

Электрическая активность поджелудочной железы при повреждении ее этиловым спиртом

ТРУБАЧЕВА А.В.	к.м.н., врач-хирург МУЗ ГКБ №11, Омск
ДОЛГИХ В.Т.	д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, зав. кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии Омской медицинской академии
АНИЩЕНКО В.В.	д.м.н., профессор, зав. кафедрой хирургии факультета последипломного образования Новосибирского медицинского университета
ДОЛГИХ Т.И.	д.м.н., профессор, зав. ЦНИЛ Омской медицинской академии
ДЖАФАРОВА О.А.	к.ф.-м.н., рук. лаб. компьютерных систем биоуправления, НИИ молекулярной биологии и биофизики СО РАМН, Новосибирск
СОКОЛОВ А.В.	с.н.с. лаб. компьютерных систем биоуправления, НИИ молекулярной биологии и биофизики СО РАМН, Новосибирск
ЕРШОВ А.В.	к.м.н., с.н.с. ЦНИЛ Омской медицинской академии

Омская государственная медицинская академия:
644043, Омск-43, ул. Ленина, 12; тел.: (3821) 23-25-40; e-mail: prof_dolgih@mail.ru

В эксперименте на 11 беспородных котах изучена электрическая активность поджелудочной железы при повреждении ее этиловым спиртом в различных дозах. Выявлено 3 типа повышения электрической активности железы при ее повреждении, связанные с дозой вводимого этанола, фиксирующее момент гибели клеток и регистрирующее динамику развития панкреатита.

Ключевые слова: поджелудочная железа, электрическая активность, панкреатит

Введение

Актуальность диагностики и лечения больных острым панкреатитом как одного из грозных заболеваний органов брюшной полости обусловлена его высоким удельным весом в структуре патологии органов брюшной полости, возрастающей частотой этого заболевания и его осложнений, угрожающих жизни больного [4, 7]. Проблема осложняется трудностями своевременной диагностики стадии развивающегося острого панкреатита, оценки тяжести общего состояния пациента, ограниченными возможностями муниципальных лечебных учреждений в оказании больным своевременной и адекватной помощи. В Российской Федерации заболеваемость панкреатитом не имеет тенденции к снижению [5, 6]. Одним из этиологических факторов острого панкреатита и панкреонекроза служит этиловый алкоголь, потребление которого в России с 1990 г. до 2007 г. возросло в 1,8 раза, а количество больных алкоголизмом приближается к трем миллионам [3]. Биотрансформация этанола с образованием ацетальдегида, накоплением восстановленного никотинамидадениннуклеотида служит основой нарушения окислительно-восстановительного потенциала клеток, играющего существенную роль в развитии начальных поражений головного мозга, печени, сердца, поджелудочной железы [9]. Кроме того, под влиянием этанола интенсифицируются процессы перекисного окисления липидов, что сопровождается повреждением

сосудистого эндотелия [2, 10], нарушением системы гемостаза и микроциркуляции [1, 8].

Разработка электрографического метода для изучения динамики развития панкреатита и его прогноза, определения размеров очагов некробиоза в поджелудочной железе по изменению электрического сигнала с железы при воздействии этанола стало целью настоящего исследования. В связи с этим нами принята попытка отработать методику on-line, позволяющую оценивать функциональное состояние поджелудочной железы в норме, исследовать процесс некроза панкреоцитов под воздействием этилового спирта и прогнозировать течение заболевания до появления демаркации зон некроза в железе. Проведена апробация методики on-line верификации экзо- и эндокринной функции поджелудочной железы в условиях острого панкреатита, вызванного этанолом.

Материал и методы

Исследование проведено на 11 беспородных котах в условиях острого эксперимента, поскольку строение поджелудочной железы у них наиболее схоже со строением поджелудочной железы человека. Использован прибор БИ-01Р, входящий в состав программно-аппаратного комплекса «БОСЛАБ» (Новосибирск, Институт молекулярной биологии и биофизики СО РАМН), позволяющий визуализировать, регистрировать электрические сигналы с поджелудочной железы,

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ НАРКОЛОГИЯ

автоматически их обрабатывать, осуществлять статистический анализ (включая спектральный анализ), хранить их в базе данных и экспортировать в электронную таблицу MS Office Excel. В качестве электродов использована платиновая проволока диаметром 1 мм.

Исследовали динамику электрического сигнала при непосредственном воздействии этанола на поджелудочную железу. С этой целью у животных, наркотизированных зоветилом (5 мг/кг), осуществляли лапаротомию. Регистрировали исходный сигнал в течение 10 мин последовательно в трех стандартных отведениях («голова—тело», «тело—хвост» и «головка—хвост»), а затем вызывали повреждение железы путем введения в нее 95%-ного раствора этилового спирта в дозе

3 мл/кг (5 животных) и 6 мл/кг (6 животных). Каждый час фиксировались морфологические изменения в поджелудочной железе и брюшной полости. В конце эксперимента изучали ответ поврежденной железы на внутривенное введение 40%-ного раствора глюкозы. По окончании эксперимента забирали поджелудочную железу для выявления структурных изменений в ней. Материал фиксировали в течение 10 суток в нейтральном 10%-ном забуференном растворе формалина, затем проводили обезвоживание в нарастающих по концентрации спиртах и заливали в парафиновые блоки с маркировкой. Срезы готовили на микротоме МС-2 толщиной 5—10 мкм, окрашивали их гематоксилином и эозином, а затем микроскопировали.

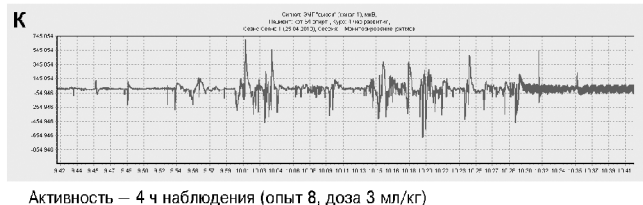
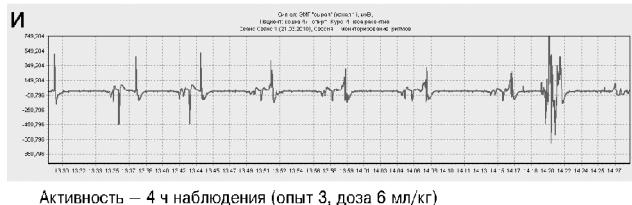
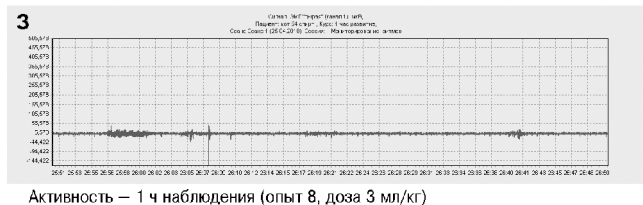
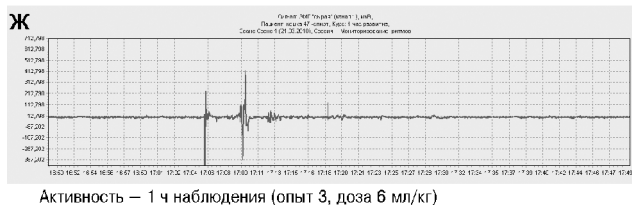
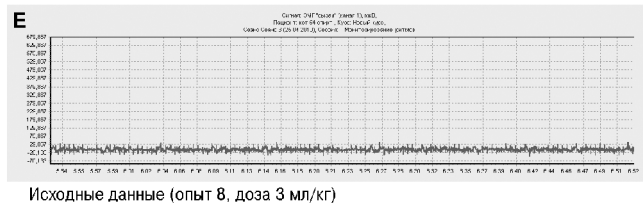
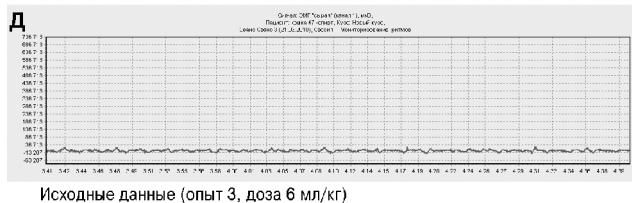
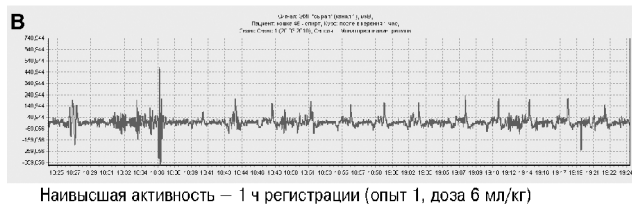
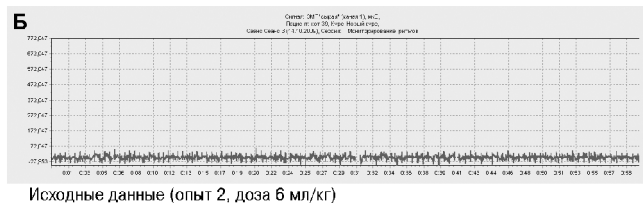
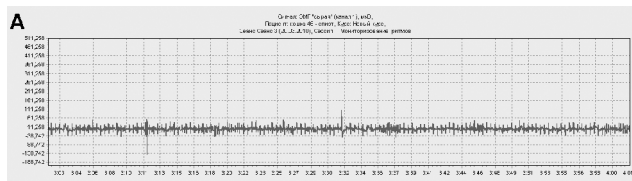


Рис. 1. Электрограмма поджелудочной железы после повреждения поджелудочной железы этиловым спиртом:

А — исходные данные (опыт 1, доза 6 мл/кг); Б — исходные данные (опыт 2, доза 6 мл/кг); В — наивысшая активность — 1 ч регистрации (опыт 1, доза 6 мл/кг); Г — наивысшая активность — 1 ч регистрации (опыт 2, доза 6 мл/кг); Д — исходные данные (опыт 3, доза 6 мл/кг); Е — исходные данные (опыт 8, доза 3 мл/кг); Ж — активность — 1 ч наблюдения (опыт 3, доза 6 мл/кг); З — активность — 1 ч наблюдения (опыт 8, доза 3 мл/кг); И — активность — 4 ч наблюдения (опыт 3, доза 6 мл/кг); К — активность — 4 ч наблюдения (опыт 8, доза 3 мл/кг)

Результаты исследования и их обсуждение

После повреждения поджелудочной железы этиловым спиртом в дозе 6 мл/кг в двух случаях электрическая активность резко повышалась к концу первого часа наблюдения: пики достигали 800 мкВ. При этом в одном случае регистрация сигналов с поджелудочной железы осуществлялась в течение 5 ч. Характерно, что электрическая активность в железе увеличивалась неоднократно, но повышение проявлялось единичными высоковольтными пиками и чередовалось с длительным отсутствием сигнала с железы. При этом электрограмма была почти плоской, а вольтаж колебаний низкий. В другом случае регистрация электрической активности поджелудочной железы длилась чуть более часа после ее повреждения в связи с гибелью животного и вольтаж также был высоким (рис. 1).

Макроскопически сразу после введения спирта в поджелудочную железу она приобрела серый цвет почти на всем протяжении, в течение часа в брюшной полости скапливался серозно-геморрагический выпот,

отмечался умеренный отек железы с распространением на забрюшинное пространство. В конце первого — начале второго часа появились участки гиперемии в железе. В течение всего эксперимента морфологическая картина повреждений в железе и брюшной полости практически не менялась. В конце эксперимента внутривенно было введено 10 мл 40%-ного раствора глюкозы; ответ на глюкозу был слабый или отсутствовал.

В двух других случаях электрическая активность железы после повреждения в первый час повысилась незначительно и медленно нарастала в течение последующих двух часов с увеличением частоты и вольтаж проходящих пиков. Наиболее высокой активность железы была на четвертом часу регистрации (рис. 1). Макроскопически на протяжении первого часа в железе появлялись пятна серого цвета, отек и гиперемия железы были умеренными, выпота мало, он имел серозный характер. В течение следующих трех часов морфологические изменения в железе медленно нарастали, в брюшной полости увеличивалось количество выпота в железе, участки гиперемии по-

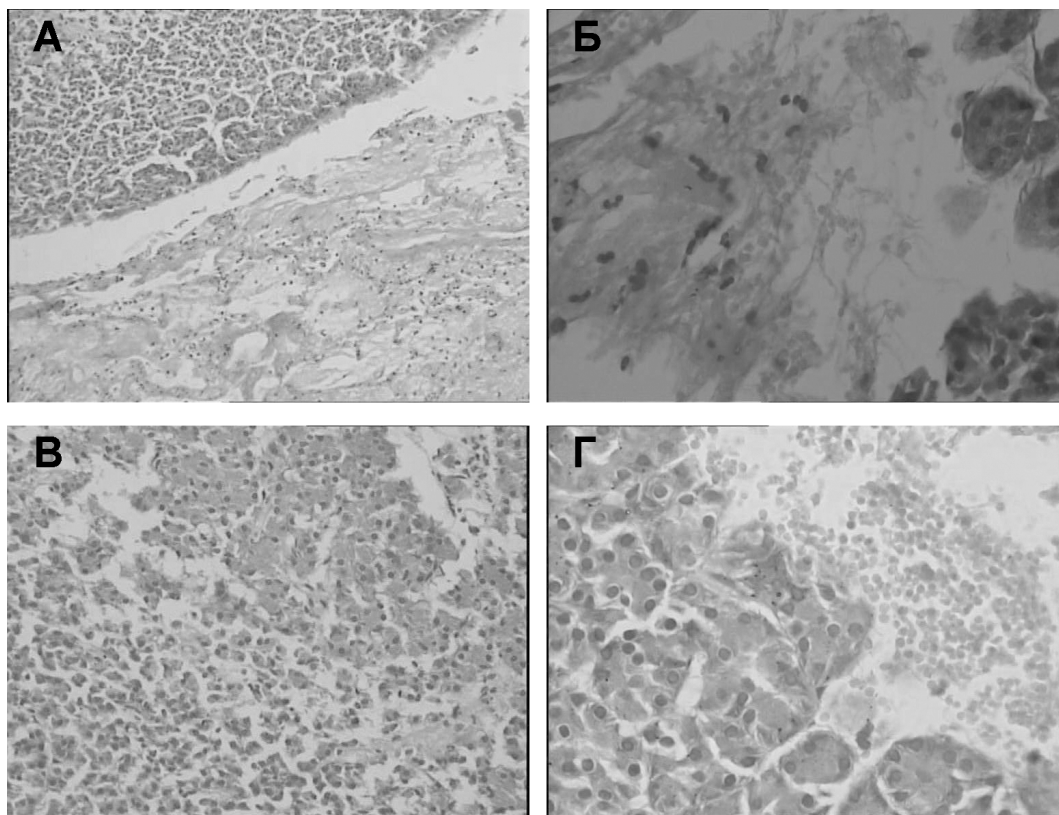


Рис. 2. Структурные изменения при повреждении поджелудочной железы этиловым спиртом:

А — поджелудочная железа через 1 ч после введения этанола (6 мл/кг). Отек, кровоизлияния, междольковый проток. Ув. 134. Окраска гематоксилином и эозином; Б — поджелудочная железа через 2 ч после введения этанола (6 мл/кг). Отек, разрушение долек, мелкие очаги некроза. Ув. 336. Окраска гематоксилином и эозином; В — поджелудочная железа через 2 ч после введения этанола (3 мл/кг). Отек, мелкие очаги некроза. Ув. 180. Окраска гематоксилином и эозином; Г — поджелудочная железа через 1 ч после введения этанола (6 мл/кг). Геморрагии, отек, очаги некроза. Ув. 336. окраска гематоксилином и эозином

степенно увеличились в размерах. Появлялись нити фибрина. Тест на внутривенное введение глюкозы был положительным, хотя вольтаж пиков был ниже обычного. Еще 2 животных погибли в течение первого часа. Повышение электрической активности железы было незначительным — вольтаж пиков не превышал 300 мкВ, но значительно увеличивалась частота их появления.

Всего в этой группе в течение первого часа погибли 3 животных, через 4 ч — одно животное; в двух опытах регистрация электрических сигналов продолжалась более 6 ч, но и эти животные погибали от развивавшегося панкреонекроза. Микроскопически у них выявлялся отек железы, множественные кровоизлияния и мелкие очаги некроза (рис. 2).

В группе животных (5 опытов), у которых повреждение железы осуществлялось введением в железу этилового спирта в дозе 3 мл/кг, лишь в опыте активность медленно нарастала в течение первых трех часов, а резкое повышение ее активности зафиксировано на 4-м часу развития панкреатита. У остальных четырех животных электрическая активность железы после повреждения возросла незначительно, пики с высоким вольтажом были единичными, а преобладали пики до 200 мкВ. При внутривенном введении 10 мл 40%-ного раствора глюкозы наблюдалось резкое повышение вольтаж и частоты проходящих пиков, что соответствовало ответу на глюкозу непораженной железы. Появление выпота в брюшной полости задерживалось от 2,5 до 5 ч, и выпот имел серьезный характер. Железа была отечна, очаги гиперемии были небольшими, дольчатость ее сохранялась, отека в забрюшинном пространстве не отмечено.

В группе погибло одно животное спустя 5 ч после моделирования панкреатита. В остальных случаях регистрация сигнала проводилась в течение 7 ч, затем животные подвергались этанализу, а поджелудочная железа забиралась для структурного исследования. Микроскопически преобладал отек стромы железы, выявлялись мелкие очаги некроза, но не у всех животных. Основные результаты эксперимента представлены в таблице.

Заключение

Таким образом, выявлено три типа активности железы после повреждения этанолом:

- 1-й тип — резкое повышение активности сразу же после повреждения железы этанолом, а затем периодическое повышение активности на фоне практически плоской электрограммы поджелудочной железы;
- 2-й тип — медленное нарастание электрической активности в течение 3 ч и резкое повышение ее на 4-м часу наблюдения;
- 3-й тип — отсутствие или малодостоверное повышение активности после повреждения в течение всего продолжительного периода регистрации сигнала.

При повреждении железы спиртом в дозе 6 мл/кг отсутствие электрической активности зарегистрировано в двух случаях, это связано с ранней гибелью животных, тогда как достоверное повышение активности при повреждении в дозе 3 мл/кг отмечено лишь в одном случае.

Проведенное исследование позволяет утверждать, что проявление электрической активности железы, регистрируемое после ее повреждения, зависит от начальной повреждающей дозы этанола. Не вызывает сомнения тот факт, что регистрируемая активность поджелудочной железы связана с повреждающей дозой этанола и фиксирует момент гибели клеток. Отмечено, что и проявления патологических изменений в брюшной полости и поджелудочной железе оказываются наиболее ярко выраженными после повышения электрической активности железы, особенно у тех животных, где ее активность была наиболее высокой.

При этом при первом типе наибольшее повреждение железы происходит, вероятно, в первый час и обусловлено количеством поврежденных клеток, а при 2-м типе резкое возрастание электрической активности является следствием вторичного повреждения клеток в процессе развития панкреатита. При 3-м типе активность повышалась незначительно и изменения в брюшной полости и железе были скудными.

Таблица

Повреждение поджелудочной железы этиловым спиртом

Основные признаки	Количество вводимого спирта	
	6 мл/кг (n=6)	3 мл/кг (n=5)
Летальность	4	1
Резкое повышение биоэлектрической активности железы на протяжении первого часа наблюдения	2	—
Резкое повышение биоэлектрической активности железы на протяжении четвертого часа наблюдения	2	1
Незначительное повышение биоэлектрической активности железы	2	4
Положительный ответ на внутривенно вводимый 40% раствор глюкозы	—	5
Появление выпота в брюшной полости в течение первых двух часов после повреждения железы	3	1
Появление выпота в период от 3 до 5 ч после повреждения железы	2	4

Хотя нет достоверных данных о том, электрическая активность каких именно клеток поджелудочной железы преобладает в сигнале при ее повреждении этанолом, но схожая форма сигнала, регистрируемая в момент повреждения и при введении глюкозы, позволяет думать об островковой части железы [11]. Кроме того, ранее проведенные опыты с повреждением железы трипсином и предварительные данные проб крови, взятых в момент повышения активности, позволяют предположить, что именно трипсин является ведущим фактором патогенеза панкреонекроза, увеличивая электрическую активность островковой части поджелудочной железы. Отрицательный тест на внутривенное введение глюкозы может свидетельствовать о частичной гибели островков Лангерганса либо об их истощении, что и проявляется повышением глюкозы крови у пациентов с тяжелыми формами панкреонекроза [5, 7].

Таким образом, время появления электрической активности, вольтаж и частота проходящих пиков (мощность сигнала), позволяют прогнозировать течение заболевания. Несмотря на сложность эксперимента и множество еще не решенных проблем, связанных с улучшением качества регистрации сигнала, математической обработки, фильтрации помех, результаты экспериментального моделирования панкреатита представляются перспективными для дальнейшего изучения и использования в практической медицине.

PANCREAS ELECTRIC ACTIVITY AT ITS ETHANOL DAMAGE

TRUBACHOVA A.V., DOLGIKH V.T., ANISCHENKO V.V.,
DOLGIKH T.I., DZHAFAROVA O.A., SOKOLOV A.V., ERSHOV A.V.

Tentatively on 11 mongrel cats pancreas electric activity at its damage by various ethanol doses was studied. At the pancreas damage three types of its electric activity increase, fixing apoptosis and registering pancreatitis development dynamics according to the introduced ethanol dose, have been revealed.

Key words: the pancreas, electric activity, pancreatitis

Список литературы

1. Долго-Сабуров В.Б., Петров А.Н., Беляев В.А. О роли окислительного стресса в формировании цитотоксических эффектов этанола // Токсикологический вестник. — 2010. — №1. — С. 6—10.
2. Корякин А.М., Епифанцева Н.Н., Дадька И.В. и др. Оксидативный стресс и повреждение сосудистого эндотелия у больных хроническим алкоголизмом II стадии // Наркология. — 2009. — №10. — С. 50—53.
3. Кошкина Е.А., Павловская Н.И., Ягудина Р.И. и др. Медико-социальные и экономические последствия злоупотребления алкоголем в России // Наркология. — 2009. — №11. — С. 24—31.
4. Прудков М.И., Галимзянов Ф.В. Некротизирующий панкреатит. — Екатеринбург, 2005. — 68 с.
5. Решетников Е.А., Башилов В.П., Ляликов В.А., Ульянов В.И. Дифференцированное лечение острого панкреатита // Хирургия. — 2005. — №8. — С. 45—51.
6. Савельев В.С. Диагностическая и лечебная тактика при панкреонекрозе // Рус. мед. журнал. — 2006. — №5. — С. 9—14.
7. Савельев В.С., Филимонов М.И., Бруневич С.З. Панкреонекрозы. — М., 2008. — 259 с.
8. Berdabini C.M., Gambetti S., Dondi A., Cervelatti C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage // Current Pharmaceutical Design. — 2004. — Vol. 10, №14. — P. 1611—1626.
9. Lindros K.O. Alcoholic liver disease: pathobiological aspects // J. Hepatol. — 1995. — Vol. 23. — P. 7—15.
10. Ren J., Wold E. Mechanisms of alcoholic heart disease // Therapeutic advances in Cardiovascular Disease. — 2008. — Vol. 10. — P. 1177—1180.
11. Tamar H., Tamar L., Yuval M. Sensing of pancreatic electrical activity /US2007/0060812A1 /15.03/2007/1-38.