

УДК 616.37-002:616.381-002:577.152.34

© О.А. Бугаенко, Л.В. Анисимова, А.В. Кубышкин, 2012.

## СОСТОЯНИЕ ПРОТЕИНАЗ-ИНГИБИТОРНОГО БАЛАНСА ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО СЕКРЕТА У БОЛЬНЫХ С ПАНКРЕАТИТОМ И ДРУГИМИ ФОРМАМИ ОСТРОЙ АБДОМИНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ

**О.А. Бугаенко, Л.В. Анисимова, А.В. Кубышкин**

*ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И.Георгиевского», кафедра патофизиологии (зав. – профессор А.В. Кубышкин), г. Симферополь.*

### PROTEINASE-INHIBITORY BALANCE OF PERITONEAL SECRETION IN PATIENTS WITH PANCREATITIS AND OTHER FORMS OF ACUTE ABDOMINAL PATHOLOGY

O.A. Bugaenko, L.V. Anisimova, A.V. Kubyshkin

#### SUMMARY

Determination of nonspecific proteinases and their inhibitors activity in the peritoneal secret of patients with acute pancreatitis and other forms of acute abdominal pathology showed that in acute pancreatitis is found the maximum activation of the elastase-like enzymes and other components of proteinase-inhibitory system. Activation of proteinases more intensive in patients with peritonitis. The determination of the components of proteinase-inhibitory system in peritoneal secrets can be used as markers of the prognosis and efficiency of treatment of pancreatitis and peritonitis.

### СТАН ПРОТЕІНАЗ-ІНГІБІТОРНОГО БАЛАНСУ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО СЕКРЕТУ У ХВОРИХ З ПАНКРЕАТИТОМ І ІНШИМИ ФОРМАМИ ГОСТРОЇ АБДОМІНАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ

О.А. Бугаєнко, Л.В. Анісімова, А.В. Кубишкін

#### РЕЗЮМЕ

Проведене дослідження визначення активності неспецифічних протеїназ та їх інгібіторів в перитонеальному секреті хворих з гострим панкреатитом і іншими формами гострої абдомінальної патології показало, що при гострому панкреатиті відзначається максимальна активація еластолітичних ферментів і інших компонентів протеїназ-інгібіторної системи. Активність протеїназ більше виражена при формуванні перитоніту. Визначення компонентів протеїназ-інгібіторної системи в перитонеальному вмісті може бути використане в якості маркерів прогнозу течії і ефективності лікування панкреатиту і перитоніту.

**Ключевые слова:** панкреатит, перитонит, протеиназы, ингибиторы протеиназ.

Ключевым патогенетическим механизмом развития острого панкреатита считается развитие аутолиза и острого воспаления поджелудочной железы путём активации протеаз и нарушения баланса в системе протеазы-антипротеазы при активном участии клеток острого воспаления [1, 2]. Как следствие, повреждение поджелудочной железы приводит к развитию воспалительной реакции в перитонеальной полости. Системные осложнения острого панкреатита (дыхательная недостаточность, артериальная гипотензия, преренальная азотемия, тубулярный некроз, диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови, а при тяжелом течении панкреатита - панкреатический шок), развиваются в результате проникновения активированных панкреатических ферментов и медиаторов воспаления, в том числе обладающих протеазной активностью, в системный кровоток [3-5]. Последствием гиперферментемии является лавинообразное освобождение кининов, эластазы лейкоцитов, протеиназ нейтрофилов, провоспалительных цитокинов и многих других биологически активных соединений в кровотоке и отдельных органах.

Таким образом, можно предположить, что степень выраженности системных изменений при панкреатите во многом зависит от степени выраженности местных изменений. В связи с этим, интересно проследить, насколько активность компонентов неспецифической протеиназ-ингибиторной системы перитонеальной полости отличается при развитии различных патологических процессов.

Цель исследования – сравнить реакцию неспецифических протеиназ и их ингибиторов в перитонеальном секрете при развитии острого панкреатита и других форм острой абдоминальной патологии.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинические исследования проведены у больных, поступивших в отделение хирургии 6 городской больницы г. Симферополя. Все больные нуждались в экстренном хирургическом лечении в связи с острой патологией органов брюшной полости. Всего был обследован 51 человек с оперативными вмешательствами по поводу острого панкреатита, острого аппендицита, холецистита,

язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Течение послеоперационного периода у 22 обследованных сопровождалось развитием перитонита.

Перитонеальный смыв (ПС) собирали в шприц из очага поражения при вскрытии брюшной полости. Полученный перитонеальный секрет гомогенизировали и центрифугировали при 8000 об/мин. Надосадочную жидкость использовали для проведения биохимических исследований.

Компоненты протеиназ-ингибиторной системы определяли с использованием энзиматических методов [6]. Трипсиноподобную активность (ТПА) перитонеального секрета измеряли спектрофотометрическим методом, основанном на измерении скорости отщепления р-нитроанилина от синтетического субстрата N-бензоил-L аргинина р-нитроанилина (БАПНА). Измерение эластазоподобной активности (ЭПА) секрета проводили по гидролизу синтетического субстрата N-т-бок-аланил-п-нитрофинилового эфира (БАНФЭ). Антитриптическую активность (АТА) Определение антитриптической активности (АТА) проводили по степени торможения БАЭЭ – эстеразной активности трипсина. Для определения кислотостабильных ингибиторов (КСИ) в биологическом материале предварительно инактивировали лабильные ингибиторы прогреванием в кислой среде, и в дальнейшем определение проводили, как для антитриптической активности. Белок во всех образцах определяли методом Лоури.

Статистический анализ результатов проводили методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента и критерия Томпсона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование показателей протеиназ-ингибиторного баланса перитонеального смыва у больных с различными формами острой абдоминальной патологии показало, что острый воспалительный процесс в абдоминальной полости приводит к увеличению концентрации белка, росту эластазоподобной активности, снижению ТПА и увеличению АТА (табл. 1).

Минимальные значения белка в перитонеальном смыве обнаружены у больных с острым холециститом, причем в этой группе больных визуально определялось минимальное вовлечение брюшины в патологический процесс. При язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки белок в перитонеальном смыве был выше в 2,7 раза по сравнению с показателями у больных острым холециститом. Для острого аппендицита, уровень белка перитонеального смыва по сравнению данными у больных холециститом был выше в 3,8 раза. Наиболее высокий уровень белка отмечался в группе больных с панкреатитом. У этих больных насыщенность перитонеального секрета белком была более чем в 6 раз выше, по сравнению с группой больных с холециститом.

Интересные тенденции отмечены при анализе показателей протеолитической активности. Уровень эластазоподобной активности в перитонеальном секрете был максимальным в группе больных с панкреатитом и превышал соответствующие значения больных с острым холециститом в 5,4 раза. При язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки уровень ЭПА был в 2,4 раза, при остром аппендиците в 3,4 раза выше, чем у больных с острым холециститом.

Таблица 1

### Состояние протеиназ-ингибиторного баланса перитонеального смыва у больных с острой абдоминальной патологией (M±m)

	Белок (мг/мл)	ЭПА (нМ/мг мин)	ТПА (мкМ/мгмин)	АТА (мкМ/мг)	КСИ (мкМ/мг)
Острый холецистит (n=12)	0,32±0,03	10,14±0,96	1,61±0,11	0,12±0,01	1,16±0,11
ЯБЖидПК (n=16)	0,84±0,04*	23,65±1,45*	0,75±0,06*	0,37±0,03*	0,39±0,06*
Острый аппендицит (n=10)	1,20±0,04*	34,36±1,94*	0,20±0,05*	0,52±0,03*	0,76±0,07*
Острый панкреатит (n=13)	1,98±0,34*	54,5±8,8*	11,3±2,5*	2,21±0,14*	2,17±1,17*

Примечание: звездочками обозначена достоверность различий по отношению к группе больных с острым холециститом: \*-p<0,05.

Уровень трипсиноподобной активности в перитонеальном смыве у больных острым панкреатитом был в 7 раз выше, чем у больных острым холециститом. А у больных с язвенной болезнью желудка и 12-перстной кишки и аппендицитом обнаруживалась противоположная динамика. Значения ТПА у больных с язвенной болезнью желудка и 12-перстной кишки были ниже, чем у больных острым холециститом в 2,1 раза, а у больных с острым аппендицитом в 8 раз.

Следует отметить, что рост активности протеиназ сопровождался и ростом ингибиторного потенциала. По видимому, реакция со стороны ингибиторов отражает степень активации протеиназ ингибиторной системы и направлена на противодействие активации протеиназ в перитонеальном секрете. Причем в группе больных с острым панкреатитом антитриптическая активность перитонеального смыва была наиболее высокой и в 18 раз превышала значения АТА у больных с острым холециститом, в 6 раз у больных с язвенной болезнью желудка и 12-перстной кишки и 4,2 раза у больных с аппендицитом.

Несколько различалась реакция местносинтезируемых кислотостабильных ингибиторов протеиназ в перитонеальном секрете. Максимальный их уровень отмечен у больных с панкреатитом. В группе больных с холециститом значения КСИ были почти в 2 раза ниже, а в группах с язвенной болезнью и аппендицитом уровень КСИ по сравнению с панкреатитом был в 3-5 раз ниже, что может свидетельствовать об уменьшении синтеза и секреции этих ингибиторов.

Сопоставление результатов состояния протеиназ-ингибиторной системы в перитонеальном секрете у больных с перитонитом и без перитонита показало, что наличие перитонита проявляется более выраженной активацией протеиназ не зависимо от первичной патологии. В брюшной полости развитие перитонита сопровождалось закономерным увеличением уровня белка (табл. 2). Белок в перитонеальном смыве у больных с острой абдоминальной патологией, осложненной развитием перитонита, в 4,2 раза превышает аналогичный показатель у больных без развития перитонита.

Таблица 2

**Состояние протеиназ-ингибиторного баланса перитонеального смыва у больных с острой абдоминальной патологией, осложненной и не осложненной развитием перитонита (M±m)**

	Белок (мг/мл)	ЭПА (нМ/мг мин)	ТПА (мкМ/мгмин)	АТА (мкМ/мг)	КСИ (мкМ/мг)
Патология без перитонита (n=29)	0,30±0,03	10,14±1,21	1,42±0,11	0,13±0,01	0,95±0,06
Патология с перитонитом (n=22)	1,26±0,09*	27,04±2,17*	2,89±0,07*	0,97±0,05*	1,67±0,05*

Примечание: звездочками обозначена достоверность различий по отношению к группе больных без перитонита: \*-p<0,05.

Динамика изменений активности протеиназ и ингибиторного потенциала свидетельствовала о более выраженной активации протеиназ-ингибиторной системы перитонеального секрета у больных с формированием перитонита. Так, активность трипсиноподобных протеиназ у больных с перитонитом была в 2 раза выше по сравнению с больными без перитонита. Активность эластазоподобных протеиназ у больных с перитонитом была выше почти в 3 раза, что может свидетельствовать на усиление процессов деструкции в брюшной полости. На этом фоне у больных с перитонитом установлены в 7,5 раз более высокие цифры свободной антитриптической активности и почти в 2 раза более высокий уровень кислотостабильных ингибиторов, что также свидетельствует о более выраженной активации протеиназ при перитоните.

Как видно из представленных данных, характерной реакцией на развитие патологии в

брюшной полости является выраженное увеличение активности эластазоподобных протеиназ, обладающих выраженным деструктивным потенциалом. Рост трипсиноподобных ферментов, а также антитриптической активности и кислотостабильных ингибиторов также свидетельствует о степени выраженности изменений в перитонеальном секрете.

Таким образом, формирование острого панкреатита проявляется наиболее выраженной активацией протеиназ в перитонеальном секрете. По –видимому, параллельный рост ингибиторов не в достаточной степени способен компенсировать действие протеиназ и их активация существенно усиливает риск формирования перитонита и системных осложнений. С одной стороны, это указывает на потенциальную диагностическую ценность определения протеиназ в перитонеальном секрете для оценки степени тяжести и прогноза течения панкреатита и другой абдоминальной

патологии. С другой стороны, полученные результаты свидетельствуют о потенциальной эффективности использования местного применения ингибиторов протеиназ при лечении острых панкреатитов и перитонита. В частности, на настоящий момент в Японии уже существует консенсусное решение о назначении больших доз синтетических ингибиторов протеолитических ферментов у больных острым панкреатитом для предотвращения органной недостаточности и других осложнений [7].

#### ВЫВОДЫ

1. Выраженность активации неспецифических протеиназ и их ингибиторов в перитонеальном секрете отражает характер патологии и степень вовлечения брюшины в патологический процесс.

2. Наиболее выраженная активация протеиназ и их ингибиторов при остром панкреатите по сравнению с другими видами острой абдоминальной патологии свидетельствует о специфических изменениях в протеиназ-ингибиторной системе и обосновывает потенциальную эффективность местного применения ингибиторов протеиназ в лечебном комплексе при панкреатитах.

3. Степень активации компонентов протеиназ-ингибиторной системы в перитонеальном секрете может свидетельствовать о тяжести течения абдоминальной патологии, указывать на степень риска системных изменений и их определение может быть эффективным маркером прогноза течения абдоминальной патологии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Маль С.В. Об этиологии и патогенезе острого холецистопанкреатита // Актуальные вопросы хирургии, сборник научных работ, посвященный 70-летию ЮУЖД. – Челябинск, 2004. – Т. 1, Вып. 5. – С. 62-68.
2. Granger J, Remick D. Acute pancreatitis: models, markers, and mediators // Shock. – 2005.-v. 24.- P.45-51.
3. Impaired autophagy and organellar dysfunction in pancreatitis / Gukovsky I, Pandol SJ, Mareninova OA, Shalbueva N, Jia W, Gukovskaya AS. // J Gastroenterol Hepatol. - 2012.-v.27, Suppl 2.-P.27-32.
4. Острый панкреатит: биохимические маркеры и патогенетические подходы к лечению с использованием ингибиторов протеиназ / Бугаенко О.А., Федосов М.И., Фомочкина И.И., Влахов А.К., Кубышкин А.В. // Клиническая хирургия.-2009.-№10.- С.47-53.
5. Saluja AK, Steer ML. Pathophysiology of pancreatitis. Role of cytokines and other mediators of inflammation // Digestion.- 1999.-v. 60.-P.27-33.
6. Кубишкін А.В, Харченко В.З., Семенець П.Ф. та інші. Методи визначення активності неспецифічних протеїназ та їх інгібіторів у сироватці крові і біологічних рідинах. //Методичні рекомендації.- Київ.- 2010. – 27 с.
7. Takeda K., Takada T., Kawarada Y. et al. JPN Guidelines for the management of acute pancreatitis: medical management of acute pancreatitis // J Hepatobiliary Pancreat Surg. – 2006. – Vol. 13. – P. 42-47.