

Крылова Елена Александровна

**ХРОНИЧЕСКИЙ ПАНКРЕАТИТ: ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И ЛЕЧЕБНЫЕ
АСПЕКТЫ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ФОРМ**

(клинико-экспериментальное исследование)

14.01.28 - гастроэнтерология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

МОСКВА - 2020

Работа выполнена в ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», г. Днепропетровск

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Губергриц Наталья Борисовна

Официальные оппоненты:

Минушкин Олег Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ, кафедра терапии и гастроэнтерологии, заведующий кафедрой

Белоусова Елена Александровна – доктор медицинских наук, профессор, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского», факультет усовершенствования врачей, кафедра гастроэнтерологии, заведующая кафедрой

Ахмедов Вадим Адильевич – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра медицинской реабилитации ДПО, заведующий кафедрой

Ведущее учреждение: ГБУЗ Московский клинический научный центр имени А.С. Логинова ДЗМ

Защита диссертации состоится " ____ " _____ 2020 г. в ____ часов на заседании Диссертационного совета Д 208.040.10 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) по адресу: 119991 г. Москва, ул.Трубецкая, д.8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) по адресу: 119034 г. Москва, Zubovskiy bulvar d 37/1 и на сайте <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан " ____ " _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат медицинских наук, доцент

Чебышева Светлана Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Хронический панкреатит (ХП) устойчиво занимает одно из первых мест в структуре заболеваний органов пищеварения, поражает лиц трудоспособного возраста и относится к числу наиболее сложных для изучения заболеваний пищеварительной системы, что объясняется объективными трудностями его диагностики и недостаточной эффективностью существующих методов лечения (Губергриц Н.Б., 2008, Харченко Н.В., 2007, В. И. Егоров, 2009, Barbu T., 2008, Ивашкин В.Т., 2017, Löhr J.M., 2017).

Несмотря на многолетнюю историю изучения ХП, на сегодняшний день не установлены различия в развитии и течении клинико-морфологических форм: обструктивного, кальцифицирующего, паренхиматозно-воспалительного (фиброзно-паренхиматозного) и ХП, осложненного образованием псевдокисты. Не установлена зависимость течения форм заболевания от уровня цитокинов и других медиаторов, ответственных за активацию стелатных (звездчатых) клеток поджелудочной железы (ПЖ) и регуляцию фиброобразования, факторов камнеобразования - литостатина и лактоферрина, роли перекисного окисления липидов (ПОЛ) и регуляторных факторов иммунной системы в активации фиброобразования.

Это побудило нас изучить роль медиаторов воспаления, маркеров фиброгенеза и панкреатолиптаза, процессов апоптоза при клинико-морфологических формах ХП, определить предикторы прогрессирования фиброзных изменений, образования кальцинатов / кальцификатов, разработать способы лечения, направленные на торможение процессов фиброобразования, апоптоза, камнеобразования в ПЖ, нормализацию цитокинового профиля больных, что будет способствовать повышению эффективности лечения, удлинению ремиссии, улучшению качества жизни больных.

Цель работы. Определить маркеры прогрессирования различных клинико-морфологических форм хронического панкреатита и повысить эффективность лечения больных на основании изучения роли иммунно-морфологических факторов, оксидативного стресса в прогрессировании фиброобразования и камнеобразования.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Изучить факторы риска развития различных клинико-морфологических форм хронического панкреатита и качество жизни больных.

2. Оценить возможности современных методов диагностики клинико-морфологических форм хронического панкреатита.

3. Определить морфологические особенности поджелудочной железы при клинико-морфологических формах хронического панкреатита.

4. Изучить особенности маркеров воспаления, фиброза, камнеобразования, апоптоза при клинико-морфологических формах хронического панкреатита.

5. Исследовать роль системы ПОЛ-антиоксидантная защита (АОЗ) в прогрессировании клинико-морфологических форм хронического панкреатита и характеристики липидного спектра крови больных.

6. В эксперименте проанализировать основные морфологические изменения поджелудочной железы при развитии хронического панкреатита и определить методы терапевтического воздействия.

7. Разработать лечебно-диагностический алгоритм хронического панкреатита с учетом факторов прогрессирования заболевания и провести его оценку в отношении повышения эффективности терапии, улучшения клинического течения заболевания и качества жизни больных.

Научная новизна полученных результатов.

В результате исследования получены новые данные о морфологических, функциональных и метаболических факторах, имеющих ведущее значение в механизмах прогрессирования хронического панкреатита. Проведена сравнительная оценка указанных факторов в зависимости от клинико-морфологической формы хронического панкреатита.

Впервые комплексно изучены иммунно-морфологические, профибротические факторы и оксидативный стресс при клинико-морфологических формах хронического панкреатита и определена их роль в прогрессировании фиброобразования и камнеобразования, определены маркеры прогнозирования течения заболевания.

Впервые разработана экспериментальная модель ХП и изучено влияние глутаргина на состояние системы ПОЛ-АОЗ и метаболизм коллагена.

Разработан и патогенетически обоснован комплекс лечебных мероприятий у больных ХП, включающий аутоцитокины, глутаргин и вихревое импульсное магнитное поле (ВИМП). Доказана высокая эффективность и целесообразность предлагаемой терапевтической программы за счет коррекции цитокинового профиля, показателей

липероксидации, эндогенной интоксикации, оптимизации АОЗ, улучшения общего состояния и качества жизни больных.

Практическая значимость работы.

Практическая ценность работы заключается в разработке и клинической оценке методов прогнозирования развития кальцинатов протоков / кальцификатов паренхимы ПЖ по коэффициенту кальцификации ($REG\ 1\ \alpha$ / лактоферрин); неинвазивного метода оценки дисфункции сфинктера Одди с использованием эуфиллин-кальциевого теста и сонографическим мониторингом протоковой системы ПЖ; методах совершенствования лечения больных хроническим панкреатитом с использованием аутоцитокинов, глутаргина и вихревого импульсного магнитного поля.

Практические рекомендации и выводы работы могут быть использованы в практической деятельности терапевтических, гастроэнтерологических отделений областных, районных, городских больниц, а также в учебном процессе в высших учебных медицинских заведениях и институтах усовершенствования врачей.

По материалам диссертации изданы методические рекомендации «Хронический панкреатит: вопросы диагностики и лечения» (Киев, 2011), «Совершенствование методов исследования качества жизни у больных хроническим панкреатитом и гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью, сочетанной с дисфункцией сфинктера Одди» (Киев, 2014), получены патенты на полезную модель "Способ диагностики дисфункции сфинктера Одди" (№ 61637, Украина), "Способ коррекции состояния иммунной системы у больных хроническим панкреатитом" (№ 63468, Украина), "Способ коррекции нарушений состояния глутатионовой системы у больных хроническим панкреатитом" (№ 63469, Украина), "Способ лечения болевого синдрома у больных хроническим панкреатитом" (№ 63463, Украина), "Способ моделирования панкреатита в эксперименте" (№ 61631, Украина) и утверждено информационное письмо "Коррекция нитроэргической системы и выраженности оксидативного стресса у больных хроническим панкреатитом" (Киев, 2013).

Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебную практику клиники ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины» (акты внедрения от 1.12.10), КУ «Дорожная клиническая больница станции Днепропетровск» (акты от 23.12.09), КУ «Сумская областная клиническая больница» (акты от 28.12.09 и 22.12.11.), КУ «Городская клиническая больница ЭСМП Запорожье» (акты от 13.12.11), КУ «Запорожская областная

клиническая больница» (акты от 25.12.09), КУ «Областная больница - центр экстренной медицинской помощи и медицины катастроф Черкасского областного совета» (акты от 7.12.11), Луганской областной клинической больницы (акты от 30.11.11), КУ «Днепропетровская шестая городская больница» (акты от 20.12.12), в учебный процесс ДНУ им. О. Гончара (акт от 17.01.13).

Методология и методы исследования

Данное исследование было клиническим, рандомизированным, контролируемым, открытым, проспективным. В ходе исследования проверялась гипотеза о том, что развитие и течение клинико-морфологических форм хронического панкреатита зависит от соотношения уровней цитокинов и медиаторов фиброобразования поджелудочной железы, факторов камнеобразования, апоптоза, оксидативного стресса и регуляторных факторов иммунной системы. Терапевтическое воздействие, направленное на торможение процессов фиброза, апоптоза, камнеобразования в поджелудочной железе, нормализацию цитокинового профиля будет способствовать повышению эффективности терапии и улучшению качества жизни больных.

В работе использовались методы исследования: клинические, инструментальные (ультразвуковые (УЗИ), эндоскопическая ретроградная панкреатография (ЭРХПГ), компьютерная томография (КТ)), функциональные (зондирование желудка и дуоденальное зондирование), морфологические, биохимические (определение показателей ПОЛ и АОЗ, молекул средней массы (МСМ), уровня общих липидов, продуктов синтеза коллагена), иммунологические (иммуноферментный для определения в крови уровней интерлейкинов TNF- α , TGF- β 1, REG-1 α , лактоферрина, фекальной эластазы-1, методы анализа иммунного статуса и неспецифической резистентности организма), микробиологические, динамические (проспективное наблюдение), анкетирование, статистические.

Для изучения клинических и лабораторных особенностей пациентов с хроническим панкреатитом дизайном исследования предусмотрено формирование контрольной группы практически здоровых лиц. Сравнительному анализу были подвергнуты также варианты терапии больных, что позволило выделить эффективную методику комплексной терапии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. У больных ХП хроническое воспаление ПЖ сопровождается дисфункцией системы иммунитета с нарушением цитокиновой регуляции иммунокомпетентных клеток

и повышением продукции профибротических и провоспалительных цитокинов, литостатина и лактоферрина на фоне снижения в крови уровня белка-рецептора апоптоза, причем степень иммунных расстройств усиливается при длительном течении заболевания.

2. Для больных ХП характерны эндотоксемия, активация фиброзных процессов и процессов перекисного окисления липидов, особенно для пациентов с обструктивным и кальцифицирующим ХП. Корреляционными связями установлено взаимовлияние иммунных факторов, показателей оксидативного стресса, нарушений билиарного тракта (расширения холедоха с наличием неомогенного содержимого в нем) в развитии и течении ХП.

3. Кальцинаты протоков / кальцификаты паренхимы ПЖ выявляются при уровне коэффициента кальцификации (REG-1 α / лактоферрин) меньше 0,5. При уровне коэффициента 0,5-1,0 - высокая вероятность камнеобразования, а при значении его 1,5 и выше - низкая.

4. Маркерами прогрессирования ХП являются: значение коэффициента кальцификации (REG-1 α / лактоферрин) 0,5-1,0; транслокация ДНК-азы I из цитоплазмы в ядро ацинарной клетки; активация коллагенообразования (снижение отношения оксипролин белковосвязанный (ОП_{бсв})/гиалуроновая кислота (ГК) ниже 0,5), рост уровня активаторов фиброза (TGF- β 1, TNF-a), интенсификация процессов ПОЛ (малоновый диальдегид (МДА)).

5. Морфологическая картина фиброзных изменений ПЖ не зависит от формы заболевания и чаще характеризуется умеренной степенью фиброза и полным фиброзом. Механизмы апоптоза в экзо- и эндокринной частях ПЖ различны – проапоптотическая протеаза ДНК-аза I экспрессируется в цитоплазме ацинарных клеток, а эндонуклеаза-G в инсулярных клетках. Ранним маркером апоптоза является транслокация ДНК-азы I из цитоплазмы в ядро ацинарной клетки.

6. Для диагностики кальцифицирующего ХП и панкреатита, осложненного псевдокистой достаточно использования УЗИ, для диагностики других форм необходимо дополнительно применять КТ и, при необходимости, ЭРХПГ. Показатель плотности паренхимы по данным УЗИ соответствует участкам фиброза паренхимы железы по данным морфологических исследований.

7. Применение глутаргина при экспериментальном панкреатите способствует снижению уровня продуктов перекисного окисления липидов, улучшает состояние системы антиоксидантной защиты и нормализует метаболизм коллагена.

8. Включение в лечебный комплекс больных ХП аутоцитокинов, глутаргина и вихревого импульсного магнитного поля (ВИМП) оказывает положительное влияние и позволяет повысить эффективность лечения за счет коррекции цитокинового профиля, показателей липероксидации, эндогенной интоксикации, оптимизации АОЗ, улучшения общего состояния и качества жизни больных.

Достоверность и обоснованность результатов исследования обеспечена соблюдением нормативов теоретического и экспериментального исследований, представительностью выборки, количественным и качественным анализом достаточно обширного первичного материала, использованием современных методов исследования и методичностью исследовательских процедур, применением современных методов математической и статистической обработки данных. Полученные в ходе работы результаты в основном являются оригинальными и отвечают современным представлениям о данной проблеме.

Апробация результатов диссертации. Основные положения диссертации опубликованы на Фальк симпозиуме №152 (Берлин, 2006), I Украинской гастроэнтерологической неделе (Днепропетровск, 2007), II Украинской гастроэнтерологической неделе (Днепропетровск, 2008), 10-м Юбилейном международном Славяно-Балтийском научном форуме "Санкт Петербург - Гастро-2008", Joint Meeting of the European Pancreatic Club and the International Association of Pancreatology (June 25-28, 2008, Lodz, Poland), на IX съезде научного общества гастроэнтерологов России (Москва, 2009), 41th Annual Meeting of the European Pancreatic Club (1-3 July 2009, Szeged, Hungary), IV съезде гастроэнтерологов Украины (Днепропетровск, 2010) 42nd European Pancreatic Club Meeting (June 16-19, 2010, Stockholm, Sweden), 43th Annual Meeting of the European Pancreatic Club (22-25 June 2011, Magdeburg, Germany), научно-практической конференции с международным участием «Здоровье работающих» (Донецк, 2011), IV Украинской гастроэнтерологической неделе «От научных достижений в клиническую практику» (Киев, 2011), научно-практической конференции «Актуальные вопросы внутренней медицины» (Черновцы, 2011), научно-практической конференции «Современные технологии в

диагностике и лечении гастроэнтерологических заболеваний» (Днепропетровск, 2011), Международном медицинском форуме (Киев, 2011), научно-практической конференции с международным участием «Сложные аспекты гастроэнтерологии» (Донецк, 2011), заседании Украинского клуба панкреатологов «Новости мировой панкреатологии. Сочетанные заболевания поджелудочной железы и печени» (Ялта, 2011), симпозиуме «Современные технологии в диагностике и лечении больных с гастроэнтерологическими заболеваниями» в рамках Международного медицинского форума (Киев, 2012), V Украинской гастроэнтерологической неделе (Днепропетровск, 2012), научно-практическом междисциплинарном семинаре «Современные аспекты диагностики и лечения заболеваний печени и поджелудочной железы» (Днепропетровск, 2013), 23-й Объединенной Европейской гастроэнтерологической неделе (Барселона, Испания, 2015), Международной научно-практической конференции «Инновационные технологии в медицине: опыт Польши и Украины» (Люблин, Польша, 2017), научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы последиplomного медицинского образования и клинической медицины» (Полтава, 2018), на 21-м международном медицинском Славяно-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург – Гастро-2019», 51st Annual Meeting of the European Pancreatic Club (Bergen, Norway, 2019), на XI Украинской гастроэнтерологической неделе (Одесса, 2019), на 25-й Российской гастроэнтерологической неделе (Москва, 2019).

Личный вклад соискателя. Соискателем лично осуществлена разработка основных теоретических и практических положений работы, проведен анализ литературных источников, выполнены эндоскопические исследования больных с применением миниинвазивных методик лечения. При оценке макро- и микроструктурной организации органов панкреато-билиарной системы у обследованных больных, статистической обработке материала автор принимала участие. Соискатель самостоятельно провела набор фактического материала, проанализировала результаты иммунологических, биохимических, рентгенологических, морфологических исследований, провела анализ эффективности лечения, теоретическое обобщение полученных результатов работы, написала все разделы диссертации, сделала выводы и предложила практические рекомендации, подготовила к печати результаты собственных исследований. Заимствований идей и разработок соавторов публикаций не было.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация посвящена актуальной проблеме теоретической и практической гастроэнтерологии - уточнению механизмов прогрессирования фиброзированию и камнеобразования при хроническом панкреатите, определению маркеров прогнозирования течения заболевания, разработке методов лечения больных. Диссертация соответствует специальности 14.01.28 - Гастроэнтерология.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 26 научных работ, в том числе 10 статей в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ для публикации результатов докторской диссертации.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 7 глав, анализа и обобщения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка использованных источников литературы. Изложена на 352 страницах машинописного текста, иллюстрирована 70 таблицами, 84 рисунками, 5 схемами. Список ссылок содержит 429 источников, из них 186 - кириллицей, 243 - латиницей.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования. Проведено комплексное обследование 210 больных ХП. Больные разделены на группы: I группу составили 26 больных (12,4%) обструктивной формой ХП, II - 56 пациентов (26,7%) с кальцифицирующей, III - 78 больных (34,1%) с фиброзно-паренхиматозной, IV - 50 пациентов (23,8%) с ХП, осложненным псевдокистой. Среди обследованных преобладали мужчины (169 мужчин и 41 женщина), средний возраст пациентов ($47,3 \pm 0,7$) лет. Наибольшее количество больных (60,5%) относилось к возрастной группе 41-60 лет, составляющей работоспособный контингент населения. Контрольная группа - 30 практически здоровых лиц.

Всем больным проводили общепринятое клинико-лабораторное исследование - общие анализы крови и мочи, биохимический анализ крови с определением АСТ, АЛТ, билирубина и его фракций, количества белка и его фракций, инструментальные исследования. Для изучения состояния ПЖ проводили УЗ-исследование на аппарате Sonoscor-30 (Япония). Применялась стандартная методика полипозиционного ультразвукового сканирования ПЖ, печени, холедоха, желчного пузыря (ЖП). Изучались размеры органов, их структура, плотность, звукопроводность. Определялся диаметр главного панкреатического протока (ГПП), толщина и степень плотности его стенки, а

также плотность содержимого (Кан В. К., 1997). Для определения состояния панкреато-билиарных протоков выполняли ЭРПХГ в рентгенооперационной дуоденоскопом с боковой оптикой - JF-1T30 "Olympus" (Япония) и рентген-установкой "Radius" (Италия).

Для диагностики патологии ПЖ дополнительно использовали метод рентгеновской КТ (с контрастированием) на компьютерном томографе "Somatom-CR" "Siemens" (Германия). Для стандартизации результатов эндоскопического исследования использовали "Минимальную стандартную терминологию в эндоскопии пищеварительной системы" (2001). Интерпретацию панкреатограммы проводили по Кембриджским критериям (Yakshe P., 2005).

Для морфологического и морфометрического исследования биоптаты ПЖ получали при аспирационной пункционной биопсии (АПБ) под УЗ контролем и во время плановых операций на органе. Тканевой материал фиксировали в жидкости Буэна, проводили через ряд спиртов, заключали в парафин. Гистологические срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Маллори-Слинченко. Особенности гистоструктуры ПЖ оценивали согласно Stolte (1987). Проводили иммуногистохимическое типирование апоптических нуклеаз (ДНК-азы-I и эндонуклеазы-G) на депарафинированных гистологических срезах ПЖ (ДАБ-реакция). Расчет соотношения эндокринных и эндонуклеаза G-положительных клеток в эндокринных островках ПЖ проведен с помощью программы Image Pro Plus v3.00.00.0 на двумерных изображениях x200 в квадрате 2,5 на 2,5x10-10 мм. Для определения соотношения функциональных и нефункциональных структур паренхимы ПЖ проведены морфометрические исследования с использованием программы Image J 1.45S.

Проводили оценку внешнесекреторной функции ПЖ в эуфиллин-кальциевом тесте (Губергриц Н.Б и соавт., 2000) и по уровню фекальной эластазы-1 (ИФА - система Elastase-1 ELISA фирмы BioServ Diagnostics, Германия). Оценивали экзокринную функцию ПЖ по уровню фекальной эластазы-1 от 200 до > 500 мкг / г нормальная экзокринной функции ПЖ; 100-200 мкг / г - средняя до легкой степени экзокринная недостаточность ПЖ; <100 мкг / г - тяжелая экзокринная недостаточность ПЖ. Для оценки экзокринной функции ПЖ определяли активность ферментов α -амилазы, липазы, трипсина и фосфолипазы А в сыворотке крови по общепринятым в клинике методами (Камышников В. С., 2009).

Состояние эндокринной функции железы оценивали по уровню гликированного гемоглобина и глюкозы крови.

Изучение секреторной функции желудка у пациентов проводили утром натощак через 14-16 часов после последнего приема пищи. Исследовали базальную секрецию в течение часа. Желудочный сок собирали фракционно через каждые 15 минут. Функциональную активность секреторных желез желудка определяли по объему желудочного сока (мл/ч). Кислотность желудочного сока оценивали электрометрическим методом и по темпу секреции H^+ -ионов (Гаршин К.А., 1972). В желудочном соке определяли содержание протеолитических ферментов методом (Шелекетина И.И., 1981), гликопротеинов (Кожухарь Н.П., 1987).

Для изучения состояния иммунной системы определяли субпопуляционный состав лимфоцитов с помощью моноклональных антител фирмы "Сорбент ТМ" к молекулам CD3, CD19, CD4, CD8, CD16, CD25, CD95 (стандартный метод НИИ США) (Сочнер А. М., 1989, Петров Р.В., 1992). Уровни классов иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG в сыворотке крови определяли методом радиальной иммунодиффузии по G.Mancini (1965). Функциональную активность гранулоцитов оценивали в НСТ-тесте по реакции восстановления нитросинего тетразоля (Лефковитс И., 1983). Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) определяли по методу V. Haskova (1977). Изучение уровня провоспалительных и профибротических интерлейкинов TNF- α , IL-10, TGF- β 1, литостатина (REG-1 α) проводили методом ИФА с применением наборов «Вектор Бест» (г. Новосибирск). Определение концентрации лактоферрина проводили на тест системах Лактоферин-стрип ЗАО «Вектор-Бест». Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на фотометре Stat Fax 303⁺. Аутоцитокнины получали методом каскадной стимуляции лимфоцитов ФГА и BCG, стандартизировали по белку, стерилизовали и вводили трижды подкожно (через день) в 5-7 точек в плечо 1,5-3 мл (0,3-0,4 мл в каждую точку).

В крови содержание общих липидов, триацилглицеринов (ТГ), гамаглутамилтрансферазы (ГГТ), кальция (Ca), меди (Cu) исследовали, используя наборы биотеста "Lachema", СРБ - набор фирмы «Антипротеин», общее содержание холестерина (ХС) - по методу Илька, β -липопротеинов (β -ЛП) - по Бурштейн и Самаю, х-липопротеинов (х-ЛП) - по Wehr (Колб В.Г., 1982), ЖК - по Фрошу (Камышников В.С., 2009), содержание липазы в протоковом содержимом - по Титцу (Горячкова А.М.,

1998), содержание гликированного гемоглобина (GHb) с помощью набора фирмы «Lachema», содержание гексозаминов (ГА) по Римингтону (Асатиани В.С., 1957), ОП_{бсв} - по Осадчуку Т.К. (1982), МСМ)- по Николайчуку В.В. (1991). В дуоденальном содержимом, пунктате кист и в содержимом протоков ПЖ оценивали активность ферментов α -амилазы, липазы, трипсина, содержание ГА и уровень бикарбонатов (Камышников В.С., 2009). Состояние системы ПОЛ оценивали по концентрации МДА в плазме крови и эритроцитах, а также по содержанию промежуточных продуктов ПОЛ (Метельская В.А., 2005, Осадчук Т.К., 2001, Овсянникова Л.М., 1999, Волчегорский И.А., 2002). Содержание промежуточных продуктов ПОЛ определяли в гептановой и изопропанольной фракциях (Волчегорский И.А., 2002). Состояние системы АОЗ оценивали по активности супероксиддисмутазы (СОД) (Сирота Т.В., 1999) и каталазы (Овсянникова Л.М., 1999) в гемолизате эритроцитов. В плазме крови измеряли содержание церулоплазмينا (ЦП) (Камышников В.С., 2009). Для оценки равновесия в системе ПОЛ-АОЗ использован коэффициент соотношения ЦП/ МДА*100, который у здоровых лиц составляет $(1,71 \pm 0,11)$.

Микробиологическое исследование желудочного сока и содержимого панкреатического протока проводили по методу секторных посевов Голда. Дальнейшую идентификацию выделенных культур (применение целого ряда тестов для определения биохимических свойств микроорганизмов) проводили на основании Приказа № 535 МЗ СССР "Об унификации микробиологических методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений" (Марухно Т.В, 2007).

У пациентов с ХП до и после лечения для оценки качества жизни проводили опрос с помощью общего опросника формы Medical Outcomes Study Short Form (MOS SF-36, 1992), который включает 36 вопросов, 8 шкал здоровья, обеспечивает количественное определение качества жизни. При этом показатели колеблются от 0 до 100 баллов. Чем выше значение показателя, тем лучше оценка по выбранной шкале. Кроме того, для оценки эффективности лечения дополнительно применяли разработанный нами опросник (Степанов Ю.М., 2012).

Для изучения основных изменений ПЖ при развитии ХП в эксперименте исследование проведено на 54 лабораторных белых крысах-самцах линии Wistar весом

180-230 г. с соблюдением нормативов Конвенции по биоэтике Совета Европы 1997, Европейской конвенции о защите позвоночных животных. При разработке модели ХП крысам ($n = 12$) вводили внутривентриально NG-нитро-L-аргинин (L-NNA) - блокатор NO-синтазы (NOs), производства "Sigma-Aldrich" (USA) в дозе 40 мг/кг в течение 6-ти ($n = 6$), 12-ти ($n = 6$) суток. Контрольную группу ($n = 12$) составили крысы, которым внутривентриально вводили 0,9% раствор NaCl в течение 6, 12 суток. Крыс выводили из эксперимента на 6 и 12 сутки. Во второй модели ХП ($n = 18$) под наркозом кетамин гидрохлорид 110 мг/кг, проводили лапаротомию и перевязку панкреатического протока нерассасывающейся лигатурой "Prolene" 6/0 в течение 6-ти ($n = 6$), 15-ти ($n = 6$) и 30-ти ($n = 6$) суток. Крысам контрольной группы ($n = 12$) выполняли лапаротомию, кратковременную окклюзию панкреатического протока лигированием (10 с) и ушивание раны передней брюшной стенки. Для изучения лечебного действия глутаргина исследование проведено на 21 крысах. Крысам I группы ($n = 7$) вводили внутривентриально L-NNA в течение 12-ти суток в дозе 40 мг / кг; крысам II группы ($n = 7$) - перед 12-дневным введением L-NNA предварительно за 20 мин. внутривентриально вводили препарат глутаргин 20 мг / кг. Контрольную группу ($n = 7$) составили крысы, которым внутривентриально вводили 0,9% раствор NaCl. Крыс выводили из эксперимента на 45 сутки. После вывода животных из эксперимента проводили забор крови для определения концентрации ОП_{бсв}, МДА, глюкозы, нитритов / нитратов, активности α -амилазы и трипсина в сыворотке крови. Ткань ПЖ крыс использовали для гистологического исследования.

Статистическая обработка результатов исследований осуществлялась методами вариационной статистики Statistica for Windows 6.0 (Викел П., 1983). Сравнение двух средних проводили с помощью параметрических и непараметрических критериев в зависимости от распределения данных (метод Шапиро-Уилки). Для сравнения распределения долей переменных использовали χ^2 -тест. Сравнение показателей более двух групп осуществляли с помощью метода ANOVA. Различия средних считались достоверными при достигнутом уровне значимости (p) ниже 0,05. Для определения степени взаимосвязи между двумя показателями был проведен корреляционный анализ с определением достоверных ($p < 0,05$) коэффициентов корреляции Пирсона или ранговых коэффициентов корреляции Спирмена - r (Асатиани В. С., 1957, Бабич П. Н., 2004, Викел П., 1983, Енюков И. С., 1987). Проводили факторный анализ.

Результаты исследования. Установлено, что самым продолжительным анамнез был у больных II группы ($p < 0,05$), менее длительным был у пациентов I и III, и коротким - у больных IV группы. Это совпадает с данными литературы, которые свидетельствуют, что псевдокисты образуются у больных ХП вскоре после начала болезни, а образование кальцинатов и кальцификаты является результатом длительного течения болезни (Оклей. Д.В., 2007, Pelli H., 2009).

Клиническая картина была типичной для данного заболевания и характеризовалась болевым, диспепсическим синдромами и проявлениями внешнесекреторной недостаточности ПЖ. Различия в клинической картине определялись в выраженности боли, которая была наиболее выраженной у больных I группы (89%, $p < 0,05$). С возрастом и с большей длительностью заболевания, выраженность болевого синдрома уменьшалась, о чем свидетельствовала обратная корреляция ($r = -0,81$, $p = 0,055$). Это совпадает с данными литературы, которые свидетельствуют, что с длительным течением прогрессирует функциональная недостаточность ПЖ, а выраженность боли уменьшается (Губергриц Н.Б., 2012).

Проявления внешнесекреторной недостаточности ПЖ, обусловленные мальабсорбцией и малдигестией, более характерны для больных II и III групп, повышение уровня нейтрального жира и жирных кислот в кале достоверно выше у больных II группы. Прогрессивное похудение ухудшило течение заболевания у 40,5% исследованных больных, потеря массы тела была более значительной у больных I и IV групп. Показатели воспаления чаще повышены у больных IV группы. Установлено, что большое значение в развитии псевдокист ПЖ (IV группа) имел ОП ($p < 0,05$), а в развитии кальцифицирующего панкреатита (II группа) - злоупотребление алкоголем, что совпадает с данными других исследователей (Оклей. Д.В., 2007). Для всех больных характерно ухудшение всех уровней качества жизни (физического и психического компонентов здоровья), причем более высокий уровень качества жизни (физического, ролевого, социального функционирования) установлен у больных IV группы, что объяснялось менее длительным анамнезом заболевания. Известно, что среди этиологических факторов ХП выделяют гастрогенный панкреатит, когда длительные гипер- или гипосекретия желудка могут приводить к развитию ХП (Шелагуров А. А., 1970, Herzig K. H., 2011). В нашем исследовании установлено, что у большинства пациентов с ХП наблюдается сохраненная

кислотообразующая и ферментообразующая функции СО желудка. У больных II, III и IV групп наблюдается как сохраненная, так и сниженная кислотообразующая функция СО желудка, тогда как у пациентов I группы обнаруживали только сохраненную кислотообразующую функцию СО желудка и наряду с этим низкий уровень защитной функции. Выявленные нарушения секреторной деятельности желудка у больных ХП влияют на внешнесекреторную деятельность ПЖ, отягощают течение ХП.

О нарушении целостности паренхимы ПЖ или застое ее секрета на том или ином участке протоков свидетельствовало повышение активности панкреатических ферментов в сыворотке крови больных. Так, у большинства больных были достоверно повышенными активность амилазы (в 61,6% случаев), активность трипсина (85,9%) - в 3,5 раза и фосфолипазы (84,6%) - в 2,3 раза по сравнению с группой контроля ($p < 0,001$). Активность липазы у большинства больных (69,7%) была в пределах нормы, только у трети пациентов отмечалось ее повышение (30,3% случаев). Чаще всего активность α -амилазы росла у больных I и IV группы (с одинаковой частотой 70,0%), что было обусловлено обострением процесса или препятствием оттока панкреатического сока, а повышение активности трипсина чаще отмечалось у больных III группы (91,0% случаев). Достоверных различий частоты и выраженности активности липазы и фосфолипазы по группам не установлено.

Итак, одним из ведущих механизмов развития хронического воспалительного процесса в ПЖ является задержка выделения и внутриорганного активация панкреатических ферментов, в первую очередь трипсина и липазы, осуществляющих аутолиз паренхимы железы. Это подтверждалось достаточно высокой активностью ферментов, в сыворотке крови у пациентов всех групп. После стимуляции ПЖ выявлено повышение дебит-часа панкреатических ферментов в дуоденальном содержимом, что согласуется с данными, полученными интраоперационно, и свидетельствует о функциональной способности органа и наличии участков неповрежденной паренхимы железы.

Изменения уровня фекальной эластазы, отвечающие умеренно выраженной и выраженной внешнесекреторной недостаточности (ВСН) ПЖ с высокой частотой обнаружены у больных II и III групп (70,3% и 71,9%), соответственно (табл. 1, 2).

Таблица 1 – Состояние экзокринной функции поджелудочной железы по данным фекальной эластазы-1

Группа больных	Эластаза кала, мкг/г	Норма, мкг/г
I (n=9)	169,89±16,02* ⁺	200
II (n=37)	170,32±8,16* ⁺	
III (n=32)	200,31±9,43	
IV (n=17)	223,82±15,45	
Всего (n=95)	189,96±5,81	

Примечания:

1. * - статистически значимая ($p < 0,05$) разница показателей больных и контроля
2. + - статистически значимая ($p < 0,01$) разница между показателями больных I и II по сравнению с IV группой.

Однако, выраженная ВСНПЖ чаще всего была у больных II группы по сравнению с I ($\chi^2 = 2,78$, $p = 0,096$) и III ($\chi^2 = 0,036$, $p = 0,85$) группами. У больных IV такого уровня эластазы-1 не обнаружено. Об умеренной ВПЖ свидетельствовало снижение уровня фекальной эластазы менее 200 мкг / г, но более 100 мкг / ч. Такая степень недостаточности ПЖ установлена чаще всего у больных III группы 68,8%, в то время как в I она была у 55,6% ($\chi^2 = 0,12$, $p = 0,73$), во II - 51,4% ($\chi^2 = 1,49$, $p = 0,22$), а в IV самой низкой - в 41,2% ($\chi^2 = 2,45$, $p = 0,12$).

Таблица 2 – Выраженность внешнесекреторной недостаточности ПЖ у больных ХП

Эластаза кала, мкг/г	I группа (n=9)		II группа (n=37)		III группа (n=32)		IV группа (n=17)		Всего (n=95)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<100	1	11,1	7	18,9	1	3,1	0	0	9	9,5
100-200	5	55,6	19	51,4	22	68,8	7	41,2	53	55,8
>200	3	33,3	11	29,7	9	28,1	10	58,8	33	34,7

Эти данные свидетельствуют о высокой степени поражения паренхимы ПЖ у больных II и III групп (по данным фекального эластазного теста). То есть, по полученным данным функциональная активность ПЖ была сохранена у 83,3% больных, что совпадает с данными литературы об изменении показателей функциональной активности ПЖ при повреждении 90,0% паренхимы железы (Губергриц Н.Б, 2012, Расе А., 2009).

Проведен анализ диагностических возможностей современных инструментальных методов диагностики ХП и сопоставление полученных данных. По результатам инструментальных методов визуализации определено, что при различных формах заболевания отмечается увеличение ПЖ (59,4% УЗИ, 72,8% КТ), чаще - за счет головки (59,4% УЗИ, 46,6% КТ), изменение ее структуры с деформацией контуров с преобладанием неоднородности и фиброзных включений. У подавляющего большинства больных (67,9% УЗИ) обнаружены нечеткие контуры ПЖ, что характерно при переходе воспалительного процесса на окружающие ПЖ ткани; в 93,9% случаев контуры были неровными, из-за фиброза, без достоверной разницы этого показателя по группам. По данным КТ чаще всего обнаруживали увеличение головки и тела у больных I группы (обструктивная форма ХП), хвоста - III группа (фиброзно-паренхиматозная), а вот на всем протяжении ПЖ была чаще всего увеличена у больных IV группы (ХП, осложненный псевдокистой).

Плотность ПЖ (эхогенность) была повышена более чем у половины больных (68,3%), причем чаще всего - у больных II группы (75,0%), что свидетельствовало о более выраженном фиброзировании паренхимы ПЖ у этих больных. Признаки фиброза в виде линейных структур высокой плотности определялись в 42,4% случаев ХП, но достоверно чаще у больных II группы, достоверно отличаясь от больных I ($\chi^2 = 5,67$, $p = 0,07$) и IV ($\chi^2 = 9,60$, $p = 0,002$) групп, то есть признаки фиброза чаще выявлялись у больных с длительным течением заболевания. В III группе фиброзирование ПЖ по данным УЗИ установлено в 1,4 раза реже, чем во II группе. Большие участки фиброза выявляли в 3,9 раза чаще у больных с длительным течением заболевания, чем при более коротком анамнезе, то есть происходит хронизация процесса с развитием фиброза.

Все методы визуализации обнаружили, что для больных ХП характерно расширение ГПП (60,0% - УЗИ, 55,3% - КТ, 63,9% - ЭРХПГ), которое достоверно чаще по размеру ($p < 0,05$) и по частоте выявления определяли в I и II группах, по сравнению с III ($\chi^2 = 7,04$, $p = 0,008$ и $\chi^2 = 7,02$, $p = 0,008$, соответственно) и IV ($\chi^2 = 19,40$, $p = 1,06 \text{ E-}05$ и $\chi^2 = 22,93$, $p = 1,68 \text{ E-}06$, соответственно), то есть расширение ГПП более характерно для больных с нарушением его проходимости и с более длительным течением заболевания. Причем, для больных IV группы расширение ГПП было наименее характерно ($p < 0,001$) и определялось в тех случаях, когда псевдокиста была расположена в области головки или перешейка ПЖ, граничила с протоком или, когда она имела большие размеры, сдавливая проток. Во II

группе больных выявлено соответствие определения диаметра ГПП по данным УЗИ и ЭРХПГ ($r = 0,75$; $p = 0,006$). Выявлен высокий уровень корреляционных связей параметров определения размеров ПЖ, диаметра ГПП методами УЗИ и КТ ($r = 0,63$, $p = 0,002$ и $r = 0,75$; $p = 0,029$ соответственно). В IV группе больных установлено соответствие данных, полученных при ЭРХПГ, УЗИ и КТ по размерам ГПП ($r = 0,51$; $p = 0,03$ и $r = 0,56$; $p = 0,029$ соответственно). Установлено важное соответствие показателей УЗИ в оценке фиброзных изменений ПЖ и показателей фиброза по данным морфологических исследований. Так, показатель УЗИ, характеризующий участки фиброза паренхимы ПЖ (FS), имел высокий уровень корреляционной связи с выраженностью фиброза по морфологическим данным ($r = 0,91$; $p = 0,03$), показатель плотности паренхимы по УЗИ (g) имел прямую связь с выраженностью атрофии по гистологическим признакам ($r = 0,94$; $p = 0,05$). Кальцификаты паренхимы ПЖ выявляли у 21,1% больных методом УЗИ, у 35,0% - КТ, у 22,0% - ЭРХПГ, кальцинаты протоков - у 33,9% - УЗИ, 9,7% - КТ, 8,4% - ЭРХПГ.

При сонографии у 30,3% больных определялся симптом "полости", что свидетельствовало о наличии псевдокисты. При КТ псевдокисты обнаружены у 50,5% больных, при ЭРХПГ связь псевдокисты с ГПП определена у 16,9% больных IV группы, что имело решающее значение для определения дальнейшей тактики лечения.

Методы визуализации позволили определить степень структурных изменений ПЖ по Марсельско-Кембриджской классификации - легкая степень у 11,5% больных методом УЗИ, у 8,7% - КТ, у 12,1% - ЭРХПГ, средняя - у 22,4% - УЗИ, 18,5% - КТ, 31,3% - ЭРХПГ, тяжелая - у 66,1% - УЗИ, 71,8% - КТ, 56,6% - ЭРХПГ. То есть, установлено, что для больных ХП характерными были тяжелые структурные изменения ПЖ, особенно во II и IV группах ($\chi^2 = 10,21$, $p = 0,001$ и $\chi^2 = 13,0$, $p = 0,0003$ соответственно). Однако в III группе структурные изменения были менее выраженными ($p < 0,05$). При сопоставлении данных КТ (рентгенологической картины) с УЗИ и ЭРХПГ получены следующие результаты: полное совпадение диагнозов было в 64,7% случаев, частичное несовпадение - 28,5%, полное расхождение - 6,8%. Полученные данные подтверждают наибольшую чувствительность в диагностике структурных изменений ПЖ метода КТ. Большое количество корреляционных связей между КТ-показателями, характеризующими структурные изменения ПЖ, и показателями ЭРХПГ и УЗИ свидетельствует о том, что эти инструментальные методы диагностики наиболее информативны при выраженных

структурных изменениях паренхимы и протоков ПЖ, которые происходят при длительном течении заболевания.

Показатели, характеризующие состояние печени и желчевыводящей системы, свидетельствовали об умеренном нарушении оттока желчи с застоем ее в ЖП, повышении внутрипротокового давления и, как следствие - развитии холестаза. Причем, совокупность признаков билиарной гипертензии при кистах головки ПЖ наблюдалась у 66,7% больных, против 26,7% пациентов с локализацией псевдокисты в теле железы. А более выраженные изменения печени определялись у больных III группы ($p < 0,05$), что может быть связано с длительным течением ХП и реактивными изменениями печени.

Суммируя данные, полученные с помощью инструментальных методов визуализации ПЖ (УЗИ, КТ, ЭРХПГ), можно заключить, что для больных I (обструктивная форма ХП), II (кальцифицирующая) и IV (ХП, осложненный псевдокистой) характерны значительные структурные изменения. Для больных III группы (фиброзно-паренхиматозная форма) значительные структурные изменения ПЖ не характерны. Применение УЗИ имеет самую высокую чувствительность и специфичность при кальцифицирующей (93,8% и 85,6%) и кистозной (92,3% и 88,5%) формах ХП, для диагностики других форм ХП необходимо дополнительно применять КТ и, при необходимости, ЭРХПГ.

Проведенные морфологические исследования ПЖ установили 4 степени диффузного или сегментарного фиброза. Легкая (I) степень фиброза ПЖ (у 6,7% больных) и характеризовалась перилобулярным фиброзом, сохранением экзокринной паренхимы и инсул. Степень II (20,0%) характеризовалась умеренным фиброзом сегментов и умеренной атрофией экзокринной части ПЖ. Степень III фиброза определена в 16,7% больных. При этом атрофированную ацинарную паренхиму разделяли широкие фиброзные поля. В некоторых случаях остатки паренхимы лежали между полей жировой ткани. Инсулярная ткань представлена сохраненной эндокринной тканью и тубуло-инсулярными комплексами, как признак вновь воссозданной инсулярной ткани в условиях активной регенерации экзокринной части ПЖ. IV степень фиброза (56,7% больных) характеризовалась полной атрофией части экзокринной ткани и плотным фиброзом ПЖ. Установлено, что фиброзирование ПЖ делилось на рыхлое и плотное, что отражает качественное состояние соединительной ткани при ХП. Рыхлое фиброзирование было типичным для легкой и умеренной степени фиброза, а плотное - для тяжелого фиброза и

полного фиброза. При высокой степени фиброза и тяжелой атрофии ПЖ соединительная ткань окутывала безмиелиновые нервы, наблюдалось расширение протоков, появление в них кальцинатов, а также дисплазия и сквамозная метаплазия эпителия протоков. Это обуславливало прогрессирование панкреатита, появление стойкого болевого синдрома, способствовало развитию предкарциномного состояния железы.

Проведенные морфометрические исследования структурных элементов ПЖ у больных определили, что в процессе развития фиброза при ХП прогрессивно уменьшается объем площади экзокринной ткани, увеличивается площадь протоков и эндокринной ткани. Формирование фиброзной ткани при ХП начинается от протоков и постепенно охватывает междольковое пространство и проникает внутрь частиц ПЖ. По мере прогрессирования фибропластических изменений уменьшается объемная доля экзокринной ткани, в том числе и за счет активации механизмов апоптоза. Замещение ацинарной ткани происходит также за счет жировой дистрофии. Вследствие прогрессирующего фиброза при ХП меняется структура протоковой системы железы, появляются тубулярные комплексы - мелкие пролиферирующие протоки с дисплазией эпителия. Формируются тубуло-островковые комплексы, которые представляют собой структуру из мелких протоков в тесной связи с эндокринными островками.

Иммуногистохимическое определение проапоптотических протеаз ДНК-азы I и эндонуклеазы-G установило их экспрессию в цитоплазме клеток разных частей ПЖ: ДНК-аза I экспрессируется в цитоплазме ацинарных клеток, а эндонуклеаза-G в части инсулярной клеток и в эпителии протоков, что подтверждает существование различных механизмов апоптоза в экзо и эндокринной частях ПЖ. Определен ранней маркер апоптоза - транслокация ДНК-азы I из цитоплазмы в ядро ацинарной клетки. При регенерации ПЖ в условиях ХП, на III и IV стадиях ее фиброза, в экзокринной части формировались тубулярные комплексы. Обязательным элементом этих комплексов были эндокринные клетки, в цитоплазме которых была эндонуклеаза-G.

При изучении иммунного статуса у больных ХП установлена выраженная дисфункция клеточного и гуморального иммунитета. Выявлены нарушения хелперно-цитотоксической функции Т-лимфоцитов. Уменьшение количества Т-лимфоцитов (CD3 +) в сочетании с активацией цитотоксической популяции Т-лимфоцитов (CD8 +), натуральных киллеров (CD16 +) и снижением уровня Т-хелперов (CD4 +) свидетельствует

о наличии цитотоксической агрессии и угнетении защитной функции иммунной системы. Кроме того, дефицит субпопуляции лимфоцитов Т-хелперов (CD4 +) вызывает не только угнетение функции распознавания антигенов, но и нарушает взаимодействие между иммунокомпетентными клетками и цитокинами, которые являются продуктами синтеза Т-хелперов. Увеличение же содержания Т-лимфоцитов с маркером цитотоксических клеток (CD8 +) приводит к нарушению распознавания эндогенных антигенов, источником которых является ПЖ. Повышение количества В-лимфоцитов и ЦИК в период обострения характеризует процесс усиления общей активности гуморального иммунитета, что обусловлено стимулирующим действием аутоантигенов ПЖ и накоплением в крови токсинов. Повышение концентрации иммуноглобулинов в сочетании с увеличением содержания В-клеток обусловлено выраженным хроническим воспалением ткани ПЖ и наличием непостоянства антигенного состава, обуславливает хроническое течение заболевания.

Функциональная активность HLA-DR + лимфоцитов была пониженной, причем наиболее значительно у больных II и III групп, что в сочетании с увеличением популяции натуральных киллеров (CD16 +) является неблагоприятной ситуацией и может способствовать развитию аутоиммунной агрессии. Все эти нарушения, безусловно, ухудшают течение заболевания. По ФРИС, характеризующей клеточный иммунитет, значительные отклонения установлены у больных III и IV групп, а по гуморальному - во II и III группах (табл. 3). При изучении способности клеток крови к продукции цитокинов у больных ХП установлено, что уровень продукции TNF- α , IL-10, TGF- β 1 был достоверно повышенным по отношению к контролю (табл. 4).

Кроме того, анализ цитокинпродуцирующей способности клеток крови у больных ХП в зависимости от формы заболевания установил достоверные различия их продукции. Так, уровень провоспалительных цитокинов (TNF- α) был наивысшим у больных I и IV групп ($p < 0,001$), что может свидетельствовать о более выраженной интенсивности воспалительного процесса у больных обструктивным ХП и ХП, осложнений псевдокистой.

Таблица 3 – Формула расстройств иммунной системы у обследованных групп больных

Группы больных	ФРИС	
	клеточный иммунитет	гуморальный иммунитет
I группа	CD3 ₂ ⁻ , CD4 ₂ ⁻ CD8 ₁ ⁺	ЦИК ₂ ⁺ , IgG ₂ ⁺ , IgA ₁ ⁺
II группа	CD4 ₂ ⁻ , CD3 ₂ ⁻ , CD8 ₁ ⁺	ЦИК ₂ ⁺ , IgG ₃ ⁺ , IgA ₂ ⁺
III группа	CD4 ₂ ⁻ , CD3 ₂ ⁻ , CD4/CD8 ₂ ⁻	CD19 ₃ ⁺ , ЦИК ₃ ⁺ , IgG ₂ ⁺
IV группа	CD4 ₂ ⁻ , CD3 ₂ ⁻ , CD4/CD8 ₂ ⁻	CD19 ₃ ⁺ , ЦИК ₂ ⁺ , IgG ₁ ⁺

Примечания:

1. (+) - гиперфункция;
2. (-) - иммунная недостаточность
3. (2, 3) - степень иммунных расстройств

Уровень маркера фиброзных процессов TGF-β1 был достоверно выше во II и III группах больных, что свидетельствует о высоком потенциале фиброзирования паренхимы ПЖ пациентов этих групп ($p < 0,001$).

Таблица 4 – Характеристика уровня медиаторов воспаления и маркеров фиброгенеза у больных ХП

Группа	TNF-α, пг/мл	IL-10, пг/мл	TGF-β1, нг/мл
I (n=9)	197,33±2,21*	31,32±0,32*	23,50±0,64*£
II (n=37)	174,34±12,16* ⁺	30,41±0,41*	29,06±0,55*
III (n=32)	178,78±1,88* ¹	31,67±0,68*	27,62±0,56*
IV (n=17)	194,44±2,62*	42,08±0,94*#	21,16±0,67*£
всего (n=95)	185,84±2,61*	33,01±0,54*	26,50±0,44*
контроль (n=20)	22,00±0,81	28,60±1,83	3,46±0,07

Примечания:

1. * - достоверность различий ($p < 0,001$) показателей больных с контролем;
2. + - достоверность различий ($p < 0,001$) показателей II группы с I, IV;
3. 1 - достоверность различий ($p < 0,05$) показателей III группы с I, IV;
4. £ - достоверность различий ($p < 0,001$) показателей I и IV групп с II, III;
5. # - достоверность различий ($p < 0,001$) показателей IV группы с II.

Таким образом, анализ результатов исследования способности клеток крови к продукции цитокинов у больных ХП позволяет утверждать, что дисбаланс цитокиновой системы с высоким уровнем фиброзных процессов наиболее выражен при кальцифицирующей и фиброзно-паренхиматозной формах ХП. У всех больных ХП мы

наблюдаем нарушение регуляторной, пролиферативной и активационной функций системы иммунитета, что приводит к разладу в цитокиновом звене иммунитета и, как следствие, углублению воспалительного и фиброзного процесса.

Для всех больных ХП характерно значительное повышение уровня литостатина (REG-1 α) в 8,7 раз и лактоферрина в 18,7 раз. По соотношению между маркерами камнеобразования REG-1 α / лактоферрин (коэффициент кальцификации) установлено наименьшее его значение в I и II группах (0,2), в которых обнаружены кальцинаты протоков / кальцификаты паренхимы. В III группе больных коэффициент кальцификации составлял 0,9, то есть приближался до 1,0, что может быть показателем вероятности камнеобразования. А в IV группе больных значение коэффициента было 2,0, то есть вероятность камнеобразования у пациентов этой группы низкая.

При определении соотношений между маркерами камнеобразования и фиброзирования установлено, что по коэффициенту REG-1 α / TGF- β 1 о наличии камней свидетельствуют значения его ниже, чем 1,0. Причем, более высокие его значения у больных I группы (от 0,6 до 1,0) могут указывать на наличие кальцинатов в ГПП, а ниже 0,6, установленные у пациентов II группы - на кальцификаты паренхимы. При значениях этого коэффициента незначительно превышающих 1,0 (III группа - 1,2) кальцификатов и кальцинатов не установлено, но высока вероятность их образования. У больных IV группы, у которых коэффициент составляет 2,0, вероятность кальцификации и образования кальцинатов в протоках низкая.

Установлен разный уровень рецептора апоптоза CD95 + при различных формах ХП: у больных I и IV групп уровень его не отличался от контроля, во II и III группах - содержание его был достоверно сниженным ($p < 0,01$). При угнетении апоптоза генетически поврежденным клеткам предоставляется возможность пролиферации, что ведет к гиперплазии, а затем к опухолевой трансформации.

Анализ корреляционных связей подтвердил значимость нарушений иммунной системы в развитии и течении ХП. Так, во всех группах больных установлена связь между показателями инструментальных методов визуализации структурных изменений ПЖ (УЗИ, КТ, ЭРХПГ) и показателями иммунной системы. Так при кальцифицирующем ХП подтверждено участие противовоспалительных цитокинов (IL-10) и лактоферрина в развитии кальцификатов паренхимы ПЖ по данным УЗИ ($r = -0,82$; $p = 0,005$ и $r = 0,59$; $p =$

0,044 соответственно). Прямой связью увеличения размеров ПЖ по данным КТ с индексом иммунорегуляции CD4 + / CD8 + ($r = 0,71$; $p = 0,029$), уровнем ЦИК ($r = 0,71$; $p = 0,032$), увеличением тяжести структурных изменений ПЖ по Кембриджской классификации и уровнем противовоспалительного цитокина IL-10 ($r = 0,87$; $p = 0,005$) подтверждена связь иммунной системы с развитием и течением заболевания. Множественные корреляционные связи между структурными изменениями ПЖ по данным ЭРХПГ и показателями иммунитета - REG-1 α ($r = -0,94$; $p = 0,05$), CD3 + ($r = 0,79$; $p = 0,001$), CD8 + ($r = 0,80$; $p = 0,001$), CD4 + ($r = 0,82$, $p = 0,03$) также свидетельствовали о важной роли иммунной системы в развитии и течении ХП. Множество корреляционных связей определено между показателями иммунной системы и биохимическими маркерами фиброзирования (ОП_{бсв} - $r = 0,63$, $p = 0,002$, ГА - $r = 0,71$, $p = 0,007$), эндогенной интоксикации (МСМ - $r = 0,84$; $p = 0,001$), ПОЛ-АОЗ ($r = 0,68$, $p = 0,001$), холестаза ($r = 0,76$, $p = 0,0001$), метаболических нарушений (Са - $r = 0,95$; $p = 0,0008$), что подтверждало взаимовлияние иммунных факторов, показателей оксидативного стресса, нарушений билиарного тракта в развитии и течении ХП.

О значении иммунной системы в развитии камней паренхимы / протоков ПЖ свидетельствует обратная связь увеличения размеров ПЖ по данным КТ с уровнем литостатина (REG-1 α - $r = -0,74$; $p = 0,054$) и прямая - с содержанием CD4 + ($r = 0,54$; $p = 0,03$). Установлена связь между показателями выраженности атрофии, фиброза и активности воспаления по данным морфологического исследования с уровнем НСТ-положительных нейтрофилов ($r = 0,68$, $p = 0,02$, $r = 0,71$, $p = 0,04$, $r = 0,79$; $p = 0,05$ соответственно). Усиление выраженности эндогенной интоксикации (МСМ) также имело связь с нарушениями в системе иммунитета - CD3 + ($r = -0,58$; $p = 0,003$). Нарушение обмена липидов также негативно отражалось на состоянии иммунной системы, что подтверждалось связью уровня общих липидов и триглицеридов с уровнем TGF- β 1 ($r = 0,62$; $p = 0,002$ и $r = 0,58$; $p = 0,004$, соответственно) и лактоферрина ($r = 0,55$; $p = 0,003$ и $r = 0,53$; $p = 0,006$ соответственно). Наибольшее количество корреляционных связей показателей системы иммунитета у больных установлено с морфологическими показателями: выраженность атрофии имела связь с CD16 + ($r = -0,82$; $p = 0,008$), CD4 + ($r = -0,87$; $p = 0,01$), количеством лимфоцитов ($r = -0,89$; $p = 0,04$), выраженность фиброза имела прямую связь с уровнем лактоферрина и цитотоксических CD8 + лимфоцитов ($r =$

0,81; $p = 0,02$), выраженность воспаления - с нарушением соотношения CD3 + / CD19 + ($r = 0,71$; $p = 0,003$), уровнем противовоспалительного интерлейкина IL-10 ($r = 0,74$; $p = 0,02$) и CD16 + ($r = 0,78$; $p = 0,03$). В развитии псевдокист также имело значение нарушения индекса CD3 + / CD19 + ($r = 0,68$; $p = 0,002$), а при увеличении размера псевдокисты по данным КТ, отмечалось повышение уровня противовоспалительного цитокина IL-10 ($r = 0,62$; $p = 0,05$).

Активации цитокинового каскада способствует также повышенная проницаемость кишечной стенки для грамотрицательных бактерий (в большей мере кишечной палочки), бактероидов и их эндотоксина - специфического липополисахарида. Проведенными микробиологическими исследованиями желудочного содержимого и содержимого панкреатического протока установлено, что при всех формах ХП отмечается контаминация желудочного и протокового содержимого микроорганизмами, но наибольшая выраженность ее отмечается у больных II и IV групп (> 105 КОЕ / мл). У всех больных исследованных групп повышенный уровень микроорганизмов в содержимом желудка совпадал с гипохлоргидрией. В 76,2% случаев в образцах содержимого панкреатического протока обнаружили бактериальное заселение. Монокультура наблюдалась в 43,7% случаях, ассоциация аэробных и анаэробных бактерий - в 56,3%. Идентификация выделенных культур показала, что доминирующими по частоте выявления были грамотрицательные палочки семейства Enterobacteriaceae (62,5%), которые принадлежали к следующим родам: Klebsiella (60,0%), Enterobacter (20,0%) и Escherichia (E. coli) (20,0%). Грамотрицательные палочки в содержимом ГПП наблюдали, как в виде монокультуры, так и в ассоциации с анаэробными микроорганизмами (Bacteroides, Peptostreptococcus, Veilonella). Концентрация микроорганизмов колебалась от 103 до 106 КОЕ / мл.

Липополисахарид бактерий оказывает прямое повреждающее действие на ацинарные клетки, увеличивает эндотоксемию, дисбаланс между про- и противовоспалительными цитокинами, участвует в активации ПОЛ и апоптоза, активирует звездчатые клетки, липоциты, фактор роста TGF- β 1. Согласно данным исследователей (Фаизова Л.П., 2004, Pezzilli R., 2009, Yakshe P., 2005) это приводит к увеличению альтерации паренхимы ПЖ, системных проявлений панкреатита, а в перспективе - к усилению продукции коллагена и фиброзированию ПЖ.

При изучении биохимических показателей установлено, что развитие ХП с фиброзированием паренхимы ПЖ обусловлено не только высокой активностью воспалительных процессов, нарастанием эндогенной интоксикации, но и нарушением механизмов защиты в результате активации процессов ПОЛ, развития оксидативного стресса, что приводит к повреждению паренхимы и протокового эпителия ПЖ. При изучении биохимических показателей, имеющих значение в развитии синдрома эндогенной интоксикации при ХП, у подавляющего большинства больных (67,8%) установлен синдром эндогенной интоксикации (МСМ) независимо от формы заболевания. Повышенным был уровень СРБ (59,3% больных), что свидетельствовало о наличии воспалительного процесса и эндогенной интоксикации. Установлена зависимость наличия и выраженности воспаления от формы ХП: при обструктивном ХП (I группа) СРБ выявляли у 100,0% и был высокого уровня у 33,3% больных, в других группах - выявляли более чем у половины больных (II - 52,9%, III - 60,0%, IV - 57,1%).

Участие в патогенезе ХП синдрома эндогенной интоксикации подтверждается положительной корреляцией МСМ с активностью α -амилазы в сыворотке крови ($r = 0,59$; $p < 0,03$). Отмечен высокий уровень связи уровня МСМ и СРБ - ($r = 0,67$; $p < 0,001$), что показывает их значимость в развитии и прогрессировании ХП.

Об активном фиброзировании паренхимы ПЖ и нарушении транспорта Са свидетельствовало достоверное снижение его содержания у всех больных ($p < 0,0001$), причем чаще у пациентов II группы (у 61,2%, $\chi^2 = 0,63$, $p = 0,43$), что кроме того может свидетельствовать об участии его в камнеобразовании. У небольшой части больных (8,9%) гипокальциемия возникла вследствие уменьшения уровня белка в плазме крови (гипопротеинемическая гипокальциемия). В группах больных снижение уровня белка и Са плазмы крови выявлено: в I группе - в 18,2% случаев, во II - 9,7%, в III - 7,3%, в IV - 6,9%. О нарушении транспорта меди свидетельствовало повышение ее уровня в 1,4 раза ($p < 0,001$), причем в I и IV группах это выявлялось в 2 раза чаще, чем во II и III. Изменения содержания микроэлементов в крови могут также свидетельствовать о трофологической недостаточности у больных ХП.

Достоверное повышение у подавляющего большинства больных (81,6%) уровня ОП_{бсв} свидетельствовало об активации процесса образования соединительной ткани. Повышение у 51,0% пациентов содержания ГА в крови характеризовало усиление распада

компонентов соединительной ткани. Концентрация ГК была повышенной в 2,3 раза у большинства (75,0%) больных ХП ($p < 0,02$): у 100% больных II группы, тогда как в I и III - в 75,0%, а в IV - в 60,0% случаев ($p < 0,05$). Повышение содержания ОП_{бсв}, ГА и ГК не имело достоверной разницы по группам как по уровню, так и по частоте обнаружения. Между биохимическими показателями ГК / ГА и ГК / ЦП выявлена положительная корреляционная связь ($r = 0,54$; $p < 0,05$) и ($r = 0,58$; $p < 0,05$) соответственно.

Практически у всех больных ХП (90,0%) установлена активация ПОЛ, чаще у больных I и II групп (по МДА - 72,7% и 67,7%, ИДСα - 80,0% и 70,6%, ДКα - 80,0% и 94,3%, ОДКβ - 40,0% и 83,3%, соответственно), (табл. 5). Причем у 97,4% больных ХП отмечался дисбаланс между накоплением первичных продуктов ПОЛ и значительно ускоренным распадом продуктов их трансформации в диальдегидные продукты (МДА). То есть, у пациентов с ХП наблюдается интенсификация ПОЛ, что способствует образованию вторичных продуктов ПОЛ, которые инактивируют катионные помпы, каналы и ионные проводимости, мембранные белки, ферменты.

У больных выявлено напряжение ферментативной системы АОЗ, что, вероятно, носило компенсаторный характер в ответ на чрезмерную генерацию активных форм кислорода и выраженную интенсификацию свободнорадикального ПОЛ. Оценивая в целом содержание показателей системы ПОЛ - АОЗ у обследованных больных выявлено усиление липопероксидации на фоне компенсированных изменений активности ферментов АОЗ - СОД и ЦП и декомпенсированных изменений активности КА. Надо отметить, что усиление липопероксидации приводило к накоплению вторичного продукта ПОЛ - МДА и конечных продуктов - ШО, уровень повышения которых у больных всех групп был почти одинаковым.

Таким образом, для больных различными формами ХП характерно увеличение уровня биохимических показателей эндотоксемии (значительное увеличение уровня МСМ ($p < 0,001$)), воспаления (у 20,0% больных ХП - воспалительный процесс, у 53,3% - активный воспалительный процесс), фиброза (значительно возрастал уровень ОП_{бсв} ($p < 0,001$), ГК ($p < 0,02$) и ГА ($p < 0,001$)), холестаза (увеличение в сыворотке крови уровня Х-ЛП ($p < 0,001$) и ЖК), липидного обмена (уменьшении уровня общих липидов ($p < 0,01$) в результате нарушения процессов пищеварения и всасывания жиров в организме больных).

Таблица 5 – Биохимические показатели сыворотки крови, характеризующих ПОЛ у больных хроническим панкреатитом
(M ± m)

Биохимический показатель		I группа (n=12)	II группа (n=33)	III группа (n=42)	IV группа (n=33)	Всего (n=120)	Контроль (n=20)
МДА, нмоль/мл		2,72±0,23*	2,83±0,18*	2,82±0,12*	2,87±0,19*	2,82±0,09*	2,07±0,13
ДК, отн.ед./мл	α	0,74±0,12	0,65±0,06	0,69±0,04	0,68±0,05	0,68±0,03	0,67 ± 0,03
	β	1,95±0,23	1,63±0,08	1,76±0,07 ⁺	1,91±0,12 ⁺	1,78±0,05 ⁺	1,53 ± 0,08
ОДК, отн.ед./мл	α	0±0	0,03±0,02	0,07±0,02 ⁺¹	0,07±0,02 ⁺	0,05±0,01 ⁺	0
	β	0,79±0,12	0,76±0,06	0,88±0,06	1,1±0,13 ⁺	0,90±0,05	0,80 ± 0,05
ИПЗ, отн.ед./мл	α	1,15±0,15	1,00±0,10	1,05±0,05	1,07±0,07	1,05±0,04	0,99 ± 0,04
	β	3,41±0,37	2,89±0,11 ⁺	3,19±0,08	3,29±0,15	3,15±0,06	3,12 ± 0,12
ШО, отн.ед./мл	α	0±0	0,008±0,008	0,005±0,005	0±0	0,005±0,003	0
	β	0,29±0,08	0,34±0,04	0,43±0,04	0,36±0,04	0,38±0,02	0

Примечания:

1. α – гептановая фаза;

2. β – изопропанольная фаза;

3. * – статистически значимая ($p < 0,001$) разница между показателями у больных по сравнению со здоровыми людьми;

4. + – статистически значимая ($p < 0,05$) разница между показателями по сравнению со здоровыми людьми;

5. ¹ – статистически значимая ($p < 0,05$) разница между показателями больных I и III групп

Анализ корреляционных показателей у больных ХП позволил подтвердить значение эндогенной интоксикации, оксидативного стресса в прогрессировании заболевания. От уровня эндогенной интоксикации - МСМ ($r = 0,78$; $p = 0,01$), метаболических изменений Са ($r = 0,73$; $p = 0,028$), Х-ЛП ($r = 0,76$; $p = 0,03$) и нарушений АОЗ - СОД ($r = 0,77$; $p = 0,04$) и перекисного окисления липидов - МДА ($r = 0,62$; $p = 0,032$) зависели значительные структурные изменения ПЖ, которые выявлялись при ЭРХПГ, УЗИ, КТ и приводили к снижению функциональной способности ПЖ (ГНв - $r = 0,59$; $p = 0,02$, $r = 0,62$; $p = 0,03$; $r = 0,70$, $p = 0,03$ соответственно). Установлены также прямые корреляционные связи показателей, полученных по данным КТ (степень поражения по Кембриджской классификации) с показателями ПОЛ-АОЗ (МДА - $r = 0,58$, $p = 0,006$, коэффициент ЦП / МДА - $r = 0,73$; $p = 0,004$). Подтверждено значение в развитии холестаза (по содержанию ЩФ) увеличения размеров ПЖ по данным КТ ($r = 0,97$, $p = 0,004$), наличия псевдокист ($r = 0,87$, $p = 0,051$). Наличие стриктуры ГПП (по данным ЭРХПГ) отмечено при изменении коэффициента ЦП / МДА, характеризующего состояние системы ПОЛ-АОЗ (МДА - $r = 0,58$, $p = 0,006$, коэффициент ЦП / МДА - $r = 0,73$; $p = 0,004$), то есть подтверждается значение оксидативного стресса в развитии структурных изменений ПЖ. Выраженность хронического воспаления увеличивалась при повышении уровня ГА ($r = 0,89$; $p = 0,04$), МСМ ($r = 0,78$; $p = 0,04$) и ЦП ($r = 0,89$; $p = 0,04$) и снижении Са ($r = -0,56$; $p = 0,03$), в то время как активность воспаления имела прямую корреляционную связь с МДА ($r = 0,62$; $p = 0,04$) и подтверждалась высоким уровнем СРБ ($r = 0,75$; $p = 0,05$). У больных кальцифицирующим ХП установлена связь развития кальцинатов ПЖ с повышением уровня МДА ($r = 0,79$; $p = 0,003$), Х-ЛП ($r = 0,99$; $p = 0,0003$), ГА ($r = 0,77$; $p = 0,027$), ЖК ($r = 0,55$; $p = 0,031$) и других метаболитов, которые осуществляют токсическое воздействие на паренхиму ПЖ и стимулируют воспаление, фиброз и образования кальцинатов. Показано, что с нарастанием фиброза (по уровню ГК) увеличивается частота выявления кальцинатов ($r = 0,95$; $p = 0,05$). У больных ХП, осложненным образованием псевдокисты (IV группа) показано, что развитие заболевания (по данным УЗИ) прогрессирует со снижением уровня АОЗ - СОД ($r = -0,54$; $p = 0,017$), уровнем Си ($r = 0,53$; $p = 0,04$), повышением эндогенной интоксикации - МСМ ($r = 0,51$; $p = 0,04$), уровня липидов ($r = 0,64$; $p = 0,04$), ОП_{бсв}. ($r = 0,90$; $p = 0,037$), Са ($r = 0,81$; $p = 0,049$). Так, у больных ХП активируется ПОЛ, накапливаются его продукты, происходит депрессия АОЗ, что, в свою

очередь способствует увеличению протеазно-ингибиторного дисбаланса, нарастанию эндогенной интоксикации, включаясь в «порочный круг» патогенеза панкреатита.

В результате факторного и корреляционного анализа полученных данных сформулированы основные патогенетические звенья различных форм ХП (схема 7.1-7.4).

Для изучения основных морфологических и биологических изменений ПЖ при развитии ХП нами были проведены экспериментальные исследования с использованием двух моделей ХП: первая - разработанная нами экспериментальная модель ХП, который развивался в результате блокирования NO-синтазы и вторая (обтурационная) модель ХП, в которой применялся известный способ - перевязка ГПП лигатурой. Суммируя данные, полученные при экспериментальных исследованиях, можно отметить, что в результате длительного (12 суток) интраперитонеального введения крысам в субмаксимальных дозах неселективного блокатора NO-синтазы – NG-нитро-L-аргинина у крыс развивался ХП со стазом форменных элементов крови в сосудах, очаговым накоплением лейкоцитов в паренхиме ПЖ. В некоторых дольках развивалась дистрофия ацинарных клеток. В ряде случаев после 6-дневного введения ингибитора в зоне атрофии ацинарной ткани развивался нежный фиброз, обусловленный воспалительным процессом, а после 12-суток - выраженные признаки фиброзирования паренхимы ПЖ. Длительное введение ингибитора NOs - L-NNA вызвало активацию ПОЛ, нарастание концентрации токсических продуктов, нарушение экскреторной функции ПЖ, что проявлялось фазовыми изменениями ферментов белкового и углеводного обмена, постепенным нарастанием концентрации маркера фиброзирования паренхимы ПЖ - ОП_{бсв}.

Итак, при использовании у крыс неспецифического блокатора NO-синтазы NG-нитро-L-аргинина в ткани поджелудочной железы крыс формируются морфологические изменения, характерные для воспаления с хронизацией патологического процесса, фиброзированием паренхимы ПЖ в зонах ее атрофии и отмечается активация внешнесекреторной функции ПЖ.

Таким образом, длительное введение ингибитора NOs - L-NNA вызвало активацию ПОЛ, нарастание концентрации токсических продуктов, нарушение экскреторной функции ПЖ, проявлялось фазовыми изменениями ферментов белкового и углеводного обменов, постепенным нарастанием концентрации маркера фиброзирования паренхимы ПЖ - ОП_{бсв}.

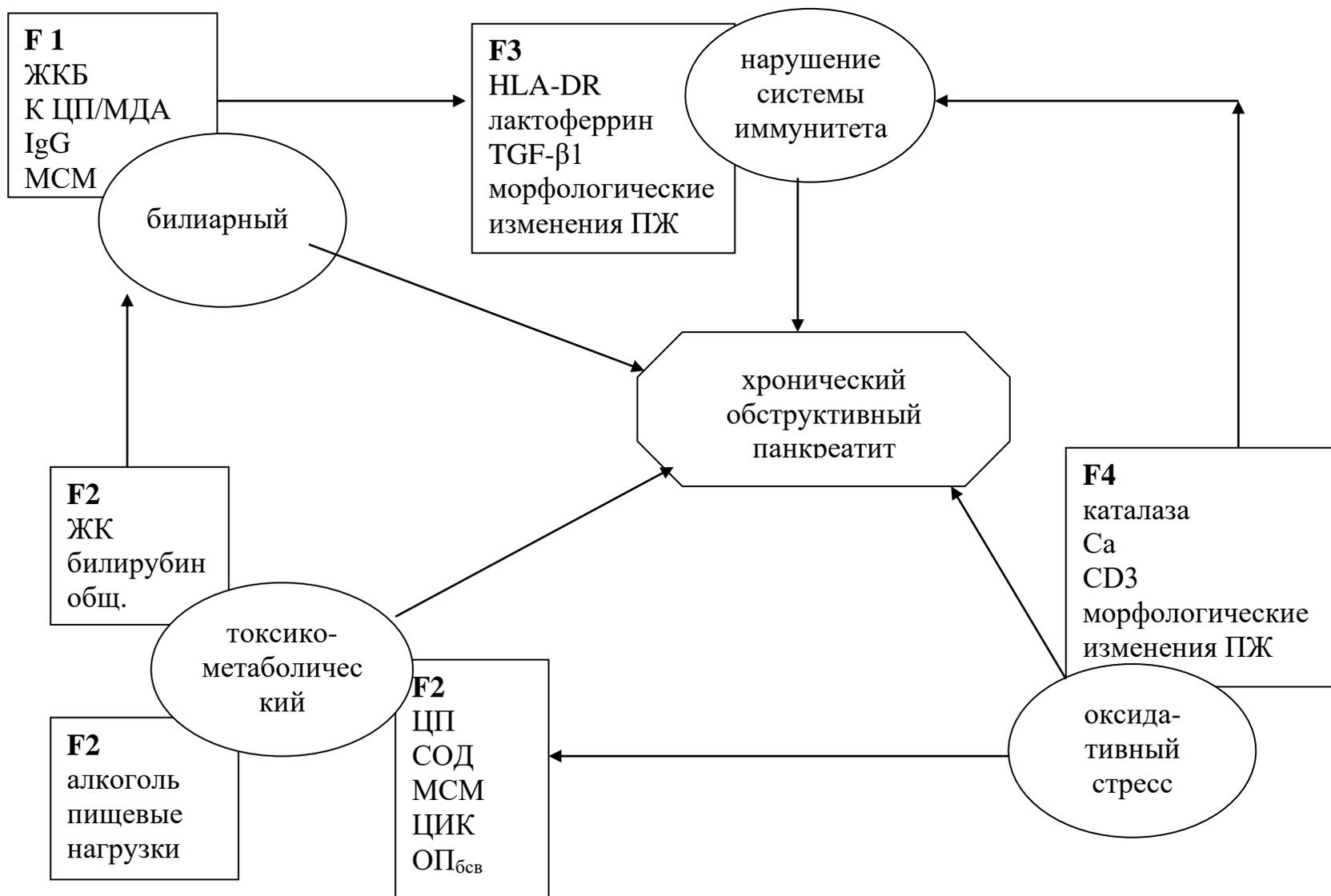


Схема 7.1. Патогенез обструктивного хронического панкреатита

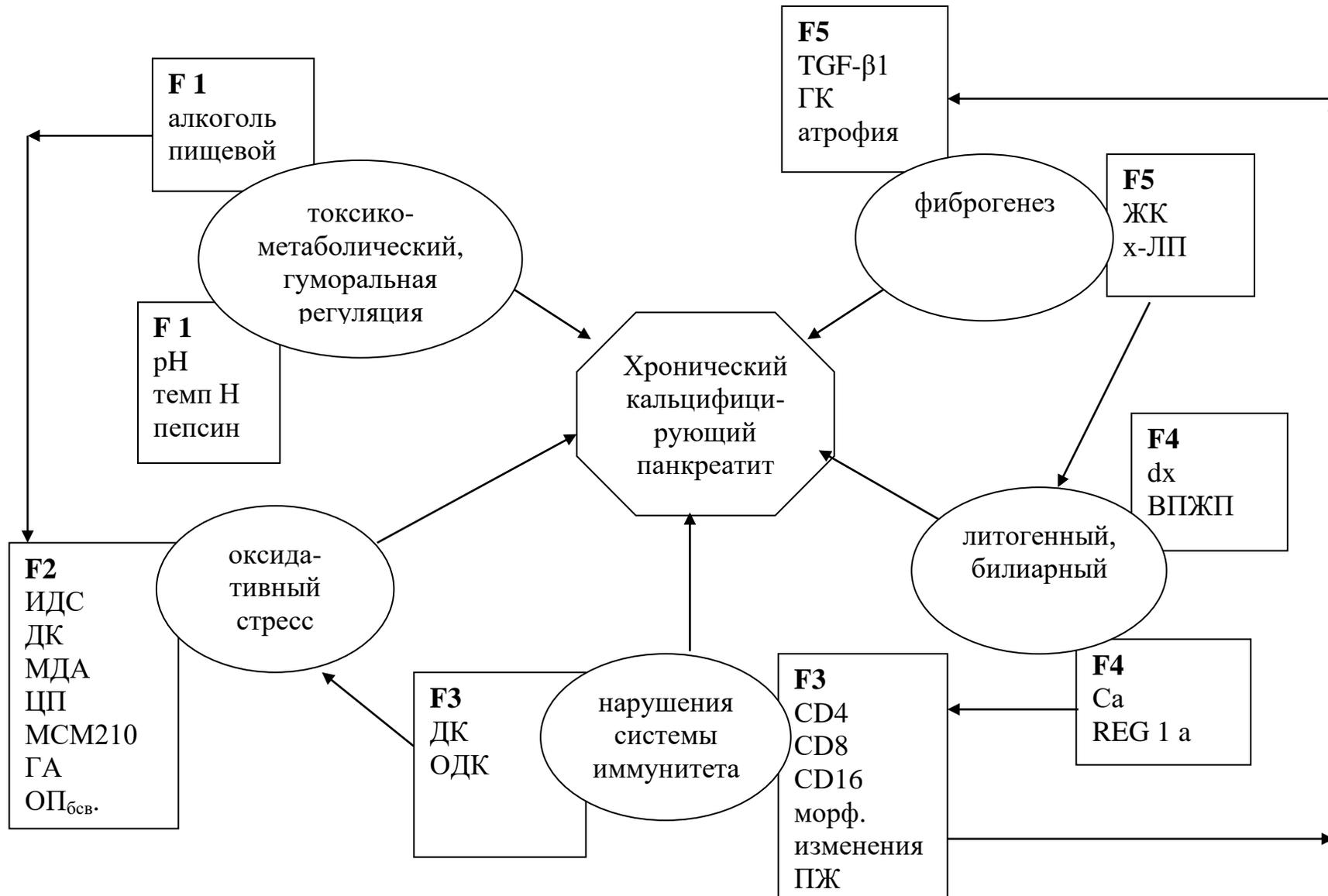


Схема 7.2. Патогенез кальцифицирующего хронического панкреатита

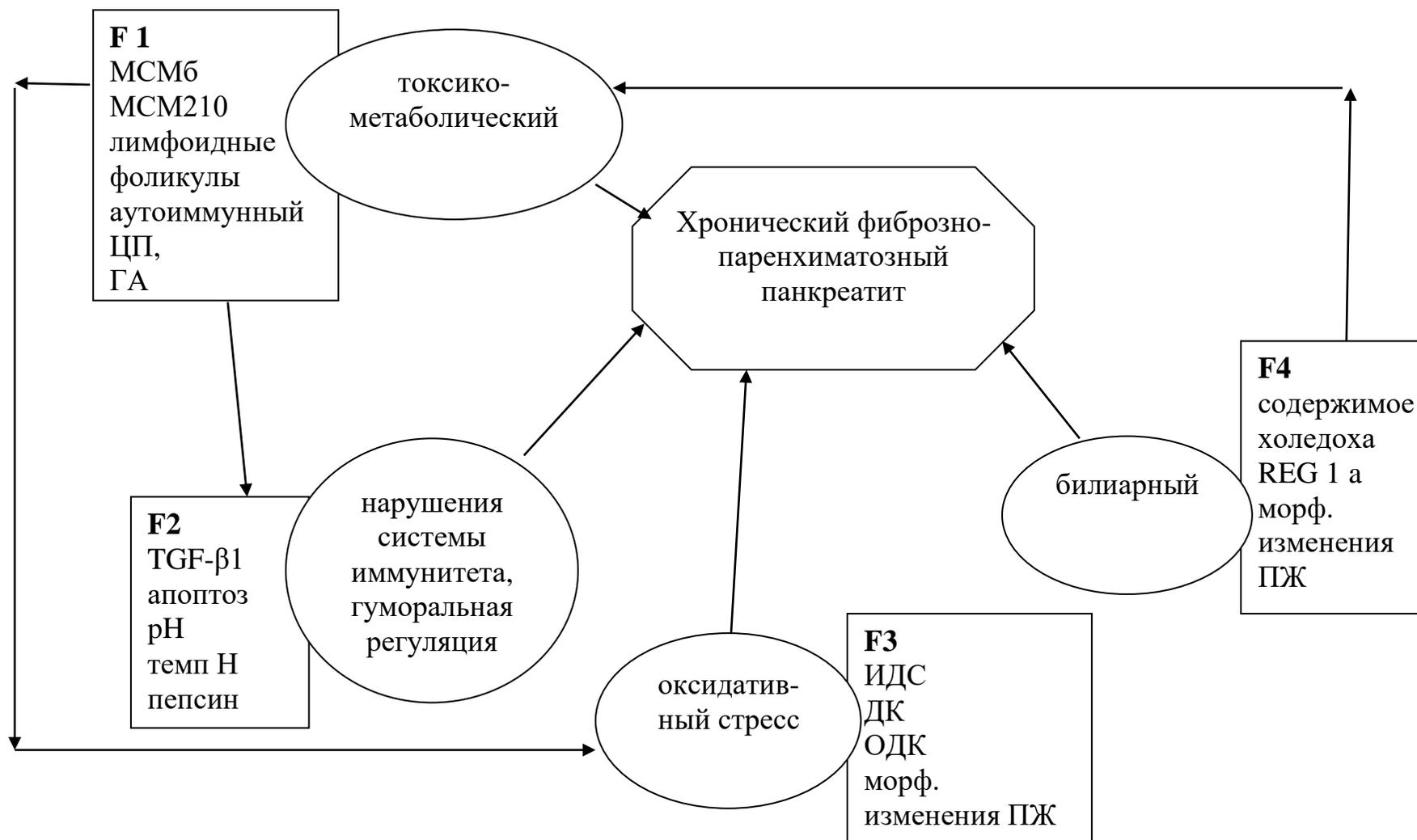


Схема 7.3. Патогенез фиброзно-паренхиматозного хронического панкреатита

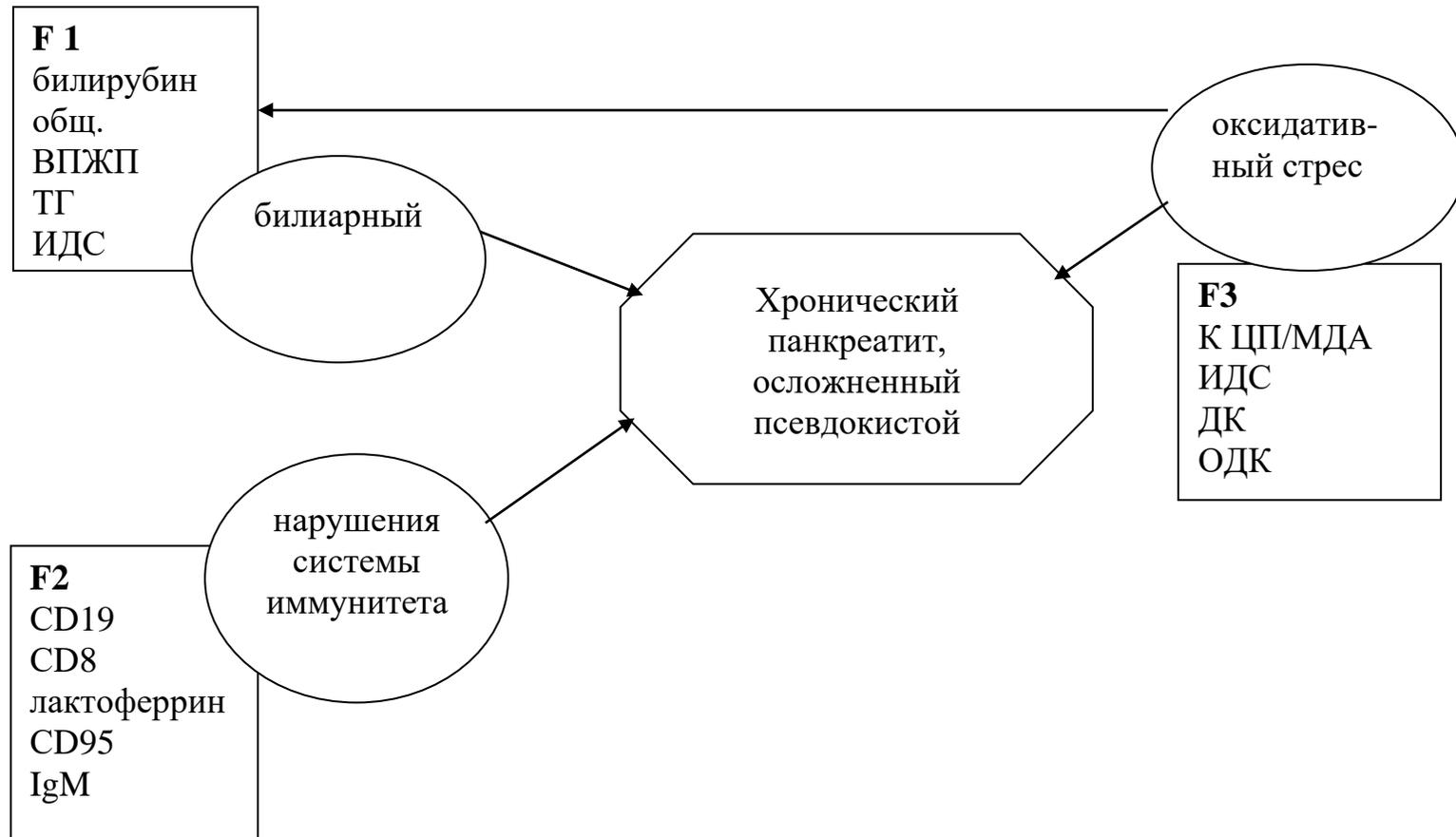


Схема 7.4. Патогенез хронического панкреатита, осложненного псевдокистой

На экспериментальных моделях ХП было изучено цитопротекторное действие глутаргина и показано, что введение глутаргина приводит к нормализации содержания МДА в крови и возвращению к границам физиологической нормы содержания маркеров метаболизма коллагена (ОП_{бсв} и оксипролин свободный). Доказано, что глутаргин способствует снижению уровня продуктов перекисного окисления липидов, улучшает состояние системы антиоксидантной защиты и способствует нормализации метаболизма коллагена, что послужило основанием для включения глутаргина в комплексное лечение больных ХП.

На основании проведенных исследований и данных факторного анализа усовершенствованы диагностический (схема 7.5) и лечебный алгоритмы для больных ХП с определением основных путей терапевтической стратегии больных с учетом формы ХП. Лечение включало: немедикаментозное (модификация образа жизни, отказ от алкоголя и табака, диета), медикаментозное, эндоскопическое и хирургическое.

Определена группа больных с постоянным и интермиттирующим болевым синдромом вследствие обструкции на различных уровнях протоковой системы ПЖ, с развитием осложнений, которые не могли быть устранены консервативными методами и подлежали оперативному лечению. При обструктивном ХП лечение больных направлено на устранение причины обструкции, что достигается только хирургическими методами. Нуждаются в лечении в хирургическом отделении также пациенты с ХП, осложненным образованием псевдокисты, которым на первом этапе лечения проводилась гастро / дуоденоцистостомия или чрескожная пункция псевдокисты, а дальше выполнялось оперативное вмешательство. Оперативное лечение было направлено на улучшение оттока панкреатического сока из протока или на резекцию пораженного органа.

Тактика консервативного лечения пациентов с ХП представляла собой применение хорошо отработанной базовой комплексной терапии, целью которой было лечение обострения заболевания, хронического болевого синдрома, экзокринной / эндокринной недостаточности ПЖ, коррекции обменных нарушений и осложнений. Применялись анальгетики, нестероидные противовоспалительные препараты, ферментные препараты, М-холинолитики, антациды, среднепочечные триглицериды. Для обеспечения анальгезирующего действия ферментных препаратов, «функционального покоя» ПЖ и для уменьшения инактивации ферментов под действием желудочного сока назначали Н₂-блокаторы рецепторов гистамина или блокаторы протонной помпы.

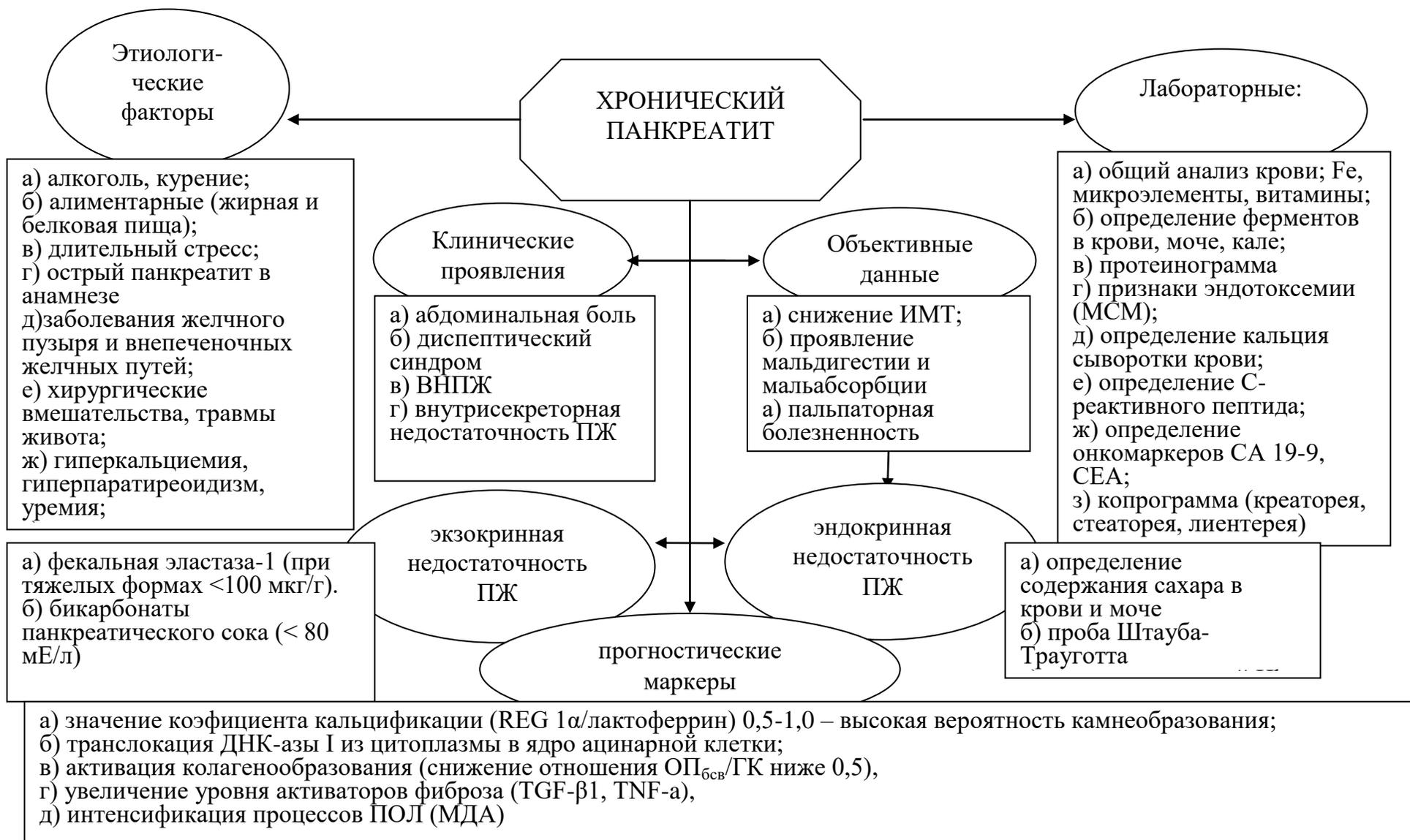


Схема 7.5 – Алгоритм диагностики клиничко-морфологических форм хронического панкреатита

У больных гиперферментным ХП для создания функционального покоя ПЖ, коррекции ферментно-ингибиторного дисбаланса назначали блокаторы панкреатической секреции (соматостатин, даларгин). У пациентов с проявлениями эндокринной недостаточности ПЖ ограничивали употребление углеводов, назначали инсулин (при необходимости). Кроме базисной терапии применялось лечение, которое было направлено на нормализацию нарушений иммунной системы, ликвидацию оксидативного стресса, торможение фиброзных процессов.

С целью иммунокоррекции, повышение адаптационного потенциала организма, снижение уровня провоспалительных цитокинов и цитокинов, отвечающих за фиброзирование паренхимы ПЖ, больным ХП дополнительно к основному лечению назначали аутоцитокинотерапию по разработанной нами схеме. В случае невозможности ее проведения больным необходимо назначить средства, которые обладают иммуномодулирующим действием (нуклеинат натрия, пентоксил). Для нормализации состояния системы ПОЛ-АОЗ и в конечном счете как антифиброзный агент, применяли глутаргин, жирорастворимые витамины и микроэлементы. Кроме того, для купирования болевого синдрома назначали вихревое импульсное магнитное поле (ВИМП) с влиянием на проекцию ПЖ и БАТ по 5-15 минут курсом 10-15 сеансов.

Анализ результатов использования данных методов лечения у 34 больных позволил установить его клиническую эффективность, в частности, хорошие и удовлетворительные результаты в основной (I, n=34) группе больных составили 94,1% и в 1,2 раза были выше (II, n=25) группы сравнения (76,0%).

У пациентов I группы после комплексного лечения с применением аутоцитокинов, глутаргина и ВИМП отмечено, что после лечения не происходило полного восстановления состояния иммунной системы, что показывает важное значение ее в хронизации и прогрессировании ХП. В то же время показатель TGF- β 1, который свидетельствует о развитии фиброзных процессов, имеет важное значение в активации звездчатых клеток ПЖ, продуцирующих экстрацеллюлярный матрикс и отвечающих за фиброзирование паренхимы железы, достоверно снижался ($p < 0,05$), а уровень цитокинов, активирующих процессы фиброза - IL-10, TNF- β 1 - имел тенденцию к снижению ($p > 0,05$) (табл. 6).

Кроме того, отмечалась нормализация активности амилазы, липазы, трипсина и фосфолипазы А по сравнению с аналогичными показателями до лечения (табл. 7).

Таблица 6 – Изменения уровня показателей пусковых механизмов патологии при хроническом панкреатите у обследованных больных после лечения

Показатель	До лечения (n=12)	После лечения (n=12)	Норма
IL-10, пг/мл	30,57±1,47	29,36±0,87	28,6±1,83
TNF-α, пг/мл	302,43±117,64	177,89±110,51	2,20±0,81
лактоферин, нг/мл	17458,35±846,91	7167,68±1599,15**	653,57±11,89
литостатин (REG-1α, пг/мл)	2143,17±87,29	1179,83±99,51**	185,0±23,0
TGF-β1, нг/мл	39,34±8,05	22,12±3,37*	3,46±0,07
эластаза кала, мкг/г	156,5±12,73	198,6±11,39*	200

Примечание. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,001$ - достоверность различий до и после лечения

Установлено снижение выраженности эндотоксемии (МСМ), фиброза (ГА и ОП_{бсв}), но эти показатели после лечения оставались выше показателей контрольной группы.

Таблица 7 – Динамика изменений показателей ферментативной активности и содержания ГНб у больных

Показатель	Группа контролю (n=20)	I группа (n=34)		II группа (n=25)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
		M±m	M±m	M±m	M±m
α-Амилаза, мг/с·л	6,10±0,37	15,56±1,81***	8,74±2,16•	16,44±2,76***	11,90±3,97
липаза, нмоль/с·л	1,07±0,05	1,44±0,11***	1,36±0,11*	1,38±0,08***	1,30±0,09*
трипсин, мкМ/мл·хв	2,50±0,27	8,60±0,66***	7,08±0,88***	8,81±0,71***	7,87±1,31***
ГНб, мкм фру/г Нб	5,25±0,28	6,52±0,84	7,17±1,41	6,30±0,74	5,49±2,06
фосфолипаза А, ед. Ф/л А в 1мл сыв.	0,98±0,07	1,91±0,13***	1,82±0,30**	2,07±0,20***	1,47±0,14**

Примечания:

1. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ - достоверность различий показателей до и после лечения по сравнению с контролем;

2. • - $< 0,05$ - достоверность различий показателей до и после лечения

А вот выраженность холестаза (Х-ЛП) снизилась по сравнению с контролем достоверно ($p < 0,05$), оставалось выраженным нарушение обмена липидов (уменьшение общих липидов) ($p < 0,05$), отмечалось увеличение количества меди и уменьшение кальция в сыворотке крови. Лечение положительно влияло и на выраженность оксидативного стресса: так установлено существенное снижение концентрации субстратов ПОЛ (ИДС в гептановой фазе) и продуктов ПОЛ (ОДК в гептановой фазе) и отсутствие ШО в обеих фракциях ($p < 0,05$). Отмечалось снижение концентрации МДА, в то время как активность системы АОЗ после лечения имела тенденцию к повышению.

Лечение положительно влияло и на выраженность оксидативного стресса, так установлено существенное снижение концентрации субстратов ПОЛ (ИДС в гептановой фазе) и продуктов ПОЛ (ОДК в гептановой фазе) и отсутствие ШО в обеих фракциях ($p < 0,05$). Отмечалось снижение концентрации МДА, в то время как активность системы АОЗ после лечения имела тенденцию к повышению.

Установлено, что практически все показатели физического и психологического здоровья больных после лечения были статистически выше по сравнению с таковыми до лечения, что свидетельствовало об эффективности предложенного комплекса (рис.).

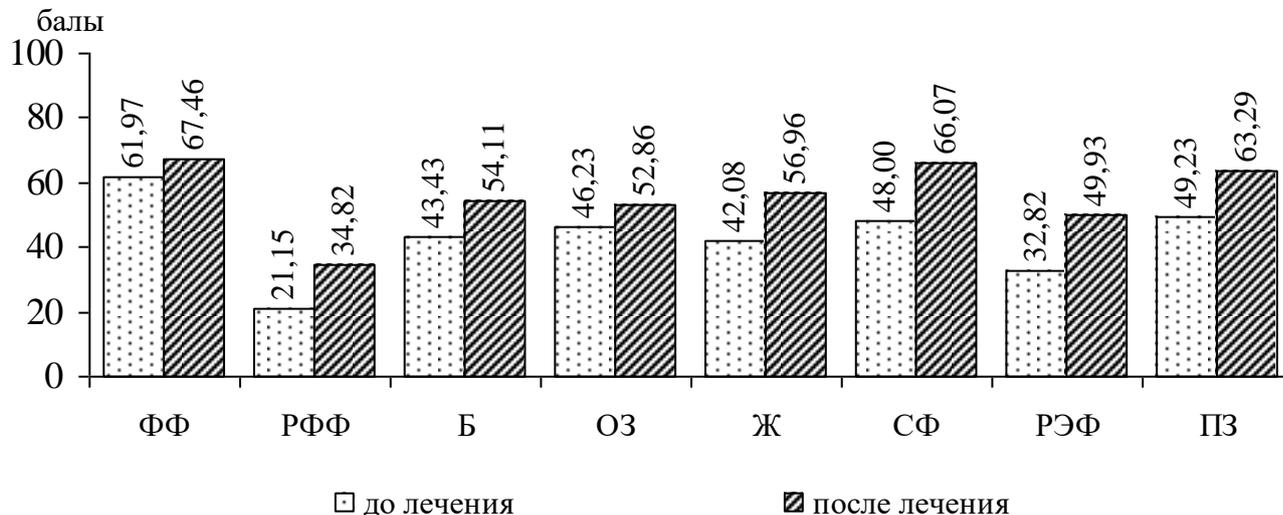


Рисунок. Показатели качества жизни больных хроническим панкреатитом в динамике лечения

Таким образом, проведенное по разработанной методике лечение позволило получить положительный эффект у большинства больных ХП.

ВЫВОДЫ

1. В диссертационной работе приведено теоретическое обобщение и новое решение актуальной научной проблемы по определению маркеров прогрессирования различных клиничко-морфологических форм хронического панкреатита и повышению эффективности лечения больных на основании изучения роли иммуно-морфологических факторов, оксидативного стресса в прогрессировании фиброзирования и камнеобразования в поджелудочной железе.

2. Наиболее неблагоприятным по течению и прогнозу является кальцифицирующий ХП (II группа), который чаще наблюдается у молодых пациентов ($p < 0,05$), характеризуется длительным анамнезом ($p < 0,016$), частыми обострениями, прогрессирующим течением заболевания, быстрым снижением функции органа ($p < 0,05$) и значительными структурными изменениями ПЖ (86,2%). Для больных обструктивным (I) и ХП, осложненным псевдокистой (IV) характерны менее длительный анамнез, длительные обострения, высокая активность воспалительного процесса (у 100,0% и 57,1%, соответственно), выраженный холестаза (36,4% и 14,6%, соответственно, $p < 0,02$) и значительные структурные изменения (72,4% и 92,4%, соответственно, $p < 0,05$). Для больных фиброзно-паренхиматозным ХП (III) значительные структурные изменения в ПЖ не характерны.

3. Для больных ХП, осложненным псевдокистой (IV), в анамнезе более характерен острый панкреатит ($p < 0,05$), а для кальцифицирующего (II) - злоупотребление алкоголем. Качество жизни по всем уровням (физический и психический компоненты здоровья) было достоверно сниженным у всех больных ХП ($p < 0,05$), более высокий уровень качества жизни (физического, ролевого, социального функционирования) установлен у больных с наименее продолжительным анамнезом IV группы ($p < 0,03$).

4. Полное совпадение диагнозов КТ, УЗИ и ЭРХПГ имело место в 64,7% случаев, частичное несовпадение - в 28,5%, полное расхождение - в 6,8%, что подтверждает наибольшую чувствительность в диагностике структурных изменений ПЖ метода КТ. Самую высокую чувствительность и специфичность УЗИ имеет при кальцифицирующем (93,8% и 85,6%) и осложненном псевдокистой (92,3% и 88,5%) ХП, для диагностики других форм ХП необходимо дополнительно применять КТ и, при необходимости, ЭРХПГ. Показатели УЗИ в оценке фиброзных изменений ПЖ соответствуют данным

морфологических исследований: показатель участков фиброза паренхимы ПЖ (FS) ($r = 0,91$; $p = 0,03$) и показатель плотности паренхимы (g) ($r = 0,94$; $p = 0,05$).

5. Морфологическая картина фиброзных изменений ПЖ не зависит от формы заболевания и характеризуется легкой (I) степенью фиброза у 6,6% больных, умеренной (II) - у 20,0%, выраженной (III) - 16,7%, полным фиброзом (IV) - 56,7%. Установлены различные механизмы апоптоза в экзо- и эндокринной частях ПЖ - проапоптотическая протеаза ДНК-аза I экспрессируется в цитоплазме ацинарных клеток, а эндонуклеаза-G в части инсулярных клеток и в эпителии протоков. Ранним маркером апоптоза является транслокация ДНК-азы I из цитоплазмы в ядро ацинарной клетки.

6. Прогрессирование панкреатита, стойкий болевой синдром и развитие предрациномного состояния железы обусловлены расширением протоков, появлением в них кальцинатов, окутыванием соединительной тканью безмиелиновых нервов, наличием дисплазии и сквамозной метаплазии эпителия протоков. При тяжелом течении ХП наблюдается последовательное развитие перидуктального, перилобулярного и внутридолевого видов фиброза, что сопровождается нарастанием экспрессии коллагена и приводит в конечном итоге к циррозу паренхимы железы.

7. Хроническое воспаление сопровождается дисфункцией системы иммунитета, для больных III и IV групп характерна дисфункция клеточного иммунитета (по ФРИС), а II и III групп - гуморального, то есть уровень иммунных расстройств усиливается при длительном течении заболевания. Вместе с этим нарушается цитокиновая регуляция иммунокомпетентных клеток, что проявляется повышением уровня литостатина (REG-1 α) в 8,7 раз (более значительно у больных фиброзно-паренхиматозным ХП (III) и ХП, осложненным псевдокистой (IV) ($p < 0,001$), и лактоферрина в 18,7 раз (более значительно у больных обструктивным (I) и кальцифицирующим (II) ХП ($p < 0,001$)). Уровень провоспалительных цитокинов (TNF- α) достоверно выше у больных I и IV групп ($p < 0,001$), содержание TGF- β 1 - во II и III ($p < 0,001$). Для больных II и III групп характерно достоверно снижение уровня белка-рецептора апоптоза CD95 + ($p < 0,01$).

8. Кальцинаты протоков / кальцификаты паренхимы ПЖ выявлены при уровне коэффициента кальцификации (REG-1 α / лактоферрин) меньше 0,5. При уровне коэффициента 0,5-1,0 - высокая вероятность камнеобразования, а при значении его 1,5 и выше - низкая.

9. Для подавляющего большинства больных ХП характерны эндотоксемия (уровень МСМ повышен у 67,8%, $p < 0,001$), активация фиброзных процессов (ОПбсв - у 81,6% ($p < 0,001$), ГК - 75,0%, ($p < 0,02$) и ГА - 50,9% ($p < 0,001$)), активация процессов перекисного окисления липидов (90,0%), чаще у больных I и II групп (по МДА - 72,7% и 67,7%, ИДСа - 80,0% и 70,6%, ДК α - 80,0% и 94,3%, ОДК β - 40,0% и 83,3%, соответственно). Об активном фиброзировании паренхимы ПЖ и нарушении транспорта Са свидетельствовало достоверное снижение его содержания у всех больных ($p < 0,0001$), причем чаще - у пациентов с кальцифицирующим ХП (II группа) (61,2%, $\chi^2 = 0,63$, $p = 0,43$).

10. От уровня эндогенной интоксикации (МСМ - $r = 0,78$; $p = 0,01$), метаболических изменений Са ($r = 0,73$; $p = 0,028$), Х-ЛП ($r = 0,76$; $p = 0,03$) и нарушений АОЗ (СОД - $r = 0,77$; $p = 0,04$) и перекисного окисления липидов (МДА - $r = 0,62$; $p = 0,032$) зависели значительные структурные изменения ПЖ, которые выявлялись при ЭРХПГ, УЗИ, КТ и приводили к снижению функциональной способности ПЖ (ГНб - $r = 0,59$, $p = 0,02$, $r = 0,62$, $p = 0,03$, $r = 0,70$; $p = 0,03$ соответственно). Корреляционными связями между показателями иммунной системы (TGF-1 β , TNF- α , REG-1 α , CD 3+) и биохимическими маркерами фиброирования (ОПбсв - $r = 0,63$, $p = 0,002$, ГА - $r = 0,71$, $p = 0,007$), эндогенной интоксикации (МСМ - $r = 0,84$; $p = 0,001$), ПОЛ-АОЗ ($r = 0,68$, $p = 0,001$), холестаза ($r = 0,76$, $p = 0,0001$), метаболических нарушений (Са - $r = 0,95$; $p = 0,0008$) установлено взаимовлияние иммунных факторов, показателей оксидативного стресса, нарушений билиарного тракта в развитии и течении ХП. Такие корреляционные взаимосвязи характерны для прогрессирования заболевания.

11. Маркерами прогрессирования хронического панкреатита являются: значение коэффициента кальцификации (REG-1 α / лактоферрин) 0,5-1,0; транслокация ДНК-азы I из цитоплазмы в ядро ацинарной клетки; активация коллагенообразования (снижение отношения ОПбсв / ГК ниже 0,5), рост уровня активаторов фиброза (TGF- β 1, TNF- α), интенсификация процессов ПОЛ (МДА).

12. На модели панкреатита установлена динамика морфологических изменений в ткани ПЖ крыс, которые характерны для воспаления с хронизацией патологического процесса, фиброзированием паренхимы в зонах ее атрофии и активацией внешнесекреторной функции железы. Применение глутаргина способствует снижению уровня продуктов перекисного окисления липидов, улучшает состояние системы антиоксидантной защиты и нормализует метаболизм коллагена.

13. Включение в лечебный комплекс больных ХП аутоцитокинов, глутаргина и вихревого импульсного магнитного поля (ВИМП) позволяет повысить эффективность лечения за счет коррекции цитокинового профиля (снижение уровня TGF- β 1, $p < 0,05$, REG-1 α $p < 0,001$), показателей липероксидации (снижение концентрации субстратов ПОЛ в α -фазе, ($p < 0,05$), эндогенной интоксикации (МСМ, $p < 0,001$), оптимизации АОЗ, улучшения общего состояния и качества жизни больных ($p < 0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На этапе клинического обследования больных хроническим панкреатитом необходимо учитывать этиологию, морфологические формы, степень тяжести структурных изменений в поджелудочной железе и стадию заболевания, так как оценка этих факторов позволяет судить о выраженности нарушений функционального состояния поджелудочной железы и определить тактику лечения.

2. Для диагностики кальцифицирующего и осложненного псевдокистой ХП применяется УЗИ, для диагностики других форм ХП необходимо дополнительно применять КТ и, при необходимости, ЭРХПГ. При выявлении по данным УЗИ показателя фиброза паренхимы ПЖ (FS) от 2 мм и более ($r = 0,91$; $p = 0,03$) и плотности паренхимы (g) от 12 ед. и более ($r = 0,94$; $p = 0,05$) устанавливают высокий уровень фиброза ПЖ (на основании полученных корреляционных связей с данными морфологических исследований).

3. Определение уровня провоспалительных цитокинов (TNF- α), маркера фиброзных процессов TGF- β 1, маркеров кальцификации - литостатина (REG-1 α) и лактоферрина рекомендуется включать в комплексное обследование больных ХП, повышенные уровни которых должны рассматриваться как неблагоприятные прогностические критерии и являются основанием для формирования групп повышенного риска осложнений заболевания. Динамический контроль этих показателей дает возможность оценки эффективности проведенного лечения хронического панкреатита.

4. Для прогнозирования развития кальцинатов протоков / кальцификатов паренхимы ПЖ рекомендуется определять коэффициент кальцификации (REG-1 α / лактоферрин). При значениях его 0,5-1,0 - высокая вероятность камнеобразования, а при коэффициенте 1,5 и выше - низкая.

5. Для оценки дисфункции сфинктера Одди при ХП рекомендуется применять способ ультразвуковой диагностики со стимуляторами панкреатической секреции: после УЗ оценки состояния ПЖ, последовательно в/в вводить 2,4% водный раствор эуфиллина в

количестве 10,0 мл и 10,0% водный раствор глюконата кальция в количестве 10,0 мл. Затем проводить УЗ мониторинг через каждые 10 мин до 60 мин с момента введения препарата. При увеличении диаметра ГПП на 25,0% и более диагностируют признаки механического препятствия в области сфинктера Одди (стриктура, конкремент, опухоль). При отсутствии динамики со стороны ГПП и при параллельном расширении холедоха после введения препаратов делают вывод о спазме в области сфинктера.

6. У больных с риском прогрессирования заболевания курс традиционной базисной терапии необходимо дополнять аутоцитокинами (3 сеанса подкожно в дозе 100 мкг / мл на 14-16 день лечения, сеансы проводить с интервалами 3-5 дней) и глутаргином по 0,75 г три раза в сутки в течение 15-21 дней независимо от приема пищи. В случае невозможности проведения аутоцитокинотерапии больным необходимо назначить средства, которые обладают иммуномодулирующим действием (нуклеинат натрия, пентоксил)

7. Больным хроническим панкреатитом с выраженным болевым синдромом рекомендуется применять вихревое импульсное магнитное поле (ВИМП) с влиянием на проекцию поджелудочной железы и биологически активные точки (БАТ) по 5-15 минут курсом 10-15 сеансов, через 8-10 дней от начала лечения (в период затухающего обострения), продолжительность лечения 3-4 недели.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Using ERCP in diagnostics of pancreatic disorders / **Krylova E.**, Sergeychuk V., Lebedinsky Yu., Feschenko S. // Фальк симпозиум №152 “Endoscopy 2006 – Update and Live Demonstration”. – 4–5 мая, Берлин, 2006. – С.21.
2. Эффективность ЭРХПГ в диагностике заболеваний поджелудочной железы и желчных протоков / **Е.А. Крылова**, С.И. Фещенко, В.В. Сергейчук, Ю.Д. Лебединский // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2007. - Т.XVII, №5. - С.142.
3. **Krylova E.** Diagnostic and therapeutic ERCP in pancreatic diseases / E. Krylova, I. Axonov // Pancreatology. – 2008. – V. 3. – P. 369-370.
4. Характеристика структурных изменений органов панкреатобилиарной системы и панкреатобилиарных протоков у больных хроническим билиарным панкреатитом / **Е.А. Крылова**, И.Г. Аксенов, Н.Г. Гравировская // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. – Т.XVIII, №5. – С.75.
5. Крылова Е.А. Диагностика заболеваний поджелудочной железы, желчных протоков с применением эндоскопических методов / **Е.А. Крылова**, И.Г. Аксенов // Материалы 10-

го юбилейного международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург - Гастро-2008" // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. - 2008. - № 2-3. - М59.

6. **Krylova O.** Therapeutic effects of pancreofil in experimental chronic pancreatitis and diabetes mellitus / O. Krylova // Pancreatology. – 2009. – V.9:427-543. – P. 474.

7. **Krylova O.** Experimental acute pancreatitis induced by inhibition of NO-synthases / O. Krylova, A. Rudenko, J. Gajdar // Pancreatology. – 2010. – V.10, N. 2-3. – P. 330.

8. Острое повреждение поджелудочной железы в условиях ингибирования NO-синтазы / **Е.А. Крылова**, А.И. Руденко, Ю.А. Гайдар, В.А. Макаrchук, М.С. Опыхайло // Материалы международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург - Гастро-2011" // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. - 2011. - № 2-3. – М46.

9. Assessment of exocrine pancreatic function in the conditions of inhibition of NO-synthases / **O. Krylova**, A. Rudenko, J. Gajdar, V. Makarchuk, M. Opykhailo // Pancreatology. – 2011. – V.11, I. 2:99-227. – P. 181.

10. Степанов Ю.М. Изучение качества жизни больных хроническим панкреатитом / Ю.М.Степанов, **Е.А. Крылова**, Л.В. Демешкина // Materials digest of the XXX International Research and Practice Conference and the II Stage of the Championship in medical and pharmaceutical sciences “Modern medicine and pharmaceuticals: actual problems and prospects of development”. – London, 2012. – P. 30-33.

11. **Крылова Е.А.** Состояние системы иммунитета, медиаторов воспаления, фиброобразования и камнеобразования у больных различными формами хронического панкреатита / Е.А. Крылова // Материалы международной научно-практической конференции «Инновационные технологии в медицине: опыт Польши и Украины». - Люблин, Польша, 2017 - С. 44-47.

12. Губергриц Н.Б., **Крылова Е.А.**, Кудрявцева В.Е., Руденко А.И., Макаrchук В.А. Эффективность аутоцитокинов, глутаргина и вихревого импульсного магнитного поля у пациентов с хроническим панкреатитом // **Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология.** – 2019. – №1. –С.14-20.

13. Губергриц Н.Б., **Крылова Е.А.**, Макаrchук В.А. Функциональное состояние поджелудочной железы у больных различными клинко-морфологическими формами хронического панкреатита // **Дневник казанской медицинской школы.** – 2019. – №1. – С.28-34.

14. Губергриц Н. Б., **Крылова Е. А.**, Плотникова Е. Ю. Уровень качества жизни и его динамика под влиянием лечения у больных хроническим панкреатитом // **Медицинский**

алфавит. Серия «Практическая гастроэнтерология». – 2019. – Т. 1. – 6 (381). – С. 56–60.

15. Губергриц Н.Б., **Крылова Е.А.**, Руденко А.И., Тропко Л.В. Особенности секреторной функции и характер микробной контаминации желудка при различных формах хронического панкреатита // **Крымский терапевтический журнал.** – 2019. – №1. – С.40-45.

16. Губергриц Н.Б., **Крылова Е.А.**, Гравировская Н.Г. Структурные особенности поджелудочной железы у больных различными клинико-морфологическими формами хронического панкреатита // **Медицинский алфавит. Серия «Практическая гастроэнтерология».** – 2019. – Т. 2. – 13 (388). – С. 34-38.

17. Губергриц Н.Б., **Крылова Е.А.**, Гайдар Ю.А. Проапоптические протеазы поджелудочной железы у больных хроническим панкреатитом // **Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.** 2019. – Т. 29, № 3. – С. 49-57. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-3-49-57>

18. Губергриц Н.Б., **Крылова Е.А.**, Руденко А.И., Гайдар Ю.А. Возможности использования комбинации аргинина и глутаминовой кислоты (глутаргина) при хроническом панкреатите в эксперименте // **Крымский терапевтический журнал.** – 2019. – № 2. – С. 38-43.

19. Губергриц Н.Б., **Крылова Е.А.**, Опихайло М.С. Особенности гистоструктуры поджелудочной железы при хроническом панкреатите // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология** – 2019. – № 3 (163). – С. 38-42.

20. Губергриц Н.Б., **Крылова Е.А.**, Руденко А.И. Дефицит оксида азота в развитии хронического панкреатита (экспериментальное исследование)// **Дневник казанской медицинской школы.** – 2019. – № 2. – С.4-7.

21. Губергриц Н.Б., **Крылова Е.А.**, Ю.А. Гайдар, А.А. Бурка Особенности патогенеза, прогрессирования и структуры фиброза поджелудочной железы при хроническом панкреатите // **Медицинский алфавит. Серия «Практическая гастроэнтерология».** – 2019. – Т. 3 – 20 (395). – С. 11-15.

22. **Крылова Е.А.**, Руденко А.И., Гайдар Ю.А. Морфологические и функциональные изменения поджелудочной железы при развитии экспериментального хронического панкреатита // **Гастроэнтерология Санкт-Петербурга.** – 2019. – №1. – С.31-36.

23. Губергриц Н.Б., **Крылова Е.А.** Состояние панкреатобилиарных протоков у больных хроническим панкреатитом // **Вопросы реконструктивной и пластической хирургии.** – 2019. – Т.22, №1(68). – С.9-15.

24. **О. Krylova**, N. Gubergrits, A. Rudenko, Y. Haydar, V. Karachynova Role of NO synthases deficiency in the development of pancreatitis (experimental study) // *Pancreatology*. – 2019. – V.19, N. S1. – P. 25.
25. **О. Krylova**, N. Gubergrits, Y. Haydar Features of histological structure of pancreas in patients with chronic pancreatitis (CP) // *Pancreatology*. – 2019. – V.19, N. S1. – P. 85.
26. **Крылова Е.А.**, Губергриц Н.Б. Изменения панкреатической и билиарной протоковой системы по результатам эндоскопической ретроградной холангиопанкреатографии при билиарном хроническом панкреатите // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. – 2019. – Т. 29, № 5. – С. 38.

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АОЗ	антиоксидантная защита
ГА	гексозамины
ГК	гиалуроновая кислота
ГПП	главный панкреатический проток
ДКа	диеновые конъюгаты
ЭРХПГ	эндоскопическая ретроградная холангиопанкреатография
КТ	компьютерная томография
КОЕ	колониеобразующие единицы
МДА	малоновый диальдегид
МСМ	молекулы средней массы
ОП _{бсв}	оксипролин белковосвязанный
ПЖ	поджелудочная железа
ПОЛ	перекисное окисление липидов
СОД	супероксиддисмутаза
ТГ	триацилглицерины
УЗИ	ультразвуковое исследование
ФРИС	формула иммунных расстройств
Х-ЛП	х-липопротеины
ХП	хронический панкреатит
ХС	холестерол
ЦИК	циркулирующие иммунные комплексы
ЦП	церулоплазмин
КЖ	качество жизни
β-ЛП	β-липопротеины
PSC	звездчатые клетки
REG-1α	литостатин
TGF-β1	фактор роста бета
TNF-α	туморнекротический фактор роста альфа