

*Ранцев М.А.<sup>1</sup>, Сарapultsev П.А.<sup>2</sup>, Кузнецов Н.Н.<sup>1</sup>, Чупахин О.Н.<sup>3</sup>, Сарapultsev А.П.<sup>2</sup>, Ходаков В.В.<sup>1</sup>, Сидорова Л.П.<sup>3</sup>*

## Коррекция гемокоагуляционных нарушений при экспериментальном панкреонекрозе

1 - ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург; 2 - Учреждение РАН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, г. Екатеринбург; 3 - Учреждение РАН Институт органического синтеза им. И.Я. Пастерского УрО РАН, г. Екатеринбург

*Rantsev M.A., Sarapultsev P.A., Kuznetsov N.N., Chupakhin O.N., Sarapultsev A.P., Chodakov V.V., Plaksin K.V., Sidorova L.P.*

## Correction of hemocoagulation abnormalities in experimental pancreatic necrosis

### Резюме

Цель работы заключалась в изучении воздействия соединения «L-17» из группы замещённых 5R1, 6H2-1,3,4-тиадиазин-2-аминов на течение острой воспалительной реакции при экспериментальном панкреонекрозе по пока-зателям гемокоагуляции. Экспериментальная модель панкреонекроза воспроизведена на крысах. Полученные результаты позволяют судить о высокой эффективности соединения «L-17» при лечении экспериментального панкреонекроза, что подтверждается предупреждением развития ДВС-синдрома.

**Ключевые слова:** экспериментальный панкреонекроз, гемокоагуляция

### Summary

The goal of the study lies in researching the possibility of influence of compound "L-17", from the group of substituted 5R1, 6H2-1,3,4-thiadiazine-2-amines, on the process of acute inflammation reaction in experimental pancreatic necrosis on the indices of hemocoagulation. An experimental model of pancreatic necrosis has been reproduced on rats. The results let us assert that the compound "L-17" has high efficiency when curing an experimental pancreatic necrosis. It has been proved by prevention of the progression of Disseminated Intravascular Coagulation syndrome.

**Key words:** experimental pancreatic necrosis, hemocoagulation, pancreonecrosis

### Введение

В настоящее время острый панкреатит вышел на первое место среди острых заболеваний органов брюшной полости. Общая летальность при остром панкреатите составляет 4-15%, а деструктивных формах достигает 25-60% [1-6]. Значение сосудистого фактора и нарушений системы гемостаза в патогенезе острого панкреатита подтверждается многими исследователями [7-10]. Нарушения гемокоагуляции возникают, как под влиянием попадающего в кровь трипсина, который осуществляет активацию плазминогена в плазмин и активирует фактор Хагемана, в свою очередь активизирующий XI фактор свертывания крови, оказывая влияние на процессы гемокоагуляции и фибринолиза, так и вследствие активизация калликреин-кининовой системы, активизирующей процессы свертывания и фибринолиза. Совместное воздействие трипсин и кининов может приводить к развитию диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. [8.11-13]. Вот почему в большинстве схем консервативного лечения панкреонекроза включены антиа-

греганты, однако они не рассматриваются как самостоятельное звено с точки зрения коррекции течения острой воспалительной реакции, относительно выраженности коагулопатических и эндотоксических нарушений [14-17]

*Цель работы* - изучение возможности коррекции гемокоагуляционных нарушений при экспериментальном панкреонекрозе с помощью соединения «L-17» (О.Н. Чупахин, Л.П.Сидорова и др. «Замещённые 5R1, 6H2 -1,3,4-тиадиазин-2-амины...». – Патент РСТ РФ № 2259371 от 27.08.2005).

### Материалы и методы

Эксперимент проводился на здоровых половозрелых нелинейных белых крысах женского пола, одного возраста. В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария Института биологии УрО РАН. Все исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и дру-

гих целей (г. Страсбург, Франция, 1986) и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.). Моделирование панкреонекроза производилось по авторской модели (М.А. Ранцев, П.А. Сарапульцев и др. «Способ моделирования панкреонекроза у крыс». - Патент РСТ РФ № 2388063 от 27.04.2010). Сформированы две группы по 15 животных с экспериментальным панкреонекрозом. Интраоперационной летальности не было. Основная группа состояла из 15 животных со средней массой 223 грамма. Соединение L-17 вводилось в дозе 40 мг/кг с частотой 1 раз в сутки, внутривентриально. В контрольную группу вошли 15 животных со средней массой 220 грамм, которым также была воспроизведена модель панкреонекроза, но медика-ментозное воздействие не оказывалось.

Показатели гемостазиограммы, для оценки выраженности гемокоагуляционных нарушений, включали: данные тромбозластограммы (R, M и MA), антитромбин III, фибриноген, протромбиновый индекс, Д-димеры. Тромбозластография выполнялась на 4-х канальном тромбозластометре «ROTEM» (Германия). Антитромбин III, фибриноген и Д-димеры определяли на автоматическом анализаторе «Sysmex CA7000 System» (Япония) реагентами Dade Beuyring (Simens, Германия). Коагулологический метод использовали для определения концентрации фибриногена. Хромогенный – для определения процента активности АТ III и метод иммунного анализа для определения концентрации Д-димеров. ПТИ определяли на коагулографе «Start-4» (Франция) реактивами «Техпластин» (Россия). В статистических исследованиях применен критерий Стьюдента (t), для математической обработки данных при сравнении исследуемых групп использована компьютерная программа SPSS.

## Результаты и обсуждение

Животные выводились из эксперимента на первые, пятые и седьмые сутки в соответствии с фазами течения панкреонекроза. Выполнялась релапаротомия, производилась оценка макроскопических изменений, забор крови из аорты кубитальным катетером для исследования показателей гемостаза. Летальность в первые сутки отсутствовала. В обеих группах повышенной кровоточивости тканей не отмечено, нарушений кровоснабжения интактных органов гепатодуоденальной зоны не выявлено, петли кишечника, и париетальная брюшина не изменены, выпота нет. Поджелудочная железа отечная, с очагами кровоизлияния и бляшками стеатонекрозов. Печень, почки, селезенка, сердце и печень без значимых макроскопических изменений. В контрольной группе макроскопически значимых изменений в поджелудочной железе и других органах не выявлено, за исключением двенадцатиперстной кишки, в которой у трех крыс контрольной группы выявлены очаги венозного застоя без некробиотических изменений стенки кишки, перистальтика сохранена. На 2-е и 3-и сутки в группе животных с панкреонекрозом, не получавших лечения, зафиксировано два летальных исхода. По данным вскрытия причиной летальных исходов явилось возникновение венозного тромбо-

за в двенадцатиперстной и тонкой кишке с некрозом их стенки и развитием перитонеальных явлений. В группе животных с панкреонекрозом, получавших лечение соединением L-17, летальности не было.

На 5-е сутки в группе, получавших лечение соединением L-17, отмечено значительное стихание некротических и воспалительных изменений в подже-лудочной железе, в подпеченочном пространстве имелся хорошо выраженный спаечный процесс, повышенной кровоточивости тканей не было. В группе не получавших лечения, имелись очаги инфильтрации вокруг панкреонекротических локусов, выраженный спаечный процесс в подпеченочном пространстве, единичные очаги стеатонекрозов. На 7-е сутки при релапаротомии выраженной кровоточивости в исследуемой группе не отмечено. В обеих группах в подпеченочном пространстве выражен спаечный процесс, поджелудочная железа с остаточными признаками воспалительных явлений вокруг зон панкреонекроза, нарушения кровоснабжения органов брюшной полости нет. У одной крысы в группе не получавшей лечения, выявлен абсцесс с крошковидным содержимым в зоне дна желудка. Нагноения операционной раны не было в обеих группах.

Для объективизации данных были проведены исследования у животных с лапаротомией без формирования панкреонекроза, чтобы исключить факт влияния операционной травмы в виде лапаротомии на результаты эксперимента.

Данные изменений гемостазиограммы, через сутки от начала эксперимента, отражены в таблице № 1.

При анализе гемостазиограммы первых суток выявлена тенденция к большему увеличению активности свёртывающей системы у крыс в контрольной группе. Максимальная концентрация фибриногена (в г/л) была выявлена в контрольной группе, а минимальная в основной группе. Концентрация АТ III (антитромбин III, в %) имеет близкое значение во всех группах. ПТИ (протромбиновый индекс, в %) был низкий в основной группе, а самый высокий - в контрольной. При подсчете количества тромбоцитов (109/л) обнаружено, что их количество было минимальным в контрольной группе, а максимум - в группе с лапаротомией. Количество тромбоцитов в основной группе почти совпадало с их количеством в группе с лапаротомией. По данным тромбозластограммы в основной группе имеется достоверное снижение коагуляционной активности крови в 1 и 2 фазах свертывания и формирования фибрин-тромбоцитарной структуры сгустка по таким показателям, как R, K и MA (R – показатель характеризующий первые 2-е фазы свертывания крови (мин.); K(мин.) и MA(мм) – показатели характеризующие качество фибрин-тромбоцитарной структуры сгустка), в сравнении с контрольной группой. Аналогично ведут себя данные показатели в группе с лапаротомией. Концентрация Д-димеров (показатель, отражающий дисбаланс в системе тромбинообразования и фибринолиза, в нг/мл) имела наименьшее значение в основной группе, а максимальный уровень - контрольной группе. Концентрация Д-димеров в контрольной группе превышала

Таблица 1. Гемостазиограмма на первые сутки эксперимента

Группа	R	K	МА	АТ III	Фибриноген	Тромбоциты	ПТИ	Д-димеры
Лапаротомия без панкреонекроза	5,22*	1,04	71,6*	126,3	6,8*	668*	82,3	254,67*
±m	0,44	0,26	1,28	3,14	0,92	42,9	2,37	31,5
Панкреонекроз без лечения	3,352*	0,77*	77,76*	132*	7,98*	511*	83,8*	538,1*
±m	0,412	0,15	1,92	4,62	0,77	41,77	3,27	141,95
Панкреонекроз при лечении L-17 (основная)	4,78*	1,31*	67,83*	119,3*	6,3*	653*	77*	221,83*
±m	0,46	0,17	1,29	6,45	0,31	58,7	1,13	104,2

Примечание. \*—различие между признаками статистически достоверно ( $p < 0,05$ )

Таблица 2. Гемостазиограмма на пятые и седьмые сутки эксперимента

Группа	R	K	МА	АТ III	Фибриноген	Тромбоциты	ПТИ	Д-димеры
Лапаротомия	4,64	0,73*	65*	121,5*	3,55*	951*	77	240,5*
±m	0,24	0,14	0,47	1,18	0,21	130,4	2,36	40,3
Панкреонекроз без лечения	5,29*	1,04	66,7*	128,7*	4,0*	833	79	206,96*
±m	0,32	0,25	0,49	1,71	0,09	36,4	0,58	85,78
Панкреонекроз с L-17	4,33*	1,17	65*	133,3*	4,33*	837	77	130,13*
±m	0,4	0,1	0,8	4,5	0,3	37,8	1,94	55,8
Гемостазиограмма на седьмые сутки эксперимента								
Лапаротомия	4,23	0,51*	70,3*	127,5	4,2*	800*	72*	221*
±m	0,09	0,08	3,66	5,42	0,61	11,7	0,72	14,14
Панкреонекроз без лечения	4,21*	0,83	67,2*	130,5*	3,46	1001*	77	288,5*
±m	0,28	0,16	2,5	7,5	0,39	70,3	1,35	69,0
Панкреонекроз с L-17	2,99	0,83	60,6*	106*	3,2*	1018	80	42,5*
±m	0,8	0,19	2,5	5,82	0,24	114,5	2,3	14,3

Примечание. \*—различие между признаками статистически достоверно ( $p < 0,05$ )

аналогичный показатель в основной группе в 2,4 раза.

На 5-е сутки эксперимента показатели гемокоагуляции выглядели следующим образом (табл. 2).

Концентрация фибриногена с 1-х по 5-е сутки эксперимента отчетливо снижалась во всех группах. В группе с изолированной лапаротомией на 190%, в контрольной группе на 200%, в основной группе на 146%. Концентрация АТ III в основной группе имела наиболее низкое значение, а в контрольной группе - максимальное. Отмечено так же снижение ПТИ с 1-х по 5-е сутки в контрольной и лапаротомной группе, без динамики в основной группе. В течение с 1-х по 5-е сутки отмечено повышение количества тромбоцитов во всех группах. Прирост количества тромбоцитов в группе с лапаротомией составил 142%, в контрольной группе - 163% и в основной группе - 128%. При анализе показателей тромбоэластограммы на 5 сутки по отношению к 1-м суткам в группах с лапаротомией и в основной в отличие от контрольной группы выявлена тенденция к гиперкоагуляции по R и K, но к гипокоагуляции по МА. В основной группе по-прежнему сохраняется самая низкая концентрация Д-димеров. В динамике 1-5 суток имеется снижение

Д-димеров в контрольной группе, а в основной группе и с лапаротомией исходно низкие значения Д-димеров продолжают снижаться.

На седьмые сутки течения экспериментального панкреонекроза получены данные, которые отражены в таблице № 2.

В период с 5 по 7 сутки концентрация фибриногена отчетливо снижается в основной группе. Концентрация АТ III за указанный отрезок времени практически не изменяется в группах с лапаротомией и в контрольной (остается высокой; 127, 5 и 130, 5 соответственно), но уменьшается в основной группе и становится нормальной. Количество тромбоцитов за этот период в контрольной и основной группах повышается (1001x10<sup>9</sup>/л и 1018 x10<sup>9</sup>/л, соответственно), а в группе с лапаротомией имеется их снижение (800 x10<sup>9</sup>/л). ПТИ уменьшается в группе с лапаротомией и контрольной и увеличивается в основной. На седьмые сутки по отношению к 5-м суткам по параметрам R и K тромбоэластограммы прослеживается динамика к гиперкоагуляции во всех группах. По параметру МА в группе с лапаротомией и контрольной имеется гиперкоагуляционная направленность, а основ-

ной группе была обратная направленность параметра МА - гипokoагуляционная. Концентрация Д-димеров за этот период в группе с ла-паротомией и основной группе продолжает дальнейшее снижение (на 8,5% и на 306%). В контрольной группе наоборот выявлено повышение концентрации Д-димеров на 139,4%.

*Ранцев М.А. – к.м.н., доцент кафедры общей хирургии ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития», г. Екатеринбург; Сарапульцев П.А. – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник Учреждения РАН «Институт иммунологии и физиологии УрО РАН», г. Екатеринбург; Кузнецов Н.Н. – к.м.н., доцент кафедры неонатологии и неврологии детского возраста ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития», г. Екатеринбург; Чупахин О.Н. – д.х.н., академик РАН научный руководитель Учреждения РАН «Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН», г. Екатеринбург; Ходаков В.В. – д.м.н., профессор; заведующий кафедрой общей хирургии ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Министерства здравоохранения и социального развития», г. Екатеринбург; Сарапульцев А.П. – к.м.н., научный сотрудник Учреждения РАН «Институт иммунологии и физиологии УрО РАН», г. Екатеринбург; Сидорова Л.П. – к.х.н., старший научный сотрудник кафедры органической химии ФГАОУ ВПО «Уральский Федеральный университет имени Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Сарапульцев Алексей Петрович, «Институт иммунологии и физиологии УрО РАН», 620219, Екатеринбург, ул. Первомайская, 106, Тел. +79120321691, E-mail: sarapultsev@sky.ru*

## Выводы

Соединение «L-17» из группы замещенных 5R1, 6H2 -1,3,4-тиадазин-2-аминов позволяет предупредить развитие ДВС-синдрома у животных в острой фазе воспалительной реакции при экспериментальном панкреонекрозе. ■

## Литература:

1. Аверкиев В.Л., Латышева Т.В., Тарасенко В.С., Аверкиева Л.В. Коррекция иммунологических нарушений у больных с панкреонекрозом (electronic resource). Журнал «Тетра Медика нова» 2003;3. Режим доступа: www.tetramedica.spb.ru/3\_2003/averkiev.htm
2. Вагненко С.Ф., Гольцов И.Р. Сравнительная оценка методов интегрального определения тяжести течения острого панкреатита. 2 конгресс московских хирургов «Неотложная и специализированная хирургическая помощь»; 2007 17-18 мая, Москва. с. 72-73.
3. Благовестнов Д.А., Ермолов А.С., Новосел С.Н., Озова З.М. Использование стандартизированных протоколов лечебно-диагностической тактики – эффективный путь к улучшению результатов лечения тяжелого острого панкреатита. 2 конгресс московских хирургов «Неотложная и специализированная хирургическая помощь»; 2007 17-18 мая, Москва. с. 75-76.
4. Брискин Б.С., Рыбаков Г.С., Халидов О.Х. Место и роль малоинвазивных вмешательств в лечении больных в разные фазы развития панкреонекроза. 2 конгресс московских хирургов «Неотложная и специализированная хирургическая помощь»; 2007 17-18 мая; Москва. с. 77-78.
5. Гарелик П.В., Цилиндр И.Т., Пакульневич Ю.Ф., Милешко М.И. Применение малоинвазивных технологий в лечении острого панкреатита. 10 Юбилейный Московский Международный Конгресс по эндоскопической хирургии; 2006 19-21 апреля; Москва. С. 56-57.
6. Гостищев В.К., Хрупкий В.И., Афанасьев А.Н., Устименко А.В. Дифференцированный подход к лечению постнекротических осложнений острого деструктивного панкреатита. 2 конгресс московских хирургов «Неотложная и специализированная хирургическая помощь»; 2007 17-18 мая, Москва. с. 80-81.
7. Ералина С.Н., Кенжебаев А.М., Седова Н.А., Манкареав К.Б. Интенсивная терапия острого панкреатита. Республиканская научно-практическая конференция «Актуальные вопросы анестезиологии и интенсивной терапии». 2009 16-17 октября, Алматы. с. 3-19.
8. Ерюхин И.А., Гельфанд Б.Р., Шляпников С.А. Хирургические инфекции. М.: Литтерра; 2006.
9. Костюченко А.Л., Филлин В.И. Неотложная панкреатология. СПб; 2000.
10. Маят В.С., Нестеренко Ю.А., Буромская Г.А., Атанов Ю.П. Диагностика и лечение деструктивных форм острого панкреатита. Советская Медицина 1979; 2:10-15.
11. Рыбаков П.С., Дибров М.Д., Брискин Б.С., Халидов О.Х., Шамян А.И., Кузнецова М.А., Просперов М.А. Острый панкреатит, эволюция взглядов на проблему за последние 10 лет (electronic resource). Режим доступа: [http://gkb81.ru/upload/File/Statya%201\\_27.doc](http://gkb81.ru/upload/File/Statya%201_27.doc)
12. Толстой А.Д., Панов В.П., Красногоров В.В., Вашетко Р.В., Скородумов А.В. Паранепанкреатит. СПб: Ясный свет, 2003.
13. Филлин В.И., Костюченко А.Л. Неотложная панкреатология: справочник для врачей. СПб: Питер, 1994.
14. Христинич Т.М., Кендзерская Т.Б. Роль сосудистого фактора и нарушений микроциркуляции в этиологии панкреатита. Сучасна гастроентерология 2005; 6(26): 35-40.
15. Шалимов С.А., Радзиховский А.П., Ничитайло М.Е. Острый панкреатит и его осложнения. Киев: Наукдумка, 1990.
16. Anderson M.C., Sciller W.R. Microcirculatory dynamics in the normal and inflamed pancreas. American Journal Surgery 1968; 115: 118-127.
17. Ranson J.H.C., Lackner H., Berman J.R., Schinella R. The relationship of coagulation factors to clinical complications of acute pancreatitis. Surgery 1977; 81(5):502-511.