

Особенности формирования тканевого отграничения у больных с панкреонекрозами

В.Г. ЛУБЯНСКИЙ¹, Д.Н. УСТИНОВ², А.Р. АЛИЕВ¹, А.Н. ЖАРИКОВ¹, М.В. ТЕЛКОВ¹,
В.М. БЫКОВ¹, Г.А. АРУТЮНЯН¹

Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Российская Федерация¹
Городская больница № 1, Барнаул, Российская Федерация²

Актуальность У больных панкреонекрозами выявляется высокая частота инфицирования и неотграниченного распространения гнойно-деструктивного процесса на парапанкреатическую клетчатку. Эти осложненные формы заболевания отличаются тяжестью течения и высокой послеоперационной летальностью.

Цель исследования Экспериментальное обоснование и клиническая апробация оригинальной методики формирования отграничительного фибринового барьера при панкреонекрозах.

Материалы и методы Для проведения серии пробирочных экспериментов использовались: стабилизированная нативная плазма, препарат крови – криопреципитат плазмы, стандартизованные препараты: тромбин и тромбопластин, раствор глюконата кальция, эпислон – аминокaproновая кислота. В качестве лизирующего фактора применялись: нативный панкреатический сок и официальный лекарственный препарат – химопсин. Эксперименты по созданию фибринового отграничительного барьера проводились на 6 беспородных собаках весом 15-25 кг. В условиях внутривлепуральной наркоза, лапаротомным доступом выполняли моделирование очагового панкреонекроза. Далее, парапанкреатическая клетчатка в зоне очага некроза пункционно инфильтрировалась смесью криопреципитата, аминокaproновой кислоты и кальция глюконата (оригинальная технология). В хроническом опыте, забирались интраоперационные биоптаты железы из зоны создания фибринового блока с последующим гистологическим исследованием.

Анализируются результаты хирургического лечения 581 больного с панкреонекрозами на протяжении 2007 – 2011 гг. Больные с инфицированными панкреонекрозами составили 54,8%, из них – с забрюшинной флегмоной – 34,4%. Послеоперационная летальность при флегмоне забрюшинной клетчатки составила 50,2%. На протяжении 2012 года в клинике, для лечения больных панкреонекрозами, применен метод создания отграничительного фибринового барьера – у 19 больных. Четверо больных имели стерильный панкреонекроз и прооперированы видеолапароскопическим методом. В 15 наблюдениях – у больных с инфицированным панкреонекрозом, осложненным флегмоной забрюшинной клетчатки, выполнена открытая лапаротомия.

Результаты и их обсуждение В послеоперационном периоде, данными лабораторных исследований, специальными методами исследования (УЗИ, МСКТ), у 13 больных выявлено регрессирование флегмоны и формирование зоны тканевого отграничения в виде воспалительного инфильтрата, трансформировавшегося на протяжении 3–4 недель наблюдения в типичную зону рубцового отграничения (walled-off pancreatic necrosis). Послеоперационная летальность в этой группе составила – 11,8%, в основной группе больных – 50,2%.

Выводы Лабораторными и экспериментальными методами доказана эффективность использования препарата крови (криопреципитата плазмы доноров) в качестве искусственного источника фибриногена/фибрин для формирования парапанкреатического фибринового барьера. В клинике метод применен при хирургическом лечении у 19 больных с панкреонекрозами. Использование оригинальной технологии показано у наиболее тяжелой категории больных – с панкреонекрозами и флегмоной забрюшинной клетчатки (15 наблюдений). Показатель послеоперационной летальности составил 11,8%.

Ключевые слова панкреонекроз, забрюшинная клетчатка, флегмона, отграничительный тканевой барьер

Characteristic Features of the Formation of Tissue Delimiting Barrier with Patients Having Necrotizing Pancreatitis

V.G. LUBIANSKII¹, D.N. USTINOV², A.R. ALIEV¹, A.N. ZHARIKOV¹, M.V. TELKOV¹,
V.M. BYKOV¹, G.A. ARUTIUNIAN¹

Altai State Medical University, 106 Komsomol'skii Ave., Barnaul, 656038, Russian Federation¹
City Hospital № 1, 73/1 Komsomol'skii Ave., Barnaul, 656038, Russian Federation²

Relevance Patients with pancreatic necrosis revealed a high incidence of infection and extension of non-delimiting suppurative destructive process onto para-pancreatic fat. These complicated forms of the disease are characterized by severity and high postoperative mortality.

Purpose of the study Experimental basis and clinical testing of an original method aimed to form a fibrin delimiting barrier with pancreatic necrosis.

Materials and methods For a series of test-tube experiments the following was used: stabilized native plasma, a blood product — plasma cryoprecipitate, standardized preparations: thrombin and thromboplastin, calcium gluconate, aminocaproic acid. As a lysis factor the following was used: native pancreatic juice and officinal drug – himopsin. Experiments to create a fibrin delimiting barrier were being performed on 6 mongrel dogs weighing 15-25 kg. Simulation of focal pancreatic necrosis was performed with intrapleural anesthesia through laparotomic access. Next, para-pancreatic fiber in the area of necrosis was infiltrated with a mixture of cryoprecipitate, aminocaproic acid and calcium gluconate (original technology) through puncture. In the chronic experiment,

intraoperative biopsies of the gland and the zones of fibrin block were collected with the following histological examination. The results of surgical treatment of 581 patients with necrotizing pancreatitis for the period since 2007-2011 is being researched now. Patients with infected pancreatic necrosis account for 54,8%, out of which – the ones with retroperitoneal phlegmon - 34,4% respectively. Postoperative mortality with phlegmons of retroperitoneal fat was equal to 50,2%. Throughout 2012 in the clinic the patients with necrotizing pancreatitis were being treated by an method of creating a delimiting fibrin barrier — with 19 patients. Four patients had a sterile pancreatic necrosis and were operated endoscopically. In 15 cases - patients having infected necrotizing pancreatitis complicated by the phlegmona of retroperitoneal fat we resorted to open laparotomy.

Results and their discussion *In the postoperative period data from laboratory studies and special investigation techniques (ultrasound, MSCT) for 13 patients demonstrated regression of phlegmona and the formation of the demarcation zone from the tissue in the form of an inflammatory infiltrate, transforming after 3-4 weeks of observation into a typical area of rumen delimitation (walled-off pancreatic necrosis). Postoperative mortality in this group was 11,8% whereas, in the basic group of patients — 50,2%.*

Conclusion *Laboratory and experimental methods developments have proved the effectiveness of the use of blood product (plasma cryoprecipitate donors) as implanting artificial source of fibrinogen / fibrin to form fibrin parapancreatic barrier. In the clinic this method was used in the surgical treatment of 19 patients with necrotizing pancreatitis. The use of original technology is more shows in the group of patients suffering from the most severe complications pancreatic necrosis and phlegmon of retroperitoneal fat (15 cases), Postoperative mortality rate was 11,8%.*

Key words *Necrotizing pancreatitis, retroperitoneal tissue, abscess, delimiting tissue barrier*

Проблема панкреонекроза (ПН) актуальна вследствие тяжести течения заболевания и практически не уменьшающейся послеоперационной летальности, которая колеблется от 21 до 85% [1, 5]. Летальные исходы, чаще всего, связаны с распространением воспалительного процесса на забрюшинную клетчатку, инфицированием и последующим развитием системой токсемии и полиорганной недостаточности [2, 4, 6, 8, 14]. Известно, что токсины из поджелудочной железы поступают в порталный кровоток и, далее, в значительной мере нейтрализуются в печени. Однако, нередко высокий уровень токсемии, существенная частота развития легочного дистресс-синдрома, могут свидетельствовать о возможности «патологического» шунтирования (bypass) этого важнейшего детоксикационного органа, с преимущественно прямым поступлением токсинов в венозный кровоток, минуя печень – сразу в кавальную систему, что уже отмечалось ранее [3]. При отсутствии эффекта от консервативной терапии и нарастании токсемии хирурги вынуждены прибегать к оперативному лечению, иногда в ранние сроки болезни, однако такая хирургическая тактика сопряжена со значительным риском, в том числе, из-за отсутствия четкой дифференцировки некротических и «здоровых» тканей в пораженной железе. Известно, что некротизированные ткани при ПН на протяжении длительного времени плохо и очень медленно подвергаются отторжению, а зона тканевого отграничения (демаркация) формируется в парадоксально поздние сроки – на 4—8 неделях заболевания [7], что предопределяет обоснование хирургической тактики с предпочтительным поздним вмешательством миниинвазивного характера [9, 10, 12].

Длительное отсутствие зоны тканевой демаркации оказывается принципиальным отличием течения воспалительного процесса при ПН, определяющим высокий риск развития местных осложнений и, прежде всего, парапанкреальных и забрюшинных флегмон. Развитие процесса тканевого отграничения при ПН, в принципе, должно соответствовать таковому в «классической» гнойной ране в фазах воспаления и

регенерации и осуществляться клеточными элементами – нейтрофильными лейкоцитами, макрофагами, а позднее лимфоцитами и фибробластами [13]. Локальная иммобилизация этих клеточных элементов в зоне повреждения (асептического или гнойного) идет избирательно – на очаговых отложениях эндогенного фибрина. При этом, фибрин играет роль своеобразной матрицы в очаге воспаления, в которую интенсивно инкорпорируются макрофаги, фибробласты, а в дальнейшем – и лимфоциты [11, 13], составляющие клеточный компонент тканевого отграничительного барьера, запускающие, далее, процессы локального фиброгенеза. Из отложений фибрина и других белков фибробластами синтезируется коллаген, составляющий, наряду с капиллярами, основу грануляционной ткани, заполняющей раневой дефект и в дальнейшем трансформирующейся в зрелую (рубцовую) соединительную ткань. Парадоксальный феномен в виде неоправданно длительного, растянутого периода формирования тканевого отграничительного барьера при ПН, пока не получил научного объяснения. Нами не найдено и литературных сведений о разработке и использовании в хирургической клинике локально-ориентированных методов стимуляции тканевого отграничения у больных с ПН.

Цель работы – изучить причины распространения воспалительного процесса за пределы поджелудочной железы на забрюшинную клетчатку, разработать на этой основе вариант интраоперационного создания в окружающей клетчатке искусственного тканевого барьера с использованием препарата крови – криопреципитата плазмы в качестве экзогенного донатора фибриногена/фибрина.

Материалы и методы

Проведен анализ непосредственных результатов обследования и лечения 581 больного с ПН, лечившихся в клинике госпитальной хирургии АГМУ на протяжении 2007—2011 гг. Стерильный ПН был у 263 больных (45,2%). У 318 (54,8%) больных развился инфицированный ПН (абсцедирование, флегмоны).

Абсцессы поджелудочной железы и забрюшинной клетчатки выявлены у 118 человек. Флегмоны забрюшинной клетчатки сформировались у 200. Вовлечение в процесс забрюшинной клетчатки было у подавляющего большинства больных с ПН. Всего в группе было 406 мужчин (69,8%), 175 – женщин (30,2%). Средний возраст составил $47 \pm 6,8$ лет. Тяжесть состояния оценивалась по шкале АРАСНЕ – II.

Больные обследовались в клинике с применением общепринятых современных методов: МСКТ, УЗИ, видеолапароскопии, лабораторного обследования. Система гемокоагуляции и фибринолиза изучались с использованием следующих тестов: АЧТВ (активированное частичное тромбопластиновое время), ПТИ (протромбиновый индекс), содержание фибриногена, РФМК (растворимых фибрин-мономерных комплексов) и D-димеров. Эти параметры оценивались в венозной крови, выпоте из свободной брюшной полости и сальниковой сумки.

Стерильные ПН велись преимущественно консервативно с достижением клинического эффекта в большинстве наблюдений. Лишь у 42 из них предприняты оперативные вмешательства. Это касалось больных с "билиарными" ПН, когда в случаях острого холецистита выполнялась видеолапароскопическая холецистэктомия, дренирование брюшной полости. У больных с инфицированными ПН придерживались активной хирургической тактики – чаще всего первично использовали открытые оперативные вмешательства – лапаротомия, некрсеквестрэктомии, абдоминализация поджелудочной железы, дренирование ложа железы и забрюшинной клетчатки через контрапертуры. Операции выполнялись преимущественно в ранние сроки – на 3–10-е сутки заболевания. В послеоперационном периоде проводили ежедневные трансдуральные промывания растворами слабых антисептиков. Релапаротомии выполняли только по требованию – у 120 больных (всех первично оперированных). У 12 больных с инфицированным ПН, во время операции, были взяты биоптаты поджелудочной железы и клетчатки, выпот из сальниковой сумки и свободной брюшной полости. У 19 больных с ПН, оперированных в клинике на протяжении 2012 года, применена методика формирования фибринового отграничительно-барьера (приоритетная справка на изобретение № 2013141007 от 25.09. 2012 г.).

Нами проведена серия экспериментов (*in vitro*) по моделированию взаимоотношения фибриногена\фибрина плазмы с протеолитическими ферментами (химопсин) в пробирочных тестах, реально протекающих при ПН в парапанкреальном инфильтрате – в забрюшинной клетчатке. Эксперименты *in vitro* выполнялись нами в клинической лаборатории. В процессе эксперимента были использованы: нативная стабилизированная плазма человека, криопреципитат плазмы доноров и официальные диагностические и лечебные средства – 5% раствор аминокaproновой кислоты

(ОАО «Красфарма», Красноярск, РФ), тромбин (ООО «Технология-Стандарт», Барнаул, РФ), 1% раствор глюконата кальция (ОАО «Фармак», Киев, Украина), раствор химопсина (ООО «Самсон», С.-Петербург, РФ).

Также проведены эксперименты (*in vivo*) на 6 беспородных собаках весом от 20 до 28 кг по моделированию некротизирующего панкреатита и созданию на его фоне искусственного фибринового барьера в парапанкреатической клетчатке. Животные оперировались в экспериментальной операционной виварии Алтайского государственного медицинского университета, под внутривенным тиопенталовым наркозом, в асептических условиях. ПН моделировали путем формирования ишемически / реперфузионного повреждения (*ischaemia reperfusion injury*) поджелудочной железы, достигавшемся временным пережатием (на 40 минут) панкреатодуоденальной артерии и последующим восстановлением кровотока (*reperfusion*). На фоне ПН у животных выполняли оригинальную методику создания фибринового «тканевого барьера». Она включала двухэтапную инъекционную инфльтрацию парапанкреатической клетчатки в зоне ПН криопреципитатом плазмы крови в сочетании с растворами аминокaproновой кислоты, глюконатом кальция. Препарат крови – криопреципитат (производитель – КГБУЗ "Алтайский краевой центр крови", г. Барнаул), изготовленный из свежзамороженной криоплазмы доноров использовался в качестве донатора фибриногена. Для получения парапанкреального инфильтрата (фибриновой «подушки») в забрюшинную парапанкреальную клетчатку вводили 20–25 мл смеси. Образцы (биоптаты) тканей из зоны искусственного фибринового барьера забирались в хроническом опыте у животных на 1, 7 и 24-е сутки после операции в условиях наркоза путем релапаротомии. Биоптаты тканей, полученных во время хронического эксперимента (поджелудочная железа, забрюшинная клетчатка), подвергнуты последующему гистологическому исследованию. Гистологические препараты окрашивались гематоксилин – эозином, по Ван-Гизону и Романовскому – Гимза, оценивались методом световой микроскопии.

Содержание и использование лабораторных животных для медицинских экспериментов соответствовало морально – этическим принципам проведения биомедицинских экспериментов на животных, сформулированных Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS) в Этическом кодексе, 1985 (раздел «Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных») и в Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (2000).

Разработанная методика формирования фибринового отграничительно-барьера использована в процессе раннего (2–5-е сутки болезни), первичного хирургического вмешательства у 19 с больных ПН,

оперированных в клинике госпитальной хирургии на протяжении 2012 г.

Полученный статистический материал обработан методами вариационной статистики с применением программы StatSoft (версия 6,0). При статистической обработке исчислялись средние значения показателей, доверительные интервалы, вариации параметров. Статистическая достоверность оценивалась по t – критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Общая летальность у больных с ПН составила 19,6% (114 летальных случаев). Летальные исходы при стерильном ПН были у 3 больных (летальность 0,8%). Мы полагаем, что существенную роль в этот асептический период болезни, наряду с временным фактором, по-видимому, имеет состояние иммунных механизмов (иммуноглобулины, лейкоцитарная реакция), системы гемостаза в процессе консервативной терапии, позволяющие успешно сформироваться тканевому барьеру, отграничивающему асептический некротический процесс в поджелудочной железе от инфицирования и приводящий к рубцеванию. При инфицированных ПН (абсцесс, флегмона) частота летальных исходов составила 32,7% (111 больных). Характерно, что показатели летальности в этой группе оказались в значительной мере дифференцированы. Так, при абсцедирующих формах она составила 9,1% (10 больных), а при флегмонах забрюшинной клетчатки – увеличивалась до 50,2% (101 летальный исход).

Следовательно, и при инфицированном ПН, при условии формирования хорошего тканевого отграничения (зоны демаркации) очагов некроза в паренхиме, имеются возможности для локализации инфекции. Формирование абсцесса является относительно благоприятным исходом болезни и значительно повышает вероятность выздоровления у больных ПН. Отсутствие биологически состоятельного отграничительного тканевого барьера при инфицированном ПН крайне неблагоприятно сказывается на течении болезни. Оно сопровождается неконтролируемым распространением септической флегмоны в забрюшинной клетчатке и последующей высокой летальностью.

Анализ непосредственных клинических исходов хирургического лечения больных ПН свидетельствует о необходимости проведения лечебных мероприятий, направленных на локализацию гнойно-деструктивного процесса — ограничение распространения инфекции. Считаем, что это условие может быть достигнуто только путем формирования эффективного естественного или искусственного отграничительного барьера на пути распространения флегмоны.

Обсуждаемые нами вопросы о значимости формирования тканевого барьера при ПН, могут представлять несомненный интерес для хирургов с разных точек зрения: сохранение режима стерильности очага некроза, локализации очага инфицирования, предот-

вращения поступления в инфильтрат ферментативного выпота, блокирование прямой резорбции токсинов и ферментов из парапанкреального инфильтрата в системный кровоток, минуя печеночный барьер.

Процессы тканевого отграничения определяются структурными, патоморфологическими факторами. Проведенный нами анализ морфологических исследований из интраоперационных биоптатов поджелудочной железы и клетчатки больных позволил установить, что для ПН типичным является практически полное отсутствие формирующейся зоны демаркации на границе жизнеспособной и некротизированной ткани, причем – в течение длительного времени (рис. 1). На препаратах жизнеспособные ацинарные структуры практически ничем не отделялись от очагов геморрагического или жирового некроза. Нет ни лейкоцитарной инфильтрации, ни других компонентов классического тканевого отграничения – зоны демаркации. Отсутствие морфологических признаков отграничительной зоны предопределяет высокую доступность обмена между поврежденными и живыми тканями с неконтролируемой резорбцией продуктов распада и токсинов, дальнейшим прогрессированием деструкции, а также высокой вероятностью инфицирования.

Лишь в отдельных наблюдениях нам удавалось выявить зону формирующейся тканевой демаркации, основу которой составляли отдельные, очаговые отложения фибрина, незначительная лейкоцитарная инфильтрация. Депозиты фибрина в виде гомогенных отложений имели различную степень «зрелости» и частично отграничивали сохранившиеся ацинарные дольки от очагов некроза геморрагического или жирового происхождения (рис. 2).

Отсутствие стабильного фибринового слоя в демаркационной зоне при ПН, «отграничивающего» очаги некроза в пораженной железе, наводит на мысль о его возможном непрерывном разрушении – в частности, путем интенсивного лизиса, «переваривания» локально образующегося из фибриногена нерастворимого фибрина ферментами, поступающими в очаг воспаления из поврежденных протоков.

Проведенными лабораторными тестами установлено, что для больных ПН характерен высокий уровень фибриногенемии в системном кровотоке, который прослеживался как при стерильных, так и инфицированных формах поражения (табл. 1). Другие показатели гемостаза (протромбиновый индекс (ПТИ), частично активированное тромбиновое время (АЧТВ) изменялись незначительно. Характерно, что на фоне высокой фибриногенемии в системном кровотоке, в обеих группах, в несколько раз, возрастал уровень растворимых фибрин – мономерных комплексов (РФМК) – продуктов деградации фибрина.

Особенно высокой концентрация растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в системном кровотоке (рост в 7–8 раз) оказалась при инфицированных ПН. Локальный уровень фибриногена в выпоте

Некоторые показатели гемостаза у больных панкреонекрозами (венозная кровь)

Объект оценки	АЧТВ (сек)	ПТИ (%)	Фибриноген (г\л)	РФМК (мкг\мл)
Больные со стерильным ПН	42,1±2,7 P<0,5	102,0±8,7 P<0,1	6,36±0,39 P<0,01	24,4±2,3 P<0,001
Больные с инфицированным ПН	41,8±4,5 P<0,1	88,9±12,5 P<0,1	5,43±0,24 P<0,01	27,3±0,4 P<0,001
Контрольная группа	38,7±3,2	96,5±6,2	2,9±0,4 г/л	2,5±0,4

Примечание: p – статистическая значимость различий между показателями здоровых людей и больными ПН

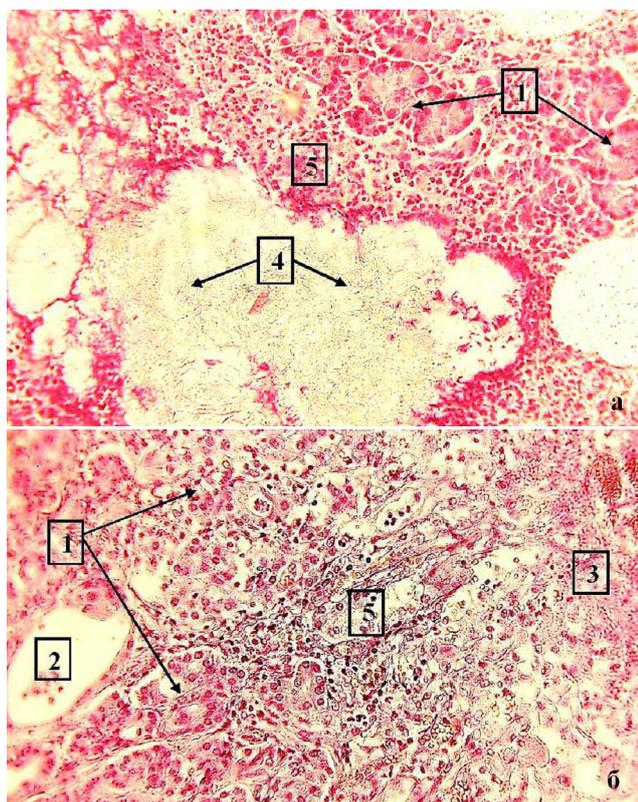


Рис. 1. Микрофото поджелудочной железы при ПН (а – жировом, б – геморрагическом): 1 – жизнеспособные ацинусы; 2 – сохранившийся проток 2 порядка в непосредственной близости от зоны некроза; 3 – зона геморрагического ПН с тканевым детритом и гемолизом эритроцитов; 4 – зона жирового некроза; 5 – «пограничная» зона. Окраска гематоксилин – эозином, х400

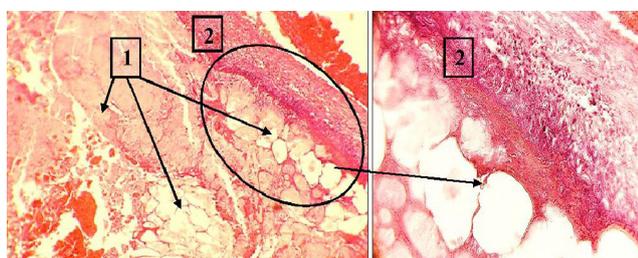


Рис. 2. Микрофото поджелудочной железы при ПН. Очаги жирового некроза (1), массивные отложения эндогенного фибрина в зоне тканевой демаркации (2). Окраска гематоксилин – эозином, х100, фрагмента препарата – х400

из брюшной полости (сальниковой сумки) был крайне неоднородным и изменялся в большом диапазоне – от высоких до минимальных цифр. На этом фоне, системная концентрация маркеров активного лизиса фибрина – D-димеров у больных ПН существенно возрастала. Характерно, что в выпоте из свободной брюшной полости и, особенно, из сальниковой сумки, уровень D – димеров оказался в несколько раз больше чем в венозной крови — 3245±689 мкг/л и 745±62 мкг/л, соответственно (P<0,001).

Следовательно, возникающая при ПН гиперфибриногенемия и массивная экссудация плазмы из сосудистого русла в парапанкреатическую клетчатку, несомненно, может рассматриваться и как приспособительная реакция организма, направленная на формирование тканевого воспалительного отграничения. Мы предполагаем, что поступающий в зону ферментативного инфильтрата сок поджелудочной железы (активные протеазы) может «переваривать» формирующуюся фибриновую матрицу в зоне демаркации. Вероятно, некоторые гуморальные иммунные факторы плазмы (комплемент, цитокины, интерферон) могут поддерживать асептический характер воспаления в зоне некроза. Мы предполагаем, что возможное снижение их системной концентрации в процессе длительного лечения и особенно — нарушение их поступления в очаг деструкции также является одной из причин медленного формирования зоны демаркации с инфицированием очагов некроза.

Выявленная нами динамика показателей системного и локального гемостаза с классических позиций может трактоваться как признак интенсивной активации системы гемостаза с элементами потребления свертывающих факторов, прежде всего – фибриногена, характерный для диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС). Однако, в реальной хирургической практике клинические признаки диссеминированного тромбообразования (тромбозы магистральных сосудов) выявляются при ПН весьма редко, особенно при неосложненных, асептических формах. На наш взгляд, здесь вполне уместна дискуссия о том, имеем ли мы дело при ПН только с внутрисосудистым процессом фибринообразования и фибринолиза или он протекает вне сосудистого русла? Хорошо известно, что в процессе интенсивной трансудации плазмы в забрюшинную клетчатку в значительных объемах

Динамика растворения свежих фибриновых сгустков при их взаимодействии с препаратами – химопсином (5 мг) и 5% аминокaproновой кислотой (суточная экспозиция)

Условия лабораторного эксперимента	Вес фибрина (сухого) /мг/
Фибриновый сгусток (60 секундной зрелости) – суточная экспозиция с физиологическим раствором (контроль)	80,1±2,5
Фибриновый сгусток (60 секундной зрелости) – суточная экспозиция с химопсином (5 мг)	30,2±2,6 P< 0,001
Фибриновый сгусток (60 секундной зрелости) – суточная экспозиция с химопсином (5 мг) в присутствии аминокaproновой кислоты	41,3±8,8 P ¹ <0,01 P ² < 0,05
Фибриновый сгусток (900 секундной зрелости) – суточная экспозиция с химопсином (5 мг)	76,8±1,7 P>0,1

Примечание: P¹ – статистическая значимость отличия от показателя в контроле (физиологический раствор), P² – статистическая значимость отличия показателя от такового в опыте с изолированным действием химопсина.

поступает фибриноген, который под воздействием тканевых факторов свертывания может трансформироваться в коагулированный, нерастворимый фибрин. Важно, что эти очаги (внутриклеточные депозиты) коагулированного фибрина уже могут служить матрицей для формирования ограничительного барьера в зоне очага некроза. Высокий локальный уровень продуктов распада фибрина (PФМК, D– димеров) свидетельствует об интенсивном, преимущественно местном лизисе, этих, внесосудистых отложений фибрина. Наиболее вероятная причина этого – местный протеолитический лизис фибрина (фибринолиз) и фибриногена (фибриногенолиз) активированными ферментами-протеазами сока поджелудочной железы, непрерывно и параллельно поступающими в ферментативно-геморрагический инфильтрат в значительном количестве.

Выявленные у больных нарушения ставят вопрос об актуальности экспериментального воспроизведения и детальной оценки процессов фибринообразования и фибринолиза, гипотетически протекающих в ферментативном инфильтрате забрюшинной клетчатки при ПН в лабораторных условиях. Во-первых, это, изучение динамики фибринообразования в плазме человека при ее контакте с забрюшинной клетчаткой и, в частности, при ее инфильтрации ферментами поджелудочной железы. Во-вторых – оценка возможностей лизиса (растворения) свежееобразованных фибриновых сгустков ферментами поджелудочной железы (трипсин, химотрипсин). Третьим важным компонентом эксперимента мы считали необходимость экспериментальной оценки возможности лекарственного подавления ферментативного лизиса свежих сгустков фибрина известными лечебными средствами (антиферменты, аминокaproновая кислота).

В результате проведенных пробирочных тестов мы установили, что ферменты поджелудочной железы (свежий нативный сок, препарат «Химопсин») обладают свойствами по замедлению процесса образования фибринового сгустка. Но наибольший интерес представляет серия экспериментов, направленных на оцен-

ку динамики лизиса нестабильных фибриновых сгустков под действием нативного сока поджелудочной железы и стандартизованного препарата «Химопсин» (химотрипсин + трипсин). Для максимальной объективизации этого процесса оценивалась динамика изменения веса свежееобразованных фибриновых сгустков различной «зрелости» – 60 секундной (1 группа) и 900 секундной (2 группа). Как видно из таблицы 2, добавление в пробирки со свежими фибриновыми сгустками (первая серия эксперимента) химопсина, приводило к значительному и статистически достоверному лизису свежееполученных сгустков – до 2/3 их первоначального веса. Характерно, что в аналогичных условиях, активные протеолитические ферменты не оказывали влияния на вес более зрелых сгустков (900 секундная зрелость), то есть не приводили к их лизису.

Следовательно, интенсивно протекающий в забрюшинной клетчатке при ПН процесс фибринообразования, может в параллельном и непрерывном режиме сопровождаться протеолитическим лизисом вновь образующегося нестабильного фибрина (фибринолиз) активированными ферментами поджелудочной железы, поступающими в забрюшинную клетчатку.

Первоначально апробацию технологии формирования фибринового ограничительного барьера в парапанкреатической клетчатке проводили в эксперименте на животных. Основываясь на результатах исследований *in vitro*, мы провели эксперименты на животных. В парапанкреальную клетчатку вводился криопреципитат плазмы человека, содержащий высокие концентрации фибриногена и других факторов свертывания крови, иммуноглобулинов, а также – растворы аминокaproновой кислоты и глюконата кальция.

При последующем анализе гистологических препаратов, полученных у экспериментальных животных, выявлено, что в парапанкреатической жировой клетчатке, уже в первые сутки после моделирования «фибринового» барьера, выявлялась сеть многочисленных мелких очагов (депозитов) фибрина. Особенно хорошо диссеминированные островковые отложения

«молодого» фибрина, лейкоцитарная инфильтрация, в забрюшинной клетчатке прослеживались на 7-е сутки эксперимента (рис. 3). При этом, в значительном количестве, в зоне образования «барьера» появлялись многочисленные фибробласты, отдельные капиллярные сосуды. Такая гистологическая картина характерна для типичного формирования локального очага незрелой (грануляционной) соединительной ткани и является одним неотъемлемых условий для последующего развития на этой тканевой основе рубцовой инкапсуляции – зоны отграничения некротических тканей (walled-off pancreatic necrosis). Итак, результаты проведенных экспериментов у животных (in vivo) с формированием искусственного тканевого барьера путем внутритканевой инфильтрации клетчатки естественным экзогенным донатором фибриногена/фибрина (криопреципитатом плазмы) подтверждают его реальность с применением разработанной нами оригинальной технологии.

В хирургической клинике методика формирования искусственного фибринового «барьера» в забрюшинной клетчатке воспроизводилась в процессе выполнения основного хирургического вмешательства у 19 пациентов. У 4 больных стерильным ПН процедура выполнялась при видеолaparоскопическом вмешательстве. При ПН, осложненных парапанкреальной флегмоной (15 наблюдений) искусственный тканевой барьер формировался в процессе открытой операции. Техника формирования искусственного фибринового барьера заключалась в инфильтрации криопреципитатом забрюшинной клетчатки пункционно, из нескольких точек, в зависимости от границ распространения флегмоны: забрюшинно, по нижнему краю поджелудочной железы, в корень брыжейки ободочной кишки, параколярно справа и слева. Течение послеоперационного периода протекало благоприятно у всех больных стерильным ПН, летальных исходов и серьезных осложнений не было.

Повторные вмешательства (релапаротомии по требованию) потребовались 11 оперированным больным инфицированными ПН из – за сохраняющейся гипертермии и токсемии. Мы ограничились при этих

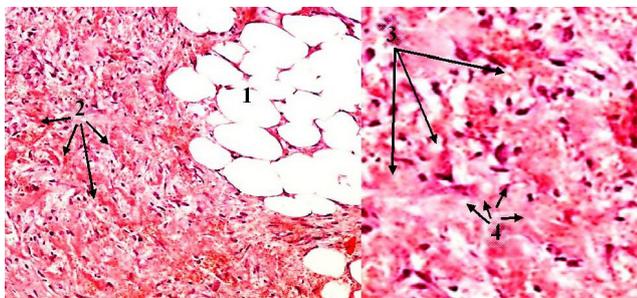


Рис. 3. Микрофото парапанкреатической клетчатки собаки с формированием «фибринового» отграничительного барьера (7 суток): 1 – жировая клетчатка, 2 – множественные диффузные очаговые отложения фибрина, 3 – фибробласты, 4 – лейкоцитарная инфильтрация. Окраска гематоксилин – эозин, X 100

операциях санациями сальниковой сумки, некрэксеквестрэктомиями из области пораженной клетчатки выше (проксимальнее) зоны сформированного «барьера». Применение в клинике разработанного метода при инфицированных ПН (забрюшинная флегмона) позволило достичь клинического эффекта у подавляющего большинства больных (13 наблюдений). Во всех этих случаях нам удалось добиться хорошего отграничения процесса и регрессирования флегмоны. Лишь у оперированных нами 2 больных с обширной забрюшинной флегмоной применяемый метод оказался неэффективным и закончился летальным исходом – 11,8% летальности.

Динамика трансформации искусственного фибринового барьера у оперированных больных изучалась в послеоперационном периоде методами УЗИ, МСКТ, лабораторных тестов, в отдельных наблюдениях – по интраоперационной визуальной картине (11 случаев). Прогрессирования забрюшинной флегмоны в послеоперационном периоде не выявлено. У этих больных наблюдалось формирование парапанкреатического инфильтрата по границе распространения флегмоны. В наблюдениях с повторными вмеша-

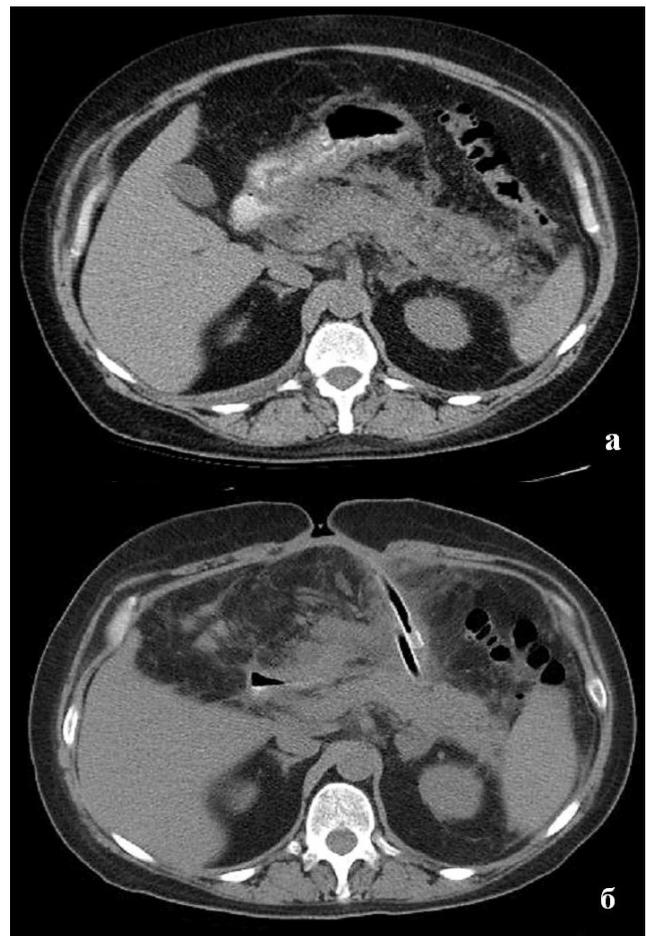


Рис. 4. МСКТ больного N., 36 лет: а – геморрагический ПН, парапанкреатическая флегмона (при поступлении); б – тот же пациент на 15 сутки после оперативного вмешательства с формированием парапанкреатического фибринового барьера.

ствами установлено, что его толщина варьировала от 1 до 3 см. По данным компьютерной томографии, в послеоперационном периоде выявлена положительная динамика течения ПН, уменьшение поражения забрюшинной клетчатки, формирование парапанкреатического фибринового барьера (рис. 4 а, б). В отдаленном периоде (более 1 года) обследовано 5 больных. Инфильтрат в забрюшинной клетчатке полностью регрессировал в разные сроки в зависимости от тяжести поражения – от 7 до 30 дней после операции. Спустя 2-3 месяца после формирования искусственного фибринового барьера отмечены достоверные признаки тканевого (рубцового) отграничения зоны поражения, ликвидация инфильтрации с восстановлением обычной дольчатой структуры оставшихся жизнеспособных сегментов поджелудочной железы.

Таким образом, положительная клиническая динамика у оперированных больных, которым формировался фибриновый «блок» с быстрой нормализацией лабораторных показателей, значительным снижением тяжести легочного дистресс-синдрома, динамики УЗИ и МСКТ-картины объективно свидетельствуют о замедлении интенсивности распространения гнойного воспаления и его локализации. «Прямое» поступление ферментов-токсинов в системный кровоток блокируется в результате уменьшения их прямой резорбции из депо-инфильтрата в забрюшинной клетчатке.

Список литературы

1. Затевахин И.И., Цицашвили М.Ш., Будурова М.Д. Оценка объема органных и внеорганных поражений при остром деструктивном панкреатите и ее влияние на летальность. *Анналы хирургии* 2002; 1: 35 – 42.
2. Кригер А.Г., Владимиров В.Г., Андрейцев И.Л. Лечение панкреонекроза с поражением забрюшинной клетчатки. *Хирургия* 2004; 2: 18 – 22.
3. Лубянский В.Г., Алиев А.Р., Яцын А.М. Патогенез вовлечения забрюшинной клетчатки в воспалительный процесс при панкреонекрозе и его влияние на результаты лечения. *Проблемы клинической медицины* 2011; 1; 2(24): 80 – 89.
4. Нестеренко Ю.А., Лантев В.В., Михайлусов С.В. Диагностика и лечение деструктивного панкреатита. М.: ООО "БИНОМ – Пресс 2004; 304.
5. Савельев В.С., Филимонов М.И., Бурневич З.С. Панкреонекрозы. МИА. 2008; 264.
6. Толстой А.Д., Панов В.П., Краснорогов В.Б. Парапанкреатит. Этиология, патогенез, диагностика, лечение. СПб.: Ясный свет. 2003; 256.
7. Baron T.H., Kozarek R.A. Endotherapy for organized pancreatic necrosis: perspectives after 20 years/ *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2012; 10, 11: 1202 – 1207;
8. Beger H.G., Matsuno S., Cameron J.L. Diseases of the pancreas: current surgical therapy. Springer. 2007; 949.
9. Castellanos G., Piñero A., Doig L.A. Management of infected pancreatic necrosis using retroperitoneal necrosectomy with flexible endoscope: 10 years of experience. *Surg. Endosc.* 2013; 27(2): 443 – 453.

Выводы

1. Результаты хирургического лечения больных с ПН, осложненными флегмоной забрюшинной клетчатки и токсемией, в значительной части наблюдений неудовлетворительны вследствие отсутствия отграничения воспалительного процесса в поджелудочной железе и забрюшинной клетчатке.

2. При ПН имеются признаки параллельного и непрерывного фибринообразования и фибринолизиса (тромбогеморрагический синдром), интенсивно протекающие преимущественно вне сосудистого русла в парапанкреальной клетчатке. Патологическое ферментативное разрушение отложений фибрина на границе жизнеспособных тканей (железа, клетчатка) и некроза резко ограничивает биологические возможности организма по формированию воспалительного отграничительного барьера, что предопределяет высокий риск развития флегмоны и ее прогрессирование в послеоперационном периоде.

3. В эксперименте на животных разработана технология формирования искусственного фибринового отграничительного барьера в забрюшинной клетчатке с использованием криопреципитата плазмы доноров.

4. Применение разработанного метода при хирургическом лечении больных ПН обеспечивает формирование отграничительного «инфильтрата», приостанавливает распространение флегмоны, что приводит к лучшим клиническим результатам.

References

1. Zatevakhin I.I., Tsitsiashvili M.Sh., Budurova M.D. The assessment of organ and extraorgan injuries in acute destructive pancreatitis and its effect on mortality. *Annaly khirurgii.* 2002; 1: 35 – 42. (in Russ.).
2. Kriger A.G., Vladimirov V.G., Andreitsev I.L. The treatment pancreatonecrosis with the defeat of the retroperitoneal fat. *Khirurgiia.* 2004; 2: 18 – 22. (in Russ.).
3. Lubienskii V.G., Aliev A.R., Iatsyn A.M. The pathogenesis of involving retroperitoneal fat in the inflammatory process in pancreonecrosis and its influence on treatment outcomes. *Problemy klinicheskoi meditsiny.* 2011; 1; 2(24): 80 – 89. (in Russ.).
4. Nesterenko Iu.A., Laptev V.V., Mikhailusov S.V. *Diagnostika i lechenie destruktivnogo pankreatita* [Diagnostics and treatment of destructive pancreatitis]. Moscow: ООО "BINOM – Press' Publ., 2004. 304. (in Russ.).
5. Savel'ev V.S., Filimonov M.I., Burnevich Z.S. *Pankreonekrozy* [Pancreatonecrosis]. MIA Publ., 2008. 264. (in Russ.).
6. Tolstoi A.D., Panov V.P., Krasnorogov V.B. *Parapancreatit. Etiologiya, patogenez, diagnostika, lechenie* [Parapancreatitis. Etiology, pathogenesis, diagnosis, treatment]. St. Petersburg: Iasnyi svet Publ., 2003. 256 p. (in Russ.).
7. Baron T.H., Kozarek R.A. Endotherapy for organized pancreatic necrosis: perspectives after 20 years. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2012; 10: 11: 1202 – 1207.

10. Fink D., Soares R., Matthews J.B. et al. History, goals, and technique of laparoscopic pancreatic necrosectomy. *J. Gastrointest. Surg.* 2011; 15 (7): 1092 – 1097;
 11. Gorodetsky R. The use of fibrin based matrices and fibrin microbeads (FMB) for cell based tissue regeneration. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2008; 8 (12): 1831 – 1846;
 12. Stamatakis M., Stefanaki C., Kontzoglou K. et al. Walled-off pancreatic necrosis. *World J Gastroenterol.* 2010; 16(14):1707-12.
 13. Mogford J.E., Tawil B., Jia S. et al. Fibrin sealant combined with fibroblasts and platelet-derived growth factor enhance wound healing in excisional wounds. *Wound. Repair Regen.* 2009; 17 (3): 405 – 410.
 14. Pour P. M. *Toxicology of the Pancreas.* CRC Press, Informa Healthcare. 2006; 695.
- Поступила 11.05.2013 г.
8. Beger H.G., Matsuno S., Cameron J.L. *Diseases of the pancreas: current surgical therapy.* Springer. 2007; 949.
 9. Castellanos G., Piñero A., Doig L.A. Management of infected pancreatic necrosis using retroperitoneal necrosectomy with flexible endoscope: 10 years of experience. *Surg. Endosc.* 2013; 27(2): 443 – 453.
 10. Fink D., Soares R., Matthews J.B. et al. History, goals, and technique of laparoscopic pancreatic necrosectomy. *J. Gastrointest. Surg.* 2011; 15 (7): 1092 – 1097.
 11. Gorodetsky R. The use of fibrin based matrices and fibrin microbeads (FMB) for cell based tissue regeneration. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2008; 8 (12): 1831 – 1846.
 12. Stamatakis M., Stefanaki C., Kontzoglou K. et al. Walled-off pancreatic necrosis. *World J. Gastroenterol.* 2010; 16(14): 1707-12.
 13. Mogford J.E., Tawil B., Jia S. et al. Fibrin sealant combined with fibroblasts and platelet-derived growth factor enhance wound healing in excisional wounds. *Wound. Repair Regen.* 2009; 17 (3): 405 – 410.
 14. Pour P. M. *Toxicology of the Pancreas.* CRC Press, Informa Healthcare, 2006; 695.
- Received 11.05.2013

Информация об авторах

1. Лубянский Владимир Григорьевич – д.м.н., проф., зав. кафедрой госпитальной хирургии Алтайского государственного медицинского университета; e-mail: LVG51@mail.ru
2. Устинов Дмитрий Николаевич – врач-ординатор 1 хирургического отделения ГБ№1 г. Барнаула. e-mail: ustinoff.dmitr@yandex.ru
3. Алиев Александр Руштиевиц – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной хирургии Алтайского государственного медицинского университета; e-mail: alievar10@mail.ru
4. Жариков Андрей Николаевич – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры госпитальной хирургии Алтайского государственного медицинского университета; e-mail: zhar67@mail.ru
5. Телков Максим Викторович – аспирант кафедры госпитальной хирургии Алтайского государственного медицинского университета; e-mail: maks220382@mail.ru
6. Быков Виктор Митрофанович – к.м.н., ассистент кафедры госпитальной хирургии Алтайского государственного медицинского университета; e-mail: victor.bikov@mail.ru
7. Арутюнян Генри Александрович – аспирант кафедры госпитальной хирургии Алтайского государственного медицинского университета

Infomation about the Authors

1. Lubianskii V. - MD, professor, head of department of hospital surgery, Altai State Medical University, Barnaul; E-mail: LVG51@mail.ru
2. Ustinov D. - the surgeon, Regional State Budgetary Institution "City Hospital № 1", Barnaul; E-mail: ustinoff.dmitr@yandex.ru
3. Aliev A. - Ph.D., assistant Professor of department of hospital surgery, Altai State Medical University, Barnaul; E-mail: ustinoff.dmitr@yandex.ru
4. Zharikov A. - Ph.D., assistant of department of hospital surgery, Altai State Medical University, Barnaul; E-mail: zhar67@mail.ru
5. Telkov M. - postgraduate studies of department of hospital surgery, Altai State Medical University, Barnaul; E-mail: maks220382@mail.ru
6. Bykov V. - Ph.D., assistant of department of hospital surgery, Altai State Medical University, Barnaul; E-mail: victor.bikov@mail.ru
7. Arutiunian G. - postgraduate studies of department of hospital surgery, Altai State Medical University, Barnaul.