Сравнительное изучение биохимических показателей крови при экспериментальном остром билиарном панкреатите и обструктивном холестазах

И. Н. Мамонтов

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Comparative studying of biochemical indices of the blood in experimental acute biliary pancreatitis and obstructive cholestasis

I. N. Mamontov

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

Реферат

Цель. Сравнительное изучение уровней некоторых биохимических показателей при экспериментальном остром билиарном панкреатите и обструктивном холестазе.

Материалы и методы. На 32 крысах моделировали острый билиарный панкреатит, на 23 – обструктивный холестаз. На 1, 3, 7-е сутки изучали показатели крови: содержание общего билирубина, альбумина, мочевины, активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и амилазы.

Результаты. При остром билиарном панкреатите на 2-е сутки эксперимента погибло 10 (31,3%) крыс, при обструктивном холестазе – 1 (4,3%) крыса ($p < 0,01$). В обеих группах животных определялись признаки холестаза, а при остром билиарном панкреатите – признаки панкреатита. На 1-е сутки при остром билиарном панкреатите в сравнении с острым холестазом отмечались повышенные значения активности амилазы ($p < 0,001$) и содержания мочевины ($p < 0,05$); на 3-и сутки – более низкие значения содержания общего билирубина ($p < 0,001$), более высокие значения активности аланинаминотрансферазы ($p < 0,05$), содержания мочевины ($p < 0,01$) и активности амилазы ($p < 0,05$); на 7-е сутки – более низкие значения содержания общего билирубина ($p < 0,05$), более высокие значения активности щелочной фосфатазы и аспартатаминотрансферазы ($p < 0,05$).

Выводы. Более выраженная гипербилирубинемия наблюдается при обструктивном холестазе. При остром билиарном панкреатите отмечаются достоверно большие значения активности аланинаминотрансферазы (на 3-и сутки) и аспартатаминотрансферазы (на 7-е сутки), содержания мочевины (на 3-и сутки), активности щелочной фосфатазы (на 7-е сутки).

Ключевые слова: экспериментальный острый билиарный панкреатит; экспериментальный обструктивный холестаз; биохимические показатели.

Abstract

Objective. Comparative studying of levels of some biochemical indices in experimental acute biliary pancreatitis and obstructive cholestasis.

Materials and methods. An acute biliary pancreatitis was simulated on 32 rats and obstructive cholestasis – on 23. On the first, third and 7th days after the blood indices of general bilirubin, albumin and the urea, as well as activity of alaninaminotransferase, aspartataminotranspherase, alkaline phosphatase and amylase were studied.

Results. In the acute biliary pancreatitis on the second day of the experiment 10 (31.3%) rats have deceased, and in obstructive cholestasis – 1 (4.3%) rat ($p < 0.01$). In both groups of laboratory animals the signs of cholestasis were determined, and in the acute biliary pancreatitis – signs of pancreatitis. On the first day in acute biliary pancreatitis in comparison with acute cholestasis there were noted the enhanced values of the amylase activity ($p < 0.001$) and the urea content ($p < 0.05$); on the third day – the lower values of the general bilirubin content ($p < 0.001$), higher values of the alaninaminotranspherase activity ($p < 0.05$), the urea content ($p < 0.01$) and activity of amylase ($p < 0.05$); on the 7th day – lower values of general bilirubin ($p < 0.05$), higher values of activity of alkaline phosphatase and aspartataminotranspherase ($p < 0.05$).

Conclusion. More severe hyperbilirubinemia is observed in obstructive cholestasis. In the acute biliary pancreatitis the trustworthy enhanced values of the alaninaminotranspherase (on the third day) and aspartataminotranspherase (on the 7th day) activities, the urea content (on the third day), as well as activity of alkaline phosphatase (on the 7th day) are noted.

Keywords: experimental acute biliary pancreatitis; experimental obstructive cholestasis; biochemical indices.

Острый панкреатит (ОП) является распространенным заболеванием с потенциально высокой летальностью, его основные этиологические факторы – злоупотребление алкоголем и желчнокаменная болезнь [1, 2]. При желчнокаменной болезни нарушение проходимости дистально-

го отдела внепеченочных желчных путей приводит к развитию ОП. При этом билиарная обструкция может быть как транзиторной – при миграции мелких конкрементов или желчного сладжа, так и длительной – при холедохолитиазе и фиксированном камне большого сосочка двенадцатиперстной кишки.

надцятиперстної кишки [1, 2]. Летальність при важелом теченні ОП может достигать 20 – 30% и в ранние сроки обусловлена развитием системных осложнений, которые характеризуются поражением сердечно–сосудистой системы, легких, центральной нервной системы, почек и печени [2]. У 2/3 больных с острым билиарным панкреатитом (ОБП) диагностируют дисфункцию печени [1]. Поражение печени, очевидно, является холестатическим – в результате нарушения проходимости желчных путей.

В проведенном нами ранее исследовании установлено [3], что морфологические изменения печени при экспериментальном ОБП обусловлены только процессами холестаза. При этом тяжелый патологический процесс в поджелудочной железе (ПЖ), сопровождающийся высокой летальностью, не влияет на гистологические изменения печени. При экспериментальном ОБП – патологическом состоянии, составляющей которого является обструктивный холестаз (ОХ), помимо морфологии, целесообразно изучение функционального состояния печени, которое оценивают по уровням различных биохимических показателей крови.

Цель исследования: сравнительное изучение уровней некоторых биохимических показателей при экспериментальных ОБП и ОХ.

Материалы и методы исследования

В эксперименте использовали белых крыс – самцов массой тела 270 – 310 г, которых удерживали в стандартных лабораторных условиях.

Оперативные вмешательства выполняли под общим обезболиванием с учетом правил антисептики. После верхнесрединной лапаротомии ОБП (n = 32) моделировали путем перевязки общего билиопанкреатического протока у места его впадения в двенадцатиперстную кишку [4]. Обструкция на этом уровне сопровождается гипертензией как в желчных протоках, так и в протоках ПЖ и является инициирующим фактором развития ОБП. ОХ (n = 23) моделировали путем перевязки общего желчного протока (ОЖП) выше впадения в него протоков ПЖ [5]. Таким образом, при этих моделях имеет место фактор билиарной обструкции. Контролем служили 17 неоперированных животных.

Животных выводили из эксперимента на 1, 3, 7–е сутки, оценивали состояние органов брюшной полости, измеряли диаметр ОЖП. Венозную кровь исследовали стандартными методами, определяя содержание общего билирубина (ОБ), альбумина, мочевины, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и амилазы.

Полученные данные статистически обрабатывали. Для этого использовали среднее значение показателей (М), ошибку средней арифметической ($\pm m$), t–критерий Стьюдента. Достоверными различия считали при $p < 0,05$.

Эксперимент выполнен согласно требованиям и положениям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (1986).

Результаты

При ОБП на 2–е сутки эксперимента из 32 крыс погибли 10 (31,3%), при ОХ на 3–и сутки эксперимента из 23 крыс погибла 1 (4,3%) крыса ($p < 0,01$).

В обеих группах начиная с 1–х суток эксперимента отмечались признаки обтурационной желтухи – иктеричность кожи и видимых слизистых оболочек, темное окрашивание мочи. У животных, выведенных из эксперимента, наблюдали расширение желчных протоков выше лигатуры, полнокровие, увеличение печени, желтушное окрашивание внутренних органов.

У всех животных с ОБП в брюшной полости обнаруживали признаки деструктивного панкреатита – очаги стеатонекроза различной степени выраженности, наличие свободной жидкости, часто геморрагического характера.

При ОБП среднее значение диаметра ОЖП в 1–е сутки составило ($1,5 \pm 0,1$) мм, на 3–и сутки – ($3,7 \pm 0,2$) мм, на 7–е сутки – ($5,9 \pm 0,8$) мм, при ОХ – ($1,8 \pm 0,1$), ($3,3 \pm 0,3$) и ($5,8 \pm 0,4$) мм соответственно. В обеих группах отмечались достоверные различия диаметра ОЖП как в сравнении с контролем – диаметр ОЖП менее 1 мм ($p < 0,001$), так и в различные сроки эксперимента – между 1–ми и 3–ми сутками ($p < 0,05$), между 3–ми и 7–ми сутками ($p < 0,01$). Однако не зафиксировано достоверных различий диаметра ОЖП у животных с ОБП и ОХ в одинаковые сроки эксперимента.

Таблица 1. Значения биохимических показателей крови ($\bar{x} \pm m$) на 1–е сутки после моделирования ОХ и ОБП

Показатели	Контроль (n=17)	Модель	
		ОХ (n=6)	ОБП (n=10)
ОБ, мк моль/л	7,4 $\pm$ 1,1	294 $\pm$ 90*	170,4 $\pm$ 44,8*
АЛТ, мк моль/ч $\times$ мл	2,5 $\pm$ 0,1	6,6 $\pm$ 0,3*	5,2 $\pm$ 0,6*
АСТ, мк моль/ч $\times$ мл	3,2 $\pm$ 0,2	5,6 $\pm$ 0,6*	4,4 $\pm$ 0,3*
ЩФ, нмоль/с $\times$ л	9644 $\pm$ 864	26015 $\pm$ 4496*	23005 $\pm$ 3442*
Мочевина, ммоль/л	5,4 $\pm$ 0,3	6,2 $\pm$ 2,1	13,3 $\pm$ 2,7*
Амилаза, г/ч $\times$ л	232 $\pm$ 21	246 $\pm$ 33	454,3 $\pm$ 33,7*
Альбумин, г/л	27,0 $\pm$ 1,2	27,7 $\pm$ 0,6	27,2 $\pm$ 0,9
Примечание. * - $p < 0,05$ в сравнении с контролем. То же в табл. 2, 3.			

Таблица 2. Значения биохимических показателей крови ($\bar{x} \pm m$) на 3-и сутки после моделирования ОХ и ОБП

Показатели	Контроль (n=17)	Модель	
		ОХ (n=6)	ОБП (n=5)
ОБ, мкмоль/л	7,4±1,1	237±19*	150,4±17,3*
АЛТ, мкмоль/ч × мл	2,5±0,1	4,4±0,3*	5,7±0,3*
АСТ, мкмоль/ч × мл	3,2±0,2	4,3±0,4*	4,3±0,2*
ЩФ, нмоль/с × л	9644±864	14633±1833*	17117±3808*
Мочевина, ммоль/л	5,4±0,3	4,9±0,2	9,4±1,2*
Амилаза, г/ч × л	232±21	203±36	373±62,1*
Альбумин, г/л	27,0±1,2	24,4±1,2	24,8±0,8

Таблица 3. Значения биохимических показателей крови ($\bar{x} \pm m$) на 7-е сутки после моделирования ОХ и ОБП

Показатели	Контроль (n=17)	Модель	
		ОХ (n=6)	ОБП (n=7)
ОБ, мкмоль/л	7,4±1,1	191,5±5,4*	124±25*
АЛТ, мкмоль/ч × мл	2,5±0,1	2,1±0,3	2,5±0,3
АСТ, мкмоль/ч × мл	3,2±0,2	3,3±0,2	5,1±0,6*
ЩФ, нмоль/с × л	9644±864	11061±1062	22009±4786*
Мочевина, ммоль/л	5,4±0,3	4,7±0,3	6,0±1,8
Амилаза, г/ч × л	232±21	265±10	264±39
Альбумин, г/л	27,0±1,2	23,5±1,1*	22,3±1,9*

На 1–е сутки (табл. 1) в обеих экспериментальных группах животных в сравнении с контролем выявлено повышение содержания ОБ ($p < 0,001$), активности АЛТ ($p < 0,001$), АСТ ($p < 0,01$) и ЩФ ($p < 0,01$). Активность амилазы и содержание мочевины при ОХ не отличалась от контроля ($p > 0,05$), а при ОБП были повышены ($p < 0,001$). Содержание альбумина в обеих группах животных не отличалось от контроля ($p > 0,05$). По двум показателям выявлены достоверные отличия между группами: при ОБП отмечались повышенные активность амилазы ($p < 0,001$) и содержание мочевины ($p < 0,05$).

На 3–и сутки наблюдения (табл. 2) как при ОХ, так и при ОБП в сравнении с контролем были повышены содержание ОБ ($p < 0,001$ для обеих групп), активность АЛТ ($p < 0,001$ для обеих групп), АСТ ($p < 0,05$ и $p < 0,001$ соответственно) и ЩФ ($p < 0,001$ для обеих групп). Активность амилазы и содержание мочевины были повышены в сравнении с контролем при ОБП ($p < 0,05$, $p < 0,01$ соответственно).

При сопоставлении уровней биохимических показателей в экспериментальных группах выявлено, что при ОХ определяются более высокие значения содержания ОБ ($p < 0,001$). При ОБП были выше значения активности АЛТ ($p < 0,05$), содержания мочевины ($p < 0,01$) и активности амилазы ($p < 0,05$). В отношении таких показателей, как активность АСТ, ЩФ и содержание альбумина, достоверных различий между группами не установлено ($p > 0,05$).

На 7–е сутки эксперимента (табл. 3) в обеих группах в сравнении с контролем содержание ОБ было повышено ($p < 0,001$ для обеих групп), а альбумина снижено ($p < 0,05$ для обеих групп). Активность АЛТ, амилазы и содер-

жание мочевины не отличались от показателей контрольной группы. Активность АСТ и ЩФ при ОБП были достоверно выше в сравнении с контролем ($p < 0,001$), при ОХ эти показатели от контрольных не отличались ($p > 0,05$).

При сравнении показателей между экспериментальными группами установлено, что у животных с ОХ отмечается более высокий уровень ОБ ($p < 0,05$), а значения активности ЩФ и АСТ оказались выше у животных с ОБП ($p < 0,05$). В отношении таких показателей, как активность АЛТ, содержание мочевины, активность амилазы и содержание альбумина, достоверных отличий между группами не выявлено ($p > 0,05$).

Обсуждение

Согласно моделируемой патологии в обеих экспериментальных группах животных имелись признаки обструкции внепеченочных желчных путей. Об этом свидетельствовали расширение внепеченочных желчных протоков выше наложенной лигатуры, гипербилирубинемия в течение всего эксперимента.

Экспериментальный ОБП сопровождался высокой летальностью – на 2–е сутки эксперимента из 32 животных погибли 10 (31,3%). Последняя цифра не отражает общую летальность, так как животных выводили из эксперимента запланированно по срокам. Однако, учитывая отношение числа погибших животных при ОБП в процентном выражении (31,3%) к числу погибших животных при ОХ в процентном выражении (4,3%), летальность при ОБП в течение данного периода наблюдений была в 7,3 раза выше, чем при ОХ. Столь высокая летальность при ОБП отражает тяжесть моделированной патологии, что под-

тверждается макроскопическими признаками деструктивного панкреатита (стеатонекроз) и гипермилаземией, наблюдаемой на 1-е и 3-и сутки эксперимента.

В проведенном нами ранее исследовании [3] установлено, что морфологические проявления холестаза при ОБП были менее выражены в сравнении с ОХ во все сроки эксперимента.

В течение всего данного эксперимента в обеих группах животных отмечалась гипербилирубинемия с максимальными ее значениями на 1-е сутки. Однако при ОБП показатели ОБ на 3-и и 7-е сутки эксперимента были достоверно ниже, чем при ОХ ($p < 0,05$). Это можно объяснить более высоким уровнем блока внепеченочных желчных путей при ОХ и соответственно меньшей резервуарной способностью внепеченочных протоков, большей желчной гипертензией.

Наблюдаемое в обеих группах повышение активности трансаминаз на 1-е и 3-и сутки свидетельствует о цитолитическом синдроме, основной причиной которого является холестатическое поражение печени [1]. Так как при ОБП патологические изменения печени не были более выражены в сравнении с ОХ [3], повышенную активность АЛТ на 3-и сутки и АСТ на 7-е сутки при ОБП следует расценивать как внепеченочное проявление цитолитического синдрома, являющегося следствием тяжелого ОП.

О тяжести моделированного ОБП свидетельствует также повышение содержания мочевины на 3-и сутки, отсутствующее при ОХ.

В обеих экспериментальных группах на 7-е сутки фиксировали нарушение белковосинтетической функции печени, что проявлялось гипоальбуминемией. При этом различий по уровню альбумина между группами не выявлено ($p > 0,05$).

Повышение активности ЩФ, которое служит одним из маркеров холестаза и повреждения желчных протоков [6], наблюдали в обеих группах на 1-е и 3-и сутки без достоверных различий между ними ($p > 0,05$). Достоверно большее значение ЩФ при ОБП на 7-е сутки эксперимента может отражать более значимое повреждение желчных протоков при ОБП в сравнении с ОХ.

Выводы

Более выраженная гипербилирубинемия наблюдается при ОХ. При ОБП отмечаются достоверно большие значения активности АЛТ (на 3-и сутки), АСТ (на 7-е сутки), содержания мочевины (на 3-и сутки), активности ЩФ (на 7-е сутки).

Подтверждение

Финансирование. Работа выполнена за средства государственного бюджета.

Конфликт интересов. Автор статьи, представленной к публикации, декларирует отсутствие конфликта интересов.

References

1. Vasyliuk SM, Ivanina SM. Diagnostyka biliarnoho pankreatytu. Ukrain-skyi zhurnal khirurhii. 2016;(1-2):60-3. [In Ukrainian].
2. Cappell MS. Acute pancreatitis: etiology, clinical presentation, diagnosis, and therapy. Med Clin N Am J. 2008;92(4):889-923. doi: 10.1016/j.mcna.2008.04.013.
3. Mamontov IN, Tamm TI, Ivakhno IV, Panasenko VA, Padalko VI, Sam-burg YY. Morphological changes of liver in experimental acute biliary pancreatitis. Klinichna khirurgiia. 2017;(5):61-63. [In Russian].
4. Samuel I, Toriumi Y, Yokoo H, Wilcockson DP, Trout JJ, Joehl RJ. Li-gation-induced acute pancreatitis in rats and opossums: a comparative morphologic study of the early phase. J Surg Res. 1994;57(2):299-311. doi: 10.1006/jsre.1994.1149.
5. Kountouras J, Billing BH, Scheuer PJ. Prolonged bile duct obstruction: a new experimental model for cirrhosis in the rat. Br J Exp Path. 1984;65(3):305-11. PMID: 6743531.
6. Poupon R. Liver alkaline phosphatase: a missing link between cholere-sis and biliary inflammation. Hepatology. 2015;61(6):2080-90. doi: 10.1002/hep.27715.

Надійшла 29.11.2019