432. doi: 10.1097/MCO.0000000000000776. PMID: 34127607.

98. Bálint E.R., Fűr G., Kiss L., Németh D.I., Soós A., Hegyi P., Szakács Z., Tinusz B., Varjú P., Vincze Á., Eröss B., Czimmer J., Szepes Z., Varga G., Rakonczay Z. Jr. Assessment of the course of acute pancreatitis in the light of aetiology: a

systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2020 Oct 21;10(1):17936. doi: 10.1038/s41598-020-74943-8. PMID: 33087766; PMCID: PMC7578029

99. Banks P.A, Thomas L Bollen, Christos Dervenis, Hein G Gooszen, Colin D Johnson, Michael G Sarr, Gregory G Tsiotos, Santhi Swaroop Vege. Classification of acute pancreatitis—2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* . 2013 Jan;62(1):102-11.,

100. Berchtold LA, Prause M, Størling J, Mandrup-Poulsen T. Cytokines and Pancreatic β -Cell Apoptosis. *Adv Clin Chem.* 2016;75:99-158. doi: 10.1016/bs.acc.2016.02.001. Epub 2016 Apr 20. PMID: 27346618.

101. Billi P., Miniero R. и др. Сывороточный интерлейкин 6, интерлейкин 8 и β -2-микроглобулин в ранней оценке тяжести острого панкреатита. Сравнение с сывороточным С-реактивным белком. *Dig Dis Sci* 1995 40 2341–2348.

102. Boon N, Delhaye M, Le Moine O, De Maertelaer V, Devière J. Severity of acute gallstone pancreatitis in patients with pancreas divisum. *Endoscopy.* 2003 May;35(5):407-10. doi: 10.1055/s-2003-38771. PMID: 12701012

103. Boylston J. A., Sun J., Chen Y., Gucek M., Sack M. N., Murphy E. Characterization of the cardiac succinylome and its role in ischemia-reperfusion injury. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* 2015. Vol. 88. Pp. 73–81. doi: 10.1016/j.yjmcc.2015.09.005, 73–81

104. Curleu., Nestor M., Collins K., Saparoshcz I., Mendez M., Mannick G., Rodrick M. Decreased interleikin-2 production in murine acute pancreatitis: Potential for immunomodulation // *Gastroenterology* -1996.-Vol. 110.N4.- P.583-588.

105. D'Amigo D., Favia G., Biasiato R., et al. The use of somatostatin in acute pancreatitis - results of a multicente trial. *Hepatogastroenterology* 1990; 37:92-98.

106. D'Arcy M.S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int.* 2019 Jun;43(6):582-592. doi: 10.1002/cbin.11137. Epub 2019 Apr 25. PMID: 30958602.

107. De Franco S., Bonissoni S., Cerutti F. et al. Defective function of Fas in patients with type 1 diabetes associated with other autoimmune diseases // *Diabetes*. – 2001. – Vol. 50. – P. 483–488.;
108. Fawzy El-Sayed KM, Nguyen N, Dörfer CE. Ascorbic Acid, Inflammatory Cytokines (IL-1 β /TNF- α /IFN- γ), or Their Combination's Effect on Stemness, Proliferation, and Differentiation of Gingival Mesenchymal Stem/Progenitor Cells. *Stem Cells Int*. 2020 Aug 17;2020:8897138. doi: 10.1155/2020/8897138. PMID: 32879629; PMCID: PMC7448213.
109. Floyel T, Frorup C, Storling J, Pociot F. Cathepsin C Regulates Cytokine-Induced Apoptosis in β -Cell Model Systems. *Genes (Basel)*. 2021 Oct 25;12(11):1694. doi: 10.3390/genes12111694. PMID: 34828301; PMCID: PMC8622156.
110. Frossard J.L. //jop.j. pancreas(online).-2001.-vol 2(2).-p.69-77
111. Frossard JL, Hadengue A. Acute pancreatitis: new physiopathological concepts. *Gastro Clin Biol* 2001; 25: 164–76
112. Galán BSM, Serdan TDA, Rodrigues LE, Manoel R, Gorjão R, Masi LN, Pithon-Curi TC, Curi R, Hirabara SM. Reviewing physical exercise in non-obese diabetic Goto-Kakizaki rats. *Braz J Med Biol Res*. 2022 May 27;55:e11795. doi: 10.1590/1414-431X2022e11795. PMID: 35648976; PMCID: PMC9150428.].
113. Gao N, Yan C, Zhang G. Changes of Serum Procalcitonin (PCT), C-Reactive Protein (CRP), Interleukin-17 (IL-17), Interleukin-6 (IL-6), High Mobility Group Protein-B1 (HMGB1) and D-Dimer in Patients with Severe Acute Pancreatitis Treated with Continuous Renal Replacement Therapy (CRRT) and Its Clinical Significance. *Med Sci Monit*. 2018 Aug 23;24:5881-5886. doi: 10.12659/MSM.910099. PMID: 30136704; PMCID: PMC6118162.
114. Garber A., Frakes C, Arora Z, Chahal P. Mechanisms and Management of Acute Pancreatitis. *Gastroenterol Res Pract*. 2018 Mar 15;2018:621-632.,
115. Gardner T.B. Acute Pancreatitis. *Ann Intern Med*. 2021 Feb;174(2):ITC17-ITC32. doi: 10.7326/AITC202102160. Epub 2021 Feb 9. PMID: 33556276.

116. Hedstrom J, Kempainen E, Andersén J, Jokela H, Puolakkainen P, Stenman UH. A comparison of serum trypsinogen-2 and trypsin-2-alpha1-antitrypsin complex with lipase and amylase in the diagnosis and assessment of severity in the early phase of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol.* 2001 Feb;96(2):424-30. doi: 10.1111/j.1572-0241.2001.03457.x. PMID: 11232685.

117. Hegyi E, Sahin-Tóth M. Trypsinogen isoforms in the ferret pancreas. *Sci Rep.* 2018 Oct 10;8(1):15094. doi: 10.1038/s41598-018-33423-w. PMID: 30305676; PMCID: PMC6180083.

118. Huang H. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a Cancer Biomarker and MMP-9 Biosensors: Recent Advances. *Sensors (Basel).* 2018 Sep 27;18(10):3249. doi: 10.3390/s18103249. PMID: 30262739; PMCID: PMC6211011.

119. Ismail OZ, Bhayana V. Lipase or amylase for the diagnosis of acute pancreatitis? *Clin Biochem.* 2017 Dec;50(18):1275-1280. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2017.07.003. Epub 2017 Jul 16. PMID: 28720341.

120. James TW, Crockett SD. Management of acute pancreatitis in the first 72 hours. *Curr Opin Gastroenterol.* 2018 Sep;34(5):330-335. doi: 10.1097/MOG.0000000000000456. PMID: 29957661; PMCID: PMC6245573

121. Jenkins C. M., Yang K., Liu G., Moon S. H., Dilthey B. G., Gross R. W. Cytochrome c is an oxidative stress-activated plasminogenase that cleaves plasmenylcholine and plasmenylethanolamine at the sn-1 vinyl ether linkage. *Journal of Biological Chemistry.* 2018. Vol. 293(22). Pp. 8693–8709. doi: 10.1074/jbc.ra117.001629., 8693–8709

122. Johnson C.D., Lempinen M., Imrie C.W. et al. Пептид активации трипсиногена в моче как маркер тяжелого острого панкреатита. *Br J Surg* 2004 91 1027–1033.

123. Johnson J. L. Matrix metalloproteinases: influence on smooth muscle cell and atherosclerotic plaque stability // *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.* 2007. Vol. 5. P. 265–282.

124. Kabelitz D., Pohl T., Pechhold K. Activation-induced cell death (apoptosis) of mature peripheral T lymphocytes // *Immunol. Today.* – 1993. – Vol. 14. – P. 338–339.

125. Kayar Y, Senturk H, Tozlu M, Baysal B, Atay M, Ince AT. Prediction of Self-Limited Acute Pancreatitis Cases at Admission to Emergency Unit. *GE Port J Gastroenterol.* 2019 Jul;26(4):251-259,

126. Kemppainen E., Hedstrom J., Puolakkainen P. и др. Повышенные значения сывороточного трипсиногена 2 и трипсина- $\alpha 1$ антитрипсинового комплекса позволяют с высокой точностью определить эндоскопический ретроградный холангиопанкреатографический панкреатит. *GUT* 1997 41 690–695

127. Kylänpää-Bäck ML, Kemppainen E, Puolakkainen P. и др. Сравнение мочи трипсиноген-2 тест-полоски с сывороточной липазой в диагностике острого панкреатита. *Гепатогастроэнтерология* 2002.-49.-1130–1134.

128. Kylänpää-BäckML, TakalaA, KemppainanE. и др. Тест на полоску прокальцитонина в раннем выявлении тяжелого острого панкреатита. *Br J Surg* 2001 88 222–227.

129. Lagunas-Martínez A., García-Villa E., Arellano-Gaytán M., Contreras-Ochoa C.O., Dimas-González J., López-Arellano M.E., Madrid-Marina V., Gariglio P. MG132 plus apoptosis antigen-1 (APO-1) antibody cooperate to restore p53 activity inducing autophagy and p53-dependent apoptosis in HPV16 E6-expressing keratinocytes. *Apoptosis.* 2017 Jan;22(1):27-40. doi: 10.1007/s10495-016-1299-1. PMID: 27766434.

130. Lankisch PG, Apte M, Banks PA. Acute pancreatitis. *Lancet.* 2015 Jul 4;386(9988):85-96. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60649-8. Epub 2015 Jan 21. Erratum in: *Lancet.* 2015 Nov 21;386(10008):2058. PMID: 25616312

131. Lee PJ, Papachristou GI. New insights into acute pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019 Aug;16(8):479-496. doi: 10.1038/s41575-019-0158-2. PMID: 31138897.

132. Li N, Wang BM, Cai S, Liu PL. The Role of Serum High Mobility Group Box 1 and Interleukin-6 Levels in Acute Pancreatitis: A Meta-Analysis. *J Cell Biochem.* 2018 Jan;119(1):616-624. doi: 10.1002/jcb.26222. Epub 2017 Aug 25. PMID: 28618057.

133. Li L., Bachem M. G., Zhou S., Sun Z., Chen J., Siech M., Bimmler D., Graf R. Pancreatitis-associated protein inhibits human pancreatic stellate cell MMP-1 and 2, TIMP-1 and 2 secretion and RECK expression // *Pancreatology.* 2008. Vol. 12, № 1–2. P. 99–110.

134. Liu NJ, Chapman R, Lin Y, Bentham A, Tyreman M, Philips N, Khan SA, Stevens MM. Phospholipase A2 as a point of care alternative to serum amylase and pancreatic lipase. *Nanoscale.* 2016 Jun 9;8(23):11834-9. doi: 10.1039/c6nr03376h. PMID: 27228183.

135. Lowry O.H., Resebrough W.S., Farr L. Protein measurement with do lin reagent // *J. Biol. Chem.* -1951.-V 193, N4.-P.265-275.

136. Majidi S, Golembioski A, Wilson SL, Thompson EC. Acute Pancreatitis: Etiology, Pathology, Diagnosis, and Treatment. *South Med J.* 2017 Nov;110(11):727-732. doi: 10.14423/SMJ.0000000000000727. PMID: 29100225.

137. Mandrup-poulsen T: the role of interleukin-1i in the pathogenesis of IDDM//*DIABETALOGIA*-1996vol.39.-p.1005-1029

138. Mayer J, Raraty M, Slavin J. и др. Сывороточный амилоид А является лучшим ранним предиктором тяжести, чем С-реактивный белок при остром панкреатите. *Br J Surg* 2002 89 163–171.

139. Mondal S, Adhikari N, Banerjee S, Amin SA, Jha T. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors in cancer: A minireview. *Eur J Med Chem.* 2020 May 15;194:112260. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112260. Epub 2020 Mar 21. Erratum in: *Eur J Med Chem.* 2020 Nov 1;205:112642. PMID: 32224379.

140. Mroczko B., Lukaszewicz-Zajac M., Wereszczynska-Siemiatkowska Uatal. Clinical significance of the measurements of serum matrix metalloproteinase-9 and its inhibitor (tissue inhibitor of metalloproteinase-1) in patients with pancreatic

cancer: metalloproteinase-9 as an independent prognostic factor. *Pancreas* 2009; 38 (6): 613–8.

141. Müller C.A., Appelros S, Uhl W. et al. Сывороточные уровни прокарбокисептидазы В и ее активирующего пептида у пациентов с острым панкреатитом и не панкреатическими заболеваниями. *Гут* 2002 51 229–235.

142. Nazirov F., Devyatov A., Ibadov R., Babadjanov A., Abdullajanov B. Peculiarities of pancreatitis flowin biliary etiology and effectiveness of the treatment tactics. // *International journal of pharmaceutical research*. Volume 11, Issue 4, Oct - Dec, 2019. 660-667. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2019.11.04.068>. (№3, SCOPUS, IF 1,55

143. Norman J.A., Yang J.A., Fink G.A., Golds K. 41. Severity and mortality of experimental pancreatitisre dependent on interleukin-1 converting enzyme (ICE) // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2004. – Vol. 17, N 2. – P 113-118.

144. Novovic S. [et al.] Activity of neutrophil elastase reflects the progression of acute pancreatitis // *Scand J Clin Lab Invest*. 2013. Vol.73,№ 6. P. 675–684

145. Olson E, Perelman A, Birk JW. Acute management of pancreatitis: the key to best outcomes. *Postgrad Med J*. 2019 Jun;95(1124):328-333. doi: 10.1136/postgradmedj-2018-136034. Epub 2019 May 23. PMID: 31123175.

146. Paliwal A, Nawal CL, Meena PD, Singh A. A Study of Procalcitonin as an Early Predictor of Severity in Acute Pancreatitis. *J Assoc Physicians India*. 2022 Apr;70(4):11-12. PMID: 35443495.

147. Pannala R., Kidd M., Modlin I. M. Acute pancreatitis: a historical perspective // *Pancreas*. 2009. Vol.38, №4. P.355-66.

148. Pekareva E.V., Nikonova T.V., Smirnova O.M. The role of apoptosis in pathogenesis of type 1 diabetes mellitus, *Endocrinological Research Centre Moscow* – 2010. P. 45 – 49.;

149. Pendharkar, S. A., Mathew, J. &Petrov, M. S. Age- andsex-specificprevalenceofdiabetesassociatedwithdiseasesoftheexocrinepancreas: apopulation-basedstudy. *Dig. LiverDis*. 49, 540–544 (2017).

150. Pezzilli R., Billi P., Miniero R. и др. Сывороточный интерлейкин 6, интерлейкин 8 и β -2-микроглобулин в ранней оценке тяжести острого панкреатита. Сравнение с сывороточным С-реактивным белком. *Dig Dis Sci* 1995 40 2341–2348.

151. Pirouz A, Sadeghian E, Jafari M, Eslamian R, Elyasinia F, Mohammadi-Vajari MA, Ghorbani Abdehghah A, Soroush A. Investigating the Factors Affecting the Development of Biliary Pancreatitis and Their Relationship with the Type and Severity of Complications. *Middle East J Dig Dis*. 2021 Jan;13(1):43-48. doi: 10.34172/mejdd.2021.202. Epub 2021 Mar 2. PMID: 34712437; PMCID: PMC8531934.;

152. Robert JH, Frossard JL, Mermillod B. и др. Раннее прогнозирование острого панкреатита: проспективное исследование, сравнивающее результаты компьютерной томографии, Ranson, Glasgow, Acute Physiology и Chronic Health Evaluation II и различные производители сыворотки. *World J Surg* 2002 26 612–619.

153. Rui Kang, Ruochan Chen, Min Xie, Lizhi Cao, Michael T. Lotze, Daolin Tang and Herbert J. Zeh III. The Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE) Activates the AIM2 Inflammasome in Acute Pancreatitis. *J Immunol*. 2016 May 15; 196(10): 4331–4337,

154. Rutter G.A., Wong F.S. THE pancreatic β -cells: birth, life and death// *Biochem. Soc. trans.* -2008. -vol.36.-p.267-271.

155. Sack GH Jr. Serum Amyloid A (SAA) Proteins. *Subcell Biochem*. 2020;94:421-436. doi: 10.1007/978-3-030-41769-7_17. PMID: 32189310.

156. Saluja A, Dudeja V, Dawra R, Sah RP. Early Intra-Acinar Events in Pathogenesis of Pancreatitis. *Gastroenterology*. 2019 May;156(7):1979-1993. doi: 10.1053/j.gastro.2019.01.268. Epub 2019 Feb 15. PMID: 30776339.

157. Sendler M, Algül H. Pathogenese der akuten Pankreatitis [Pathogenesis of acute pancreatitis]. *Internist (Berl)*. 2021 Oct;62(10):1034-1043. German. doi: 10.1007/s00108-021-01158-y. Epub 2021 Sep 16. PMID: 34529120.

158. Silano V., Barat Baviera J.M., Bolognesi C., Cocconcelli P.S., Crebelli R., Gott D.M., Grob K., Lambré C., Lampi E., Mengelers M., Mortensen A., Rivière G., Steffensen I.L., Tlustos C., Van Loveren H., Vernis L., Zorn H., Gundert-Remy U., Herman L., Turck D., Engel K.H., Aguilera-Gómez M., Andryszkiewicz M., Kovalkovicova N., Liu Y., Maia J., Rainieri S., Chesson A. Safety evaluation of a food enzyme containing trypsin, chymotrypsin, elastase and carboxypeptidase from porcine pancreas. *EFSA J.* 2021 Jan 8;19(1):e06368. doi: 10.2903/j.efsa.2021.6368. PMID: 33456553; PMCID: PMC7792021.

159. Singh P., Garg P.K. Pathophysiological mechanisms in acute pancreatitis: Current understanding // *Indian J Gastroenterol.* 2016. Vol.35, №3. P.153-66.

160. Siriwardena AK, Jegatheeswaran S, Mason JM; PROCAP investigators. A procalcitonin-based algorithm to guide antibiotic use in patients with acute pancreatitis (PROCAP): a single-centre, patient-blinded, randomised controlled trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2022 Oct;7(10):913-921. doi: 10.1016/S2468-1253(22)00212-6. Epub 2022 Jul 19. PMID: 35863358.

161. Snigirevskaya E.S., Komissarchik Y.Y. Ultrastructural traits of apoptosis. *Cell Biol Int.* 2019 Jul;43(7):728-738. doi: 10.1002/cbin.11148. Epub 2019 May 20. PMID: 30969020.

162. Spechler S.J., Dalton J.W., Robbins A.H. и др. Распространенность нормальных уровней сывороточной амилазы у пациентов с острым алкогольным панкреатитом. *Dig Dis Sci* 1983 28 865–869.

163. Szatmary P, Grammatikopoulos T, Cai W, Huang W, Mukherjee R, Halloran C, Beyer G, Sutton R. Acute Pancreatitis: Diagnosis and Treatment. *Drugs.* 2022 Aug;82(12):1251-1276. doi: 10.1007/s40265-022-01766-4. Epub 2022 Sep 8. PMID: 36074322; PMCID: PMC9454414.

164. Tan J.H., Cao R.C., Zhou L., Zhou Z.T., Chen H.J., Xu J., Chen X.M., Jin Y.C., Lin J.Y., Zeng J.L., Li S.J., Luo M., Hu G.D., Yang X.B., Jin J., Zhang G.W. ATF6 aggravates acinar cell apoptosis and injury by regulating p53/AIFM2

transcription in Severe Acute Pancreatitis. *Theranostics*. 2020 Jul 9;10(18):8298-8314. doi: 10.7150/thno.46934. PMID: 32724472; PMCID: PMC7381726.

165. Tan S., Liu X., Chen L., Wu X., Tao L., Pan X., Tan S., Liu H., Jiang J., Wu B. Fas/FasL mediates NF- κ B/p53/PUMA-modulated hepatocytes apoptosis via autophagy to drive liver fibrosis. *Cell Death Dis*. 2021 May 12;12(5):474. doi: 10.1038/s41419-021-03749-x. PMID: 33980818; PMCID: PMC8115181.

166. Tietz NW, Shuey D F. Липаза в сыворотке: неуловимый фермент: обзор. *Clin Chem* 1993 39 746–756.

167. Vaduganathan M., Butler J., Pitt B., Gheorghiade M. Contemporary drug development in heart failure: call for hemodynamically neutral therapies. *Circ. Heart Fail*. 2015. Vol. 8. Pp. 826–831., 826–831

168. Vitale D.S., Lahni P., Hornung L., Thompson T., Farrell P.R., Lin T.K., Nathan J.D., Wong H.R., Abu-El-Hajja M. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in pediatric severe acute pancreatitis. *PLoS One*. 2022 Feb 14;17(2):e0261708. doi: 10.1371/journal.pone.0261708. PMID: 35157709; PMCID: PMC8843225.

169. Voskoboinik I., Whisstock J.C., Trapani J.A. Perforin and granzymes: function, dysfunction and human pathology. *Nat Rev Immunol*. 2015 Jun;15(6):388-400. doi: 10.1038/nri3839. PMID: 25998963.

170. Walczak H., Krammer P.H. The CD95 (APO-1/Fas) and the TRAIL (APO2L) apoptosis system // *Exp. Cell Res.* – 2000. – Vol. 256. – P. 58–66.

171. Walkowska J, Zielinska N, Karauda P, Tubbs RS, Kurtys K, Olewnik Ł. The Pancreas and Known Factors of Acute Pancreatitis. *J Clin Med*. 2022 Sep 22;11(19):5565. doi: 10.3390/jcm11195565. PMID: 36233433; PMCID: PMC9571992.

172. Wang G, Liu Y, Zhou SF, Qiu P, Xu L, Wen P, Wen J, Xiao X. Effect of Somatostatin, Ulinastatin and Gabexate on the Treatment of Severe Acute Pancreatitis. *Am J Med Sci*. 2016 May;351(5):506-12. doi: 10.1016/j.amjms.2016.03.013. Epub 2016 Mar 31. PMID: 27140710.

173. Wang G., Wen J., Wilbur R.R., Wen P., Zhou S.F., Xiao X. The effect of somatostatin, ulinastatin and *Salvia miltiorrhiza* on severe acute pancreatitis treatment. *Am J Med Sci.* 2013 Nov;346(5):371-6. doi: 10.1097/MAJ.0b013e31827aa2bc. PMID: 23514667.
174. Wang G.J., Gao C.F., Wei D., Wang C., Ding S.Q. Acute pancreatitis: etiology and common pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2009 Mar 28;15(12):1427-30. doi: 10.3748/wjg.15.1427. PMID: 19322914; PMCID: PMC2665136.
175. Whitcomb D C. Значение генетического тестирования в лечении панкреатита. *GUT* 2004 53 1710–1717
176. Whitcomb D.C., Gorry M.C., Preston R.A. et al. Наследственный панкреатит вызван мутацией в катионном гене трипсиногена. *Nat Genet* 1996 14 141–145.
177. Xu P, He B, Zhou Q, Xu J. Establishment of reference intervals for serum amylase and lipase: a large sample study based on Chinese healthy children. *Scand J Clin Lab Invest.* 2021 Oct;81(6):502-507. doi: 10.1080/00365513.2021.1952485. Epub 2021 Jul 29. PMID: 34320876.
178. Xu X, Lai Y, Hua ZC. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci Rep.* 2019 Jan 18;39(1):BSR20180992. doi: 10.1042/BSR20180992. PMID: 30530866; PMCID: PMC6340950.
179. Yamamoto H, Itoh F, Iku S et al. Expression of matrix metalloproteinase in human pancreatic adenocarcinomas: clinicopathologic and prognostic significance of matrilysin expression. *J Clin Oncol* 2001; 19 (4): 1118–27.
180. Yang L, Zhao Z. Somatostatin plus Ulinastatin in the Treatment of Severe Acute Pancreatitis and Its Effect on Serum Cytokine Levels. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2022 Jun 9;2022:7223632. doi: 10.1155/2022/7223632. PMID: 35722142; PMCID: PMC9203218.
181. Zheng Z, Ding YX, Qu YX, Cao F, Li F. A narrative review of acute pancreatitis and its diagnosis, pathogenetic mechanism, and management. *Ann Transl*

Med. 2021 Jan;9(1):69. doi: 10.21037/atm-20-4802. PMID: 33553362; PMCID: PMC7859757.

182. Zhou L, Tan JH, Zhou WY, Xu J, Ren SJ, Lin ZY, Chen XM, Zhang GW. P53 Activated by ER Stress Aggravates Caerulein-Induced Acute Pancreatitis Progression by Inducing Acinar Cell Apoptosis. *Dig Dis Sci*. 2020 Nov;65(11):3211-3222. doi: 10.1007/s10620-020-06052-5. Epub 2020 Jan 23. PMID: 31974911.].

183. Zhou T., Song, L., Yang, P., Wang, Z., Lui, D., and Joep, R. S. (1999). Bisindolylmaleimide VIII facilitates Fas-mediated apoptosis and inhibits T cell-mediated autoimmune diseases. *Nat. Med.* 5, 42–48.

184. Zou WB, Cooper DN, Masson E, Pu N, Liao Z, Férec C, Chen JM. Trypsinogen (PRSS1 and PRSS2) gene dosage correlates with pancreatitis risk across genetic and transgenic studies: a systematic review and re-analysis. *Hum Genet*. 2022 Aug;141(8):1327-1338. doi: 10.1007/s00439-022-02436-x. Epub 2022 Jan 28. PMID: 35089416.