

УДК: 611.37:612.172.1

DOI: 10.18413/2313-8971-2015-1-4-51-56

Колмыков Д.И.
Алехин С.А.ВЛИЯНИЕ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ НА СКОРОСТЬ ОБЪЕМНОГО
КРОВОТОКА В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

- 1) ассистент кафедры хирургических болезней №2 Курского государственного медицинского университета ул. К. Маркса 3, г.Курск, РФ, 305041. e-mail: kolmikov.dmitrij@yandex.ru
- 2) кандидат медицинских наук, ассистент кафедры хирургических болезней №2 Курского государственного медицинского университета. ул. К. Маркса 3, г.Курск, РФ, 305041. e-mail: s_alehin@mail.ru

Аннотация. В работе исследована скорость объемного кровотока в поджелудочной железе на ранних стадиях ишемии/реперфузии. Было показано отсутствие транзиторной гиперемии в ответ на ишемию/реперфузии, что обусловлено развитием отека поджелудочной железы уже на ранних сроках и подтверждалось повышением Wet/Dry коэффициента и морфологическими изменениями.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, кровоток, поджелудочная железа.

Kolmykov D.I.
Alehin S.A.ISCHEMIA/REPERFUSION EFFECT ON PANCREATIC VOLUMETRICAL
BLOOD FLOW VELOCITY

- 1) Assistant. Department of Surgery. Kursk State Medical University
K.Marksa str.3, Kursk, 305041, Russia. e-mail: kolmikov.dmitrij@yandex.ru
- 2) Phd in Medical Sciences, assistant. Department of Surgery. Kursk State Medical University
K.Marksa str.3, Kursk, 305041, Russia. e-mail: s_alehin@mail.ru

Abstract. We investigate blood flow velocity at ischemia/reperfusion early stages. Transient hyperemia absence after ischemia/reperfusion caused by pancreatic edema development at early stages confirmed by Wet/Dry ratio elevation and morphological changes was determined.

Key words: ischemia, reperfusion, blood flow, pancreas.

Ишемия является как пусковым моментом, так и этапом патогенеза многих патологических состояний. Одним из первых роль на ишемии поджелудочной железы [6] и микроциркуляторных расстройств [5] в патогенезе острого панкреатита указал и экспериментально доказал Anderson (1961, 1963), что позволило разработать сосудистую модель острого панкреатита (Hoffmann и соавт., 1995) [10], позже подтвержденную в работах зарубежных [8, 13] и отечественных авторов [3].

В последние годы все больше исследователей склоняются к мысли, что именно нарушение метаболизма панкреатических клеток в результате первичной или вторичной ишемии является основной причиной развития и распространения зон некроза в поджелудочной железе даже при незначительно выраженном первичном повреждении [4, 12], что доказывается и в работах кардиохирургов, столкнувшихся с проблемой развития острого панкреатита на фоне гипоперфузии поджелудочной железы во время операций на сердце с использованием аппаратов искусственного кровообращения [9, 11, 14].

В связи с этим особое значение приобретает изучение скорости кровотока в микроциркуляторном русле поджелудочной железы, как процесса, непосредственно коррелирующего с повреждением ткани при остром панкреатите.

Ранее было установлено, что при остром панкреатите протокового генеза происходит значительное снижение кровотока в поджелудочной железе, достигая своего максимума к 1 суткам, что ведет к выраженным изменениям в паренхиме органа [1-2, 7]. Однако работ относительно влияния ранних этапов транзиторной ишемии на скорость объемной перфузии в микроциркуляторном русле поджелудочной железы в доступной литературе не было выявлено, что и явилось целью настоящего исследования.

Материалы и методы: исследование выполнено на 30 белых крысах (самцы и самки) массой 280-300 г. Все исследования проводили в одно и то же время суток, во второй половине дня, с соблюдением принципов, изложенных в «Конвенции по защите позвоночных животных,

используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Все вмешательства выполнялись под общим обезболиванием (золетил 100 в дозе 60 мг/кг + хлоралгидрат в дозе 125 мг/кг внутривенно).

Транзиторная ишемия поджелудочной железы воспроизводилась путем перекрытия просвета артерий поджелудочной железы на 30 минут с последующим возобновлением кровотока.

Скорость объемной перфузии измеряли при помощи оборудования производства Biopac systems: полиграфа с модулем MP150 для регистрации объемного кровотока методом лазерной доплеровской флоуметрии и инвазивным игольчатым датчиком TSD144. Запись и обработку данных производили при помощи программы AcqKnowledge 4.2.0, значения микроциркуляции выражали в перфузионных единицах (ПЕ).

Wet/Dry коэффициент измеряли по отношению массы поджелудочной железы сразу после забора к массе поджелудочной железы после высушивания в термостате при температуре 56⁰С до стабилизации веса.

Результаты исследования и их обсуждение. Средняя скорость объемной перфузии в поджелудочной железе интактной группы составила 418,09±39,11 ПЕ, уже к концу первой минуты ишемии она уменьшилась до недетектируемых величин и оставалась на таком уровне до конца всего эпизода 30-й минутной ишемии. К концу первой минуты реперфузии

скорость объемного кровотока повышалась до 87,15±12,83 ПЕ, а через 3 минуты с момента восстановления кровотока находилась на уровне 87,15±12,83 ПЕ. Срок 7,5 мин от восстановления кровотока характеризуется ростом скорости объемного кровотока до 103,749±10,47 ПЕ, который к 15 минутам находился на уровне 151,35 ПЕ. Восстановление скорости объемной перфузии продолжалось до срока 30 мин и составило 333,21±26,32 ПЕ. На сроке 60 минут от возобновления кровотока в сосудах поджелудочной железы отмечалось снижение скорости объемной перфузии до уровня 266,69±18,79 ПЕ. Таким образом, восстановление кровотока происходило только до уровня 79,69% от исходного и только к 30-й минуте реперфузии, а в дальнейшем имело место снижение скорости объемного кровотока до уровня 63,78% к 60-й минуте реперфузии. Наиболее наглядно динамика скорости микроциркуляции отображена на графике (рисунок 5).

Данные настоящего исследования не согласуются с данными, полученными в нашей лаборатории ранее для скорости объемного кровотока в других органах в ходе реакции на транзиторную 30-минутную ишемию печени, тонкой кишки. Так, восстановление кровотока ведет к резкому увеличению объемной перфузии в микроциркуляторном русле тонкого кишечника с максимумом на 15-20-й минуте реперфузии превышающим начальные показатели 1,75 - 2,1 раза.



Рисунок 1. Динамика показателей скорости объемной перфузии в поджелудочной железе на фоне ишемии/реперфузии
Figure 1. Dynamic of blood flow velocity data in pancreatic gland during ischemia/reperfusion

В ходе исследования колебаний системной гемодинамики не было выявлено, в связи с чем не представляется возможным объяснить различный характер данных объемного кровотока при исследовании микроциркуляции методом ЛДФ в поджелудочной железе по сравнению с печенью и

тонким кишечником изменениями центральной гемодинамики. Однако визуально нами было отмечено появление отека поджелудочной железы уже к 30й минуте реперфузии после эпизода 30-й минутной ишемии (рисунок 6).

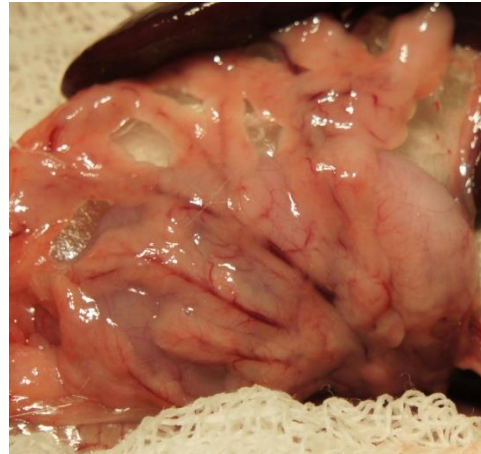
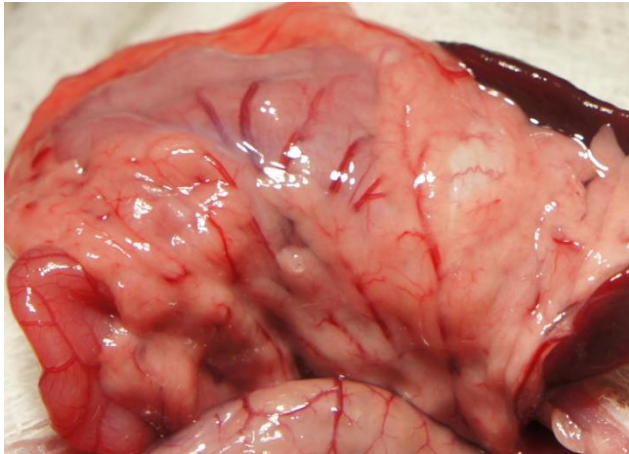


Рисунок 2. Отек и диспергированность долек поджелудочной железы на 30 минуте реперфузии (справа) по сравнению с интактной железой (слева)

Figure 2. Edema and dispersion of pancreatic lobules at 30 min of reperfusion (right) versus against intact group (left)

Наиболее распространенными методами определения степени отека являются определение Wet/Dry коэффициента и исследование экстракции синьки Эванса. Wet/Dry коэффициент оценивает ранние стадии развития отека, характеризуя нарушение проницаемости сосудистой стенки для низкомолекулярных соединений и жидкости. Степень отека, оцененная по экстракции синьки Эванса, характеризует изменение сосудистой проницаемости для крупномолекулярных соединений, что присуще для более поздних стадий формирования отека поджелудочной железы. В связи с чем с целью количественного определения степени отека поджелудочной железы нами изучено изменение Wet/Dry коэффициента в интактной группе и при ишемии/реперфузии.

В ходе работы были получены следующие результаты:

В интактной группе Wet/Dry коэффициент был на уровне $1,72 \pm 0,04$, на сроке 7,5 минут с момента восстановления кровотока в сосудах поджелудочной железы, возрастая до $2,1 \pm 0,02$, к 15-й минуте реперфузии он составил $2,5 \pm 0,02$, а к 30-й минуте возрастал до $3,06 \pm 0,03$. По нашему мнению, повышение Wet/Dry коэффициента свидетельствует о выраженном нарушении

проницаемости сосудов в группе ишемии/реперфузии. Формирующийся интерстициальный отек поджелудочной железы, с одной стороны, приводит к сдавлению питающей ножки ацинуса, тем самым уменьшая скорость кровотока в микроциркуляторном русле, что является одной из причин развития вторичных ишемических повреждений поджелудочной железы при остром панкреатите, с другой – уменьшает плотность сосудистых элементов в объеме ткани поджелудочной железы, тем самым влияя на показатели объемного кровотока в микроциркуляторном русле. Подобные изменения были также отмечены рядом авторов при остром панкреатите [7-8].

Формирование интерстициального отека поджелудочной железы нами было отмечено и в ходе морфологического исследования. Так, 30-минутная ишемия поджелудочной железы приводит к выраженным морфологическим изменениям, проявляющимся в дезорганизации структуры долек, диффузным дистрофическим изменениям ацинарных клеток (вакуолизация зимогенных зон, стертость структуры базальных гомогенных зон), выраженному венозному полнокровию, кровоизлияниям в междольковой строме (рисунок 7).

Возобновление кровотока в артериях поджелудочной железы на сроке 30 минут с

момента начала реперфузии ведет к дальнейшему усугублению повреждения, что при морфологическом исследовании проявляется дезорганизацией и стертой структурой долек, гомогенизацией цитоплазмы ацинарных клеток с исчезновением гомогенной зоны, очаговым

венозным полнокровием, вакуолизацией апикальных частей ацинарных клеток с опустошением зимогенных зон, формированием выраженного отека междольковой стромы (рисунок 8).

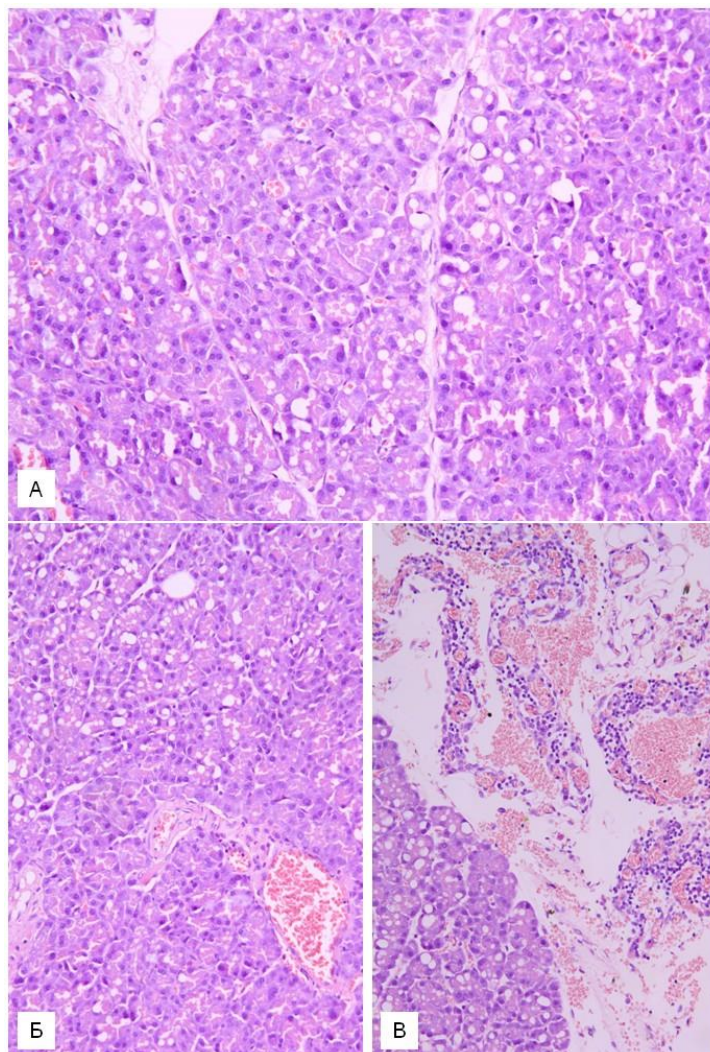


Рисунок 3. Морфологические изменения поджелудочной железы в серии 30-минутной ишемии: дезорганизация структуры долек, выраженные диффузные дистрофические изменения ацинарных клеток: вакуолизация зимогенных зон (А), венозное полнокровие (Б), кровоизлияния в междольковой строме (В). Окр. гематоксилином и эозином. Микрофото. x 100.

Figure 3. Morphological changes in pancreatic gland in 30 minutes ischemia group: disorganization of lobular structure, severe diffuse dystrophic acinar cells changes: vacuolization zymogene zones (A), venous hyperemia (B), haemorrhage into intraacinar stroma. Hematoxylin and eosin dye. Microphoto. x100

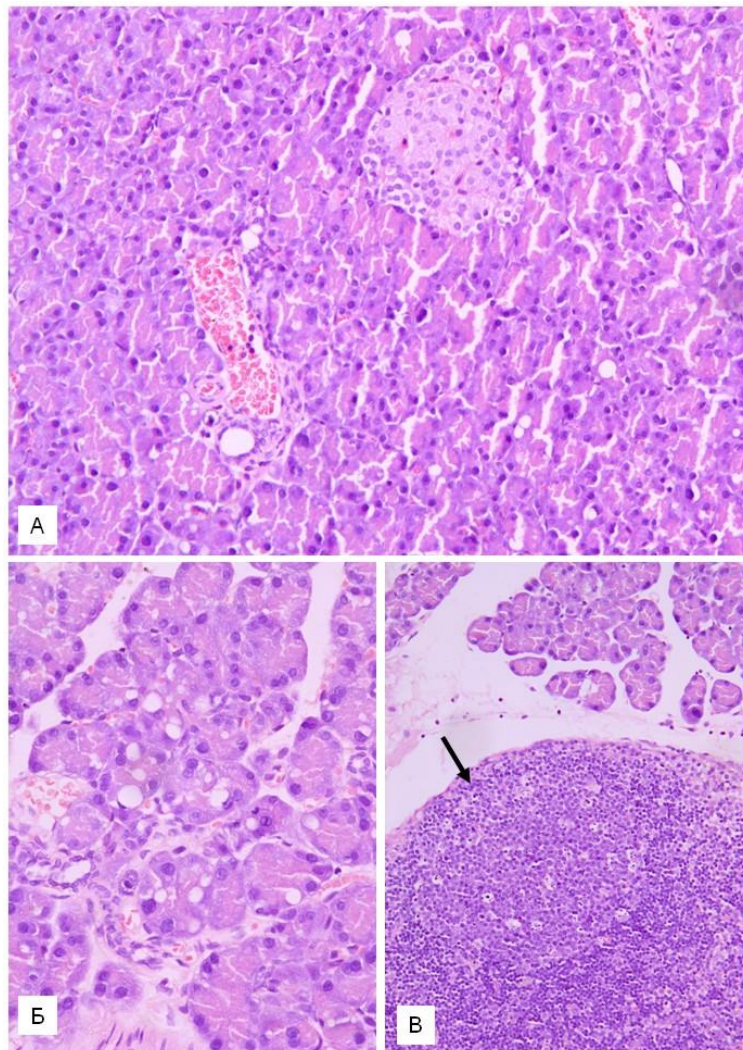


Рисунок 4. Морфологические изменения в серии ишемии и последующей 30-минутной реперфузии: прогрессирование дезорганизации структуры долек (А), вакуолизация апикальных частей ацинарных клеток (Б), отек междольковой стромы (В). Окр. гематоксилином и эозином. Микрофото. х 100 (А, В), х 200 (Б).

Figure 4. Morphological changes in group with ischemia and 30 minutes of reperfusion: progression of lobular structure disorganization, severe diffuse dystrophic acinar cells changes (A), vacuolization of cellular apical parts (B), interstitial edema. Hematoxylin and eosin dye. Microphoto. 100 (A, B), x 200 (B).

Выводы. Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют о реакции скорости объемного кровотока на ишемию/реперфузии, отличной от таковой в печени и тонком кишечнике, что проявляется отсутствием транзиторной гиперемии ввиду нарастающего интерстициального отека и подтверждается увеличением Wet/Dry коэффициента, и, с нашей точки зрения, является ключевым моментом в увеличении и распространении зон некроза при развитии острого панкреатита.

Литература

1. Алехин, С.А. Изучение динамики микроциркуляции в ткани поджелудочной железы у крыс при моделировании острого панкреатита /

С.А. Алехин, Р.А. Емельянов, Т.Г. Покровская // Университетская наука: взгляд в будущее.- сборник трудов 71-й научной конференции КГМУ и сессии Центрально-Черноземного научного центра РАМН. – 2006. – Т. 1. – С. 206.

2. Емельянов, Р.А. Исследование микроциркуляции методом лазердоплерографической флоуметрии в поджелудочной железе при остром экспериментальном панкреатите / Р.А. Емельянов, С.А. Алехин, Д.П. Назаренко // Кубанский научный медицинский вестник. – 2007. – № 1-2. – С. 50-51.

3. Кадыров, Р.К. Структурно-функциональные изменения в поджелудочной железе и ее кровеносном русле на ранних сроках экспериментальной ишемии / Р.К. Кадыров // Вестник современной клинической медицины. – 2008. – Т. 5, №3. – С. 15-18.

4. Aho, H.J. Experimental pancreatitis in the rat. Development of pancreatic necrosis, ischemia and edema after intraductal sodium taurocholate injection / H.J. Aho, T.J. Nevalainen, A.J. Aho // *Eur Surg Res.* – 1983. – Vol. 15, № 1. – P. 28-36.

5. Anderson, M.C. Venous stasis in the transition of edematous pancreatitis to necrosis / M.C. Anderson // *JAMA.* – 1963. – Vol. 183. – P. 534-537.

6. Anderson, M.C. Significance of vascular injury as a factor in the pathogenesis of pancreatitis / M.C. Anderson, J.J. Bergan // *Ann Surg.* – 1961. – Vol. 154. – P. 58-67.

7. Dembinski, A. Pancreatic damage and regeneration in the course of ischemia-reperfusion induced pancreatitis in rats / A. Dembinski, Z. Warzecha, P. Ceranowicz // *J Physiol Pharmacol.* – 2001. – Vol. 52, №2. – P. 221-35.

8. Gullo, L. Effects of ischemia on the human pancreas / L. Gullo, L. Cavicchi, P. Tomassetti // *Gastroenterology.* – 1996. – Vol. 111, №4. – P. 1033-8.

9. Haas, G.S. Acute pancreatitis after cardiopulmonary bypass / G.S. Haas, A.L. Warshaw, W.M. Daggett, H.T. Aretz // *Am J Surg.* – 1985. – Vol. 149, № 4. – P. 508-15.

10. Hoffmann, T.F. Ischemia reperfusion of the pancreas: a new in vivo model for acute pancreatitis in rats / T.F. Hoffmann, R. Leiderer, H. Waldner // *Res Exp Med (Berl).* – 1995. – Vol. 195, № 3. – P. 125-44.

11. Kishino, T. Acute pancreatitis during haemodialysis / T. Kishino, K. Nakamura, H. Mori // *Nephrol Dial Transplant.* – 2005. – Vol. 20, №9. – P. 2012-3.

12. Klar, E. Pancreatic ischaemia in experimental acute pancreatitis: mechanism, significance and therapy / E. Klar, K. Messmer, A.L. Warshaw // *Br J Surg.* – 1990. – Vol. 77, № 11. – P. 1205-10.

13. Obermaier, R. Ischemia/reperfusion-induced pancreatitis in rats: a new model of complete normothermic in situ ischemia of a pancreatic tail-segment / R. Obermaier, S. Benz, B. Kortmann // *Clin Exp Med.* – 2001. – Vol. 1, № 1. – P. 51-9.

14. Sakorafas, G.H. Intra-abdominal complications after cardiac surgery / G.H. Sakorafas, G.G. Tsiotos // *Eur J Surg.* – 1999. – Vol. 165, № 9. – P. 820-7.

References

1. Alehin S.A., Emelianov R.A., Pokrovskay T.G. Microcirculation dynamic investigation in rat pancreatic tissue in acute pancreatitis modeling. University science: Look to the future.-collected papers 71 scientific conference KSMU and session Central-Chernozem scientific centre RAMS. V.1 (2006): P. 206.

2. Emelianov R.A., Alehin S.A., Nazarenko D.P. Microcirculation investigation by lazerdopplerflowmetry method in pancreatic gland during acute experimental pancreatitis. *Kuban's scientific bulletin. №1-2 (2007): P. 50-51.*

3. Kadyrov R.K. Structural-functional changes in pancreatic gland and it's blood vessels in early stages of experimental ischemia. *Bulletin of current clinical medicine. V.5, №3 (2008): P. 15-18.*

4. Aho H. J., Nevalainen T. J., Aho A. J. Experimental pancreatitis in the rat. Development of pancreatic necrosis, ischemia and edema after intraductal sodium taurocholate injection. *Eur Surg Res. Vol. 15, № 1. (1983): P. 28-36.*

5. Anderson M. C. Venous stasis in the transition of edematous pancreatitis to necrosis. *JAMA. Vol. 183 (1963): P. 534-7.*

6. Anderson M. C., Bergan J. J. Significance of vascular injury as a factor in the pathogenesis of pancreatitis. *Ann Surg. Vol. 154. (1961): P. 58-67.*

7. Dembinski A., Warzecha Z., Ceranowicz P. Pancreatic damage and regeneration in the course of ischemia-reperfusion induced pancreatitis in rats. *J Physiol Pharmacol. Vol. 52, № 2. (2001): P. 221-35.*

8. Gullo L., Cavicchi L., Tomassetti P. Effects of ischemia on the human pancreas. *Gastroenterology. Vol. 111, № 4 (1996): P. 1033-8.*

9. Haas G. S., Warshaw A. L., Daggett W. M. Acute pancreatitis after cardiopulmonary bypass. *Am J Surg. Vol. 149, № 4. (1985): P. 508-15.*

10. Hoffmann T. F., Leiderer R., Waldner H. Ischemia reperfusion of the pancreas: a new in vivo model for acute pancreatitis in rats. *Res Exp Med (Berl). Vol. 195, № 3 (1995): P. 125-44.*

11. Kishino T., Nakamura K., Mori H.« et al.». Acute pancreatitis during haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant. Vol. 20, № 9 (2005): P. 2012-3.*

12. Klar E., Messmer K., Warshaw A. L., Herfarth C. Pancreatic ischaemia in experimental acute pancreatitis: mechanism, significance and therapy. *Br J Surg. Vol. 77, № 11. (1990): P. 1205-10.*

13. Obermaier R., Benz S., Kortmann B. Ischemia/reperfusion-induced pancreatitis in rats: a new model of complete normothermic in situ ischemia of a pancreatic tail-segment. *Clin Exp Med. Vol. 1, № 1 (2001): P. 51-9.*

14. Sakorafas G. H., Tsiotos G. G. Intra-abdominal complications after cardiac surgery. *Eur J Surg. Vol. 165, № 9 (1999): P. 820-7.*