

Поджелудочная железа

Экспериментальная модель панкреонекроза

Горский В.А.¹, Агапов М.А.¹, Леоненко И.В.¹, Гафаров Д.А.¹, Мурашев А.Н.², Семушина С.Г.², Баттаев А.И.³, Садовникова Е.С.², Пахомова И.А.²

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова; 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 9, Российская Федерация

² Филиал ФГБУН "Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова" РАН; 142290, Московская обл., г. Пущино, Проспект Науки, д. 6, Российская Федерация

³ Главный военный клинический госпиталь ФСБ России; 143041, Московская область, Одинцовский район, г. Голицыно, Петровское шоссе, д. 48, Российская Федерация

Цель. Разработать модель панкреонекроза с повышенным выбросом цитокинов в периферический кровоток. **Материалы и методы.** В работе использовано 60 самцов аутбредных крыс SD категории SPF в возрасте 12–14 нед. Определяли провоспалительные цитокины (ИЛ-6, ФНО- α) и противовоспалительный ИЛ-10. Полученные результаты сравнивали с результатами контрольной группы интактных животных. Церулеиновую модель создавали путем внутрибрюшинного введения раствора церулеина однократно или трехкратно в дозах 20, 40, 50, 60, 80 мкг/кг. Для получения алкогольной модели длительно (от 14 дней до 2,5 мес) выпаивали животных 10% раствором этилового спирта вместо питьевой воды. В 9 наблюдениях животным для потенцирования эффекта алкоголя вводили раствор церулеина 40 мкг/кг. Модель панкреонекроза – частичная обтурация общего желчного протока, дополненная однократным внутрибрюшинным введением церулеина 40 мкг/кг. **Результаты.** При введении церулеина ни в одном наблюдении некроза поджелудочной железы не отмечено. Эта модель не сопровождалась статистически значимым увеличением уровня цитокинов. Алкогольная модель также не привела к развитию некроза поджелудочной железы. Увеличения уровня цитокинов не наблюдали. Повышение уровня ИЛ-6 ($224,24 \pm 5$ пг/мл) было отмечено только при комбинации алкоголя и церулеина. ФНО- α не повышался ($16,66 \pm 7$ пг/мл). Механическая модель морфологически характеризовалась выраженными воспалительно-некротическими изменениями ткани поджелудочной железы у всех животных. Дополнительное введение церулеина приводило к развитию тотального некроза. При анализе секреции цитокинов обнаружили, что механическая модель, дополненная введением церулеина, характеризуется значимым увеличением секреции цитокинов по сравнению с предыдущими моделями. **Заключение.** Модель панкреонекроза у крыс, созданная частичной хирургической окклюзией желчного протока, может быть рекомендована для оценки эффективности препаратов, обладающих цитокин-ингибирующей активностью.

Ключевые слова: поджелудочная железа, панкреонекроз, экспериментальная модель, цитокины, церулеин.

Experimental Model of Pancreonecrosis

Gorsky V.A.¹, Agapov M.A.¹, Leonenko I.V.¹, Gafarov D.A.¹, Murashev A.N.², Semushina S.G.², Battaev A.I.³, Sadovnikova E.S.², Pakhomova I.A.²

¹ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University; 1 build. 9, Str. Ostrovityanova, Moscow, 117997, Russian Federation

² Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of RASci.; 6, Avenue of Science, Pushchino, Moscow region, 142290, Russian Federation

³ Main Military Clinical Hospital of the Russian FSS; 48, Peter the highway, Golitsyno, Odintsovo district, Moscow region, 14304, Russian Federation

Aim. To develop a model of pancreonecrosis with increased release of cytokines into peripheral circulation. **Materials and Methods.** Sixty (60) 12–14 weeks-old outbred SD male-rats of SPF category were used in this experiment. Levels of pro-inflammatory IL-6, TNF- α and anti-inflammatory IL-10 cytokines were monitored, and the results were compared with respective values in the control group of intact rats. To create the cerulean-induced pancreonecrosis (PN) model a single or triple intraperitoneal administration of 20, 40, 50, 60, and 80 μ g/kg cerulean solution was used. To induce alcoholic PN all animals were watered with 10% ethanol solution for a long period of time (from 14 days to 2.5 months). In 9 rats from this group alcohol was additionally potentiated with 40 μ g/kg of cerulean. The mechanical model of PN encountered partial CBD occlusion enhanced by single intraperitoneal administration of 40 μ g/kg cerulean. **Results.** PN has not been achieved in a single animal after intraperitoneal cerulean administration in a range of indicated experimental dosages. This model was not associated with statistically significant increase of circulating cytokines. Alcohol model also failed to achieve PN and was not associated with increase of cytokine levels. Increase of IL-6 was

noticed only in the subgroup with combined use of alcohol and cerulean (224.24 ± 5 pg/ml), while TNF- α did not show any increase (16.66 ± 7 pg/ml). Pronounced inflammation and necrosis of pancreatic parenchyma were predominant morphological characteristics of mechanical PN model. Additional cerulean resulted in total PN. Moreover, the mechanical PN model was associated with considerable increase in cytokine secretion as compared with cerulean and alcohol PN models.

Conclusion. Mechanical PN model with partial CBD occlusion can be recommended for evaluation of cytokine-inhibiting potential in medicinal drugs.

Key words: pancreas, pancreonecrosis, experimental model, cytokines, cerulean.

● Введение

Изучение новых стратегий лечения острого панкреатита (ОП) невозможно без экспериментальных исследований. Существует множество различных приемов, с помощью которых можно вызвать в эксперименте заболевание поджелудочной железы (ПЖ), от механического повреждения ее тканей до сложных комбинированных воздействий. Они позволяют воспроизвести острую, хроническую и рецидивирующую формы заболевания.

Экспериментальной модели ОП уже более 150 лет. Первым модель острого панкреатита описал С. Вернаг в 1856 г. Он моделировал процесс у кроликов введением желчи и оливкового масла в проток поджелудочной железы [1].

Методы, основанные на травме поджелудочной железы, в настоящее время интересны только в историческом аспекте. К ним следует отнести термическую (раскаленным инструментом типа металлической “гребенки”) и механическую травму органа. Также есть группа методов, которые для развития ОП подразумевают введение в проток различных веществ под давлением (раствор хлористоводородной кислоты, хлорида цинка, хромовой кислоты и др.).

Анализ литературы показал, что в настоящее время наиболее востребованными моделями ОП считают окклюзию петли двенадцатиперстной кишки [2], бесхолиновую диету, дополненную этионином [3], перевязку желчного протока и протока ПЖ [4], инъекцию церулеина [5], перфузию желчного протока и протока ПЖ [6], введение алкоголя, перфузию желчного протока и протока поджелудочной железы с одномоментной гиперстимуляцией церулеином [7]. Перекрытие просвета двенадцатиперстной кишки (ДПК) проксимальнее и дистальнее большого сосочка приводит к рефлюксу кишечного содержимого в желчный проток и проток ПЖ [8]. У крыс это приводит к развитию ОП различной степени тяжести [9]. Основным недостатком метода является то, что наряду с кишечным содержимым в протоки проникает и множество бактерий.

В. Lombardi и соавт. [10] первыми описали развитие ОП у молодых самок мышей при кормлении их пищей, не содержащей холина и дополненной этионином [3]. В результате происходит развитие геморрагического панкреонекроза (ПН) с системными осложнениями (ацидоз, гипоксия, гиповолемия). Недостатком модели является то, что системные осложнения могут быть

Горский Виктор Александрович – доктор мед. наук, профессор кафедры экспериментальной и клинической хирургии МБФ РНИМУ им. Н.И. Пирогова. **Агапов Михаил Андреевич** – канд. мед. наук, доцент той же кафедры. **Леоненко Игорь Валентинович** – канд. мед. наук, доцент кафедры общей патологии МБФ РНИМУ им. Н.И. Пирогова. **Гафоров Далер Абдулгафорович** – канд. мед. наук, ассистент той же кафедры. **Мурашев Аркадий Николаевич** – доктор биол. наук, профессор, руководитель лаборатории биологических испытаний филиала Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. **Семущина Светлана Геннадиевна** – мл. науч. сотр. той же лаборатории. **Баттаев Алан Ильясович** – врач-хирург Главного военного клинического госпиталя ФСБ России. **Садовникова Елена Станиславовна** – мл. науч. сотр. лаборатории биологических испытаний филиала Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. **Пахомова Ирина Анатольевна** – инженер-исследователь той же лаборатории.

Для корреспонденции: Агапов Михаил Андреевич – 117152, г. Москва, Загородное шоссе, 18а. Тел.: +7-495-952-96-77. E-mail: getinfo911@mail.ru

Gorskiy Viktor Aleksandrovich – Doct. of Med. Sci., Professor, Chair of Experimental and Clinical Surgery, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University. **Agapov Mikhail Andreevich** – Cand. of Med. Sci., Docent of the same Chair. **Leonenko Igor' Valentinovich** – Cand. of Med. Sci., Docent, Chair of General Pathology of the same University. **Gaforov Daler Abdulgaforovich** – Cand. of Med. Sci., Assistant in the same Chair. **Murashev Arkadiy Nikolaevich** – Doct. of Biol. Sci., Professor, Head of Biological Testing Laboratory, Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry. **Semushina Svetlana Gennad'evna** – Junior Research Fellow of the same Laboratory. **Battaev Alan Ilyasovich** – Surgeon in Main Military Clinical Hospital of the Russian FSS. **Sadovnikova Elena Stanislavovna** – Junior Research Fellow of Biological Testing Laboratory, Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry. **Pakhomova Irina Anatol'evna** – Research Fellow of the same Laboratory.

For correspondence: Agapov Mikhail Andreevich – 18a, Zagorodnoe shosse, Moscow, 117152, Russia. Phone: +7-495-952-96-77. E-mail: getinfo911@mail.ru

связаны не только с ОП, но и с развитием других осложнений диеты (паратит, жировая дистрофия печени). Это в значительной степени усложняет изучение системных осложнений [3].

При перевязке билиопанкреатического протока у крыс и мышей происходит развитие ПН, характеризующегося геморрагическим пропитыванием, участками стеатонекроза и некрозом ацинарных клеток. В этой модели необходимо учитывать, что развитие механической желтухи приводит к изменению ряда параметров иммунной системы [4, 11]. Эти эффекты значительно усложняют интерпретацию полученных результатов.

Инфузия небольшой дозы аналога холецистокинина – церулеина увеличивает секрецию экзокринных клеток ПЖ. Этот процесс не сопровождается их некрозом. В то же время введение доз церулеина, превышающих максимальные, приводит к уменьшению секреции и развитию ОП с характерным интерстициальным отеком, воспалительной инфильтрацией и присоединением некроза [5]. Учитывая миниинвазивность, эта модель является наиболее востребованной для индукции ОП. Недостатком являются противоречивые данные исследователей о развитии некроза ацинарных клеток ПЖ [5].

В настоящее время одной из популярных моделей развития ОП является введение в билиопанкреатический проток желчи, которая может содержать различные “добавки” – соль, бактерии и т.д. Выполняют пункцию ДПК, канюляцию большого сосочка двенадцатиперстной кишки. Преимуществами модели является быстрота развития некроза, воспроизводимость и соответствие патофизиологической картины, недостатками – трудоемкость воспроизведения и попадание бактерий из ДПК в билиопанкреатический проток. Кроме того, при обработке результатов необходимо учитывать значительную хирургическую агрессию, характерную для этого эксперимента.

Модель развития ОП, вызываемая комбинацией ретроградного введения желчи в билиопанкреатический проток и гиперстимуляцией церулеином, позиционировалась М. Schmidt и соавт. [12] как оптимальная для оценки новых подходов к лечению. Хотя модель имеет недостатки методов, из которых состоит, она оказалась достаточно ценной для изучения процессов, происходящих при ПН. Главным преимуществом является сопоставимость этой модели по характеру течения, патофизиологии и микробиологическим параметрам ОП у человека [12].

Каждая из описанных моделей имеет свои недостатки, но и не лишена преимуществ. Все это необходимо учитывать перед планированием исследования и тем более при интерпретации полученных результатов. В зарубежных исследо-

ваниях наиболее часто встречаются церулеиновая и алкогольная модели. Эти модели менее инвазивны, более экономичны, успешно используются при изучении ОП и для разработки методов его лечения. Поэтому задачами исследования считали оценку существующих моделей ПН у крыс, основанных на внутрибрюшинном введении церулеина и комбинации выпаивания алкоголя с внутрибрюшинным введением церулеина, создание собственной модели ПН.

● **Материал и методы**

В эксперименте использовали 60 самцов аутбредных крыс CD категории SPF в возрасте 12–14 нед. Основные правила содержания и ухода соответствовали нормативам, указанным в руководстве Guide for Care and Use of Laboratory Animals (ILAR publication, 1996, National Academy Press).

Церулеиновую модель (30 крыс) создавали путем внутрибрюшинного введения раствора церулеина в дозах 20, 40, 50, 60, 80 мкг/кг массы животного. Для получения алкогольной модели (16 крыс) длительно (от 14 дней до 2,5 мес) выпаивали животных 10% раствором этилового спирта вместо питьевой воды. Трех животным для потенцирования эффекта алкоголя вводили раствор церулеина 40 мкг/кг. Механическую модель создавали формированием неполного стеноза общего желчного протока (14 крыс). Девяти крысам в качестве дополнительного фактора агрессии вводили раствор церулеина 40 мкг/кг.

Эвтаназию экспериментальных животных осуществляли помещением их в CO₂-камеру с последующим обескровливанием. Кровь забирала для исследования активности α-амилазы, АсАТ, АлАТ и уровня цитокинов. Определяли провоспалительные цитокины: интерлейкин 6 (ИЛ-6), фактор некроза опухоли альфа (ФНО-α) и противовоспалительный – интерлейкин 10 (ИЛ-10). После этого осуществляли забор внутренних органов для морфологического исследования. Поджелудочную железу извлекали целиком и фиксировали в 10% нейтральном формалине. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, исследовали методом световой микроскопии.

Активность амилазы измеряли в сыворотке крови стандартными реагентами Biolabo Reagents (Франция) на биохимическом анализаторе Ellipse AMS. Активность АсАТ измеряли методом А. Karmen и соавт. в модификации Henry и соавт. [13]. Активность АлАТ измеряли методом F. Wroblewski и J.S. La Due, оптимизированным Henry and Bergmeyer [14]. Для определения цитокинов кровь набирали в пробирки с активатором свертывания (SiO₂). После центрифугирования и полной ретракции сгустка сыворотку собирали и хранили в течение 2–3 мес при температуре –

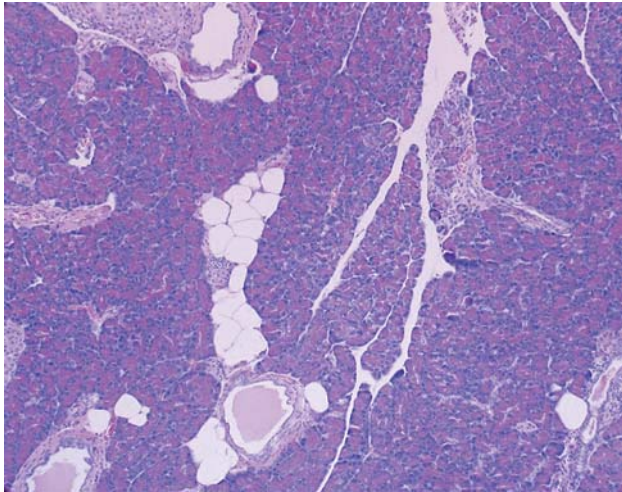


Рис. 1. Микрофото. Изменения в ткани ПЖ крысы в результате введения церулеина 40 мкг/кг. Умеренный интерстициальный отек, встречаются небольшие округлые пустоты, очевидно, после деградации ацинусов. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$.

70 °С. Концентрацию цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов фирмы e-Biosciences. Анализ микропрепаратов проводили на микроскопе проходящего света DMLA Leica, Германия.

● Результаты исследования

Церулеиновая модель ОП. В результате однократного введения церулеина 40 мкг/кг у крыс развивался интерстициальный отек паренхимы ПЖ. Для изучения дозозависимого эффекта индукция ОП была осуществлена однократным введением церулеина 60 и 80 мкг/кг. Было обнаружено, что в этих дозах препарат не усиливает выраженность воспаления по сравнению с дозой 40 мкг/кг, очаги некроза не выявили (рис. 1).

Для пролонгации стимуляции ПЖ во времени с целью развития в ней деструктивных изменений увеличили кратность введения церулеина. Препарат вводили в дозе 20 мкг/кг трижды с интервалом в 1 час. В результате только у 30% крыс были обнаружены участки некроза, при этом площадь деструкции была не более 3% по отношению ко всей паренхиме ПЖ. Дальнейшее увеличение дозы церулеина до 40, 50, 60 мкг/кг с той же кратностью введения также не привело к развитию некроза ПЖ.

Таблица 1. Концентрация цитокинов в сыворотке крыс после выпаивания алкоголем и введения церулеина 40 мкг/кг

Группа	Концентрация, пг/мл		
	ИЛ-10	ИЛ-6	ФНО- α
Алкоголь (2,5 мес)	63,04 \pm 2	146,81 \pm 7	12,06 \pm 2
Алкоголь (14 дней) + церулеин	59,15 \pm 4	142,25 \pm 7	13,63 \pm 5
Алкоголь (2,5 мес) + церулеин	68,13 \pm 8	224,24 \pm 5*	16,66 \pm 7
Контрольная	50,72 \pm 8	127,27 \pm 14*	19,8 \pm 6

Примечание: * – различия достоверны.

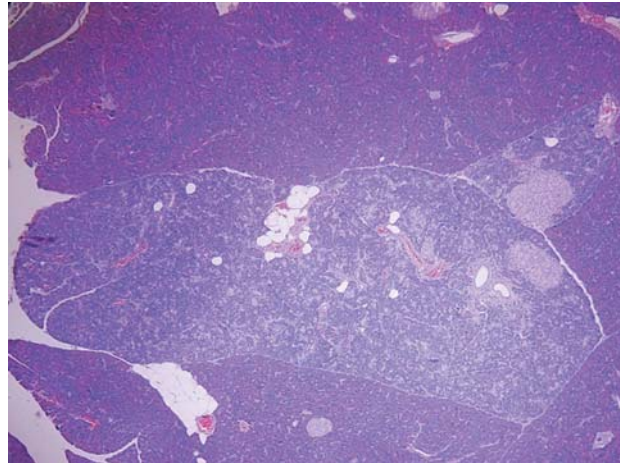


Рис. 2. Микрофото. Изменения в ткани ПЖ крыс в результате выпаивания 10% раствором этилового спирта в течение 2,5 мес. Незначительный отек, в трех дольках – потеря гранул зимогена, инфильтрация макрофагами, деградация ацинусов. В одной из трех долек – округлые пустоты. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$.

При анализе биохимических показателей у крыс, получавших церулеин в дозе 20 мкг/кг трижды с интервалом в 1 час, обращало внимание практически двукратное превышение активности амилазы сыворотки крови – 816,4 \pm 168 МЕ/л. Показатели активности трансаминаз находились в пределах нормальных значений. Введение церулеина не сопровождалось значимым увеличением уровня провоспалительных цитокинов. Уровень ИЛ-10 у крыс после введения церулеина составил 66,56 \pm 3 пг/мл, ИЛ-6 – 117,88 \pm 12 пг/мл, ФНО- α – 13,73 \pm 7 пг/мл. Аналогичные показатели в контрольной группе составили 50,72 \pm 8, 127,27 \pm 14 и 19,8 \pm 6 пг/мл соответственно.

Этанол-индуцированный ОП. При выпаивании животных 10% раствором этилового спирта вместо питьевой воды наблюдали гистологическую картину острого отечного панкреатита (рис. 2). При анализе биохимических показателей у крыс, получавших 2,5 мес алкоголь, отмечали значительное увеличение активности амилазы сыворотки крови – до 831 \pm 121 МЕ/л. Показатели активности трансаминаз находились в пределах нормальных значений. Применение только алкоголя не сопровождалось увеличением секреции цитокинов (табл. 1). Повышение уровня ИЛ-6 было отмечено лишь при комбинации алкоголя и церулеина.

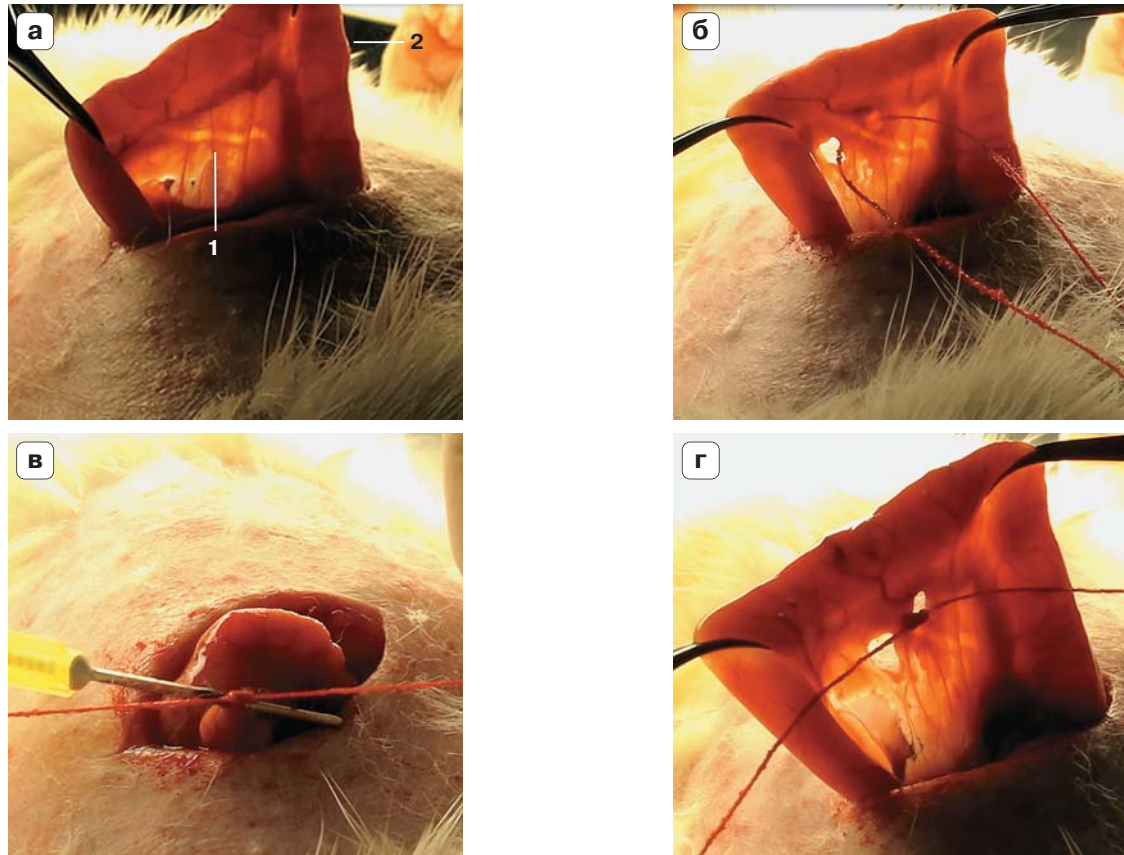


Рис. 3. Интраоперационное фото. Перевязка общего желчного протока. а – идентификация общего желчного протока; б – подведение лигатуры для перевязки; в – затягивание лигатуры на игле, проведенной рядом с общим желчным протоком; г – окончательный вид после завершения операции. 1 – общий желчный проток. 2 – петля двенадцатиперстной кишки.

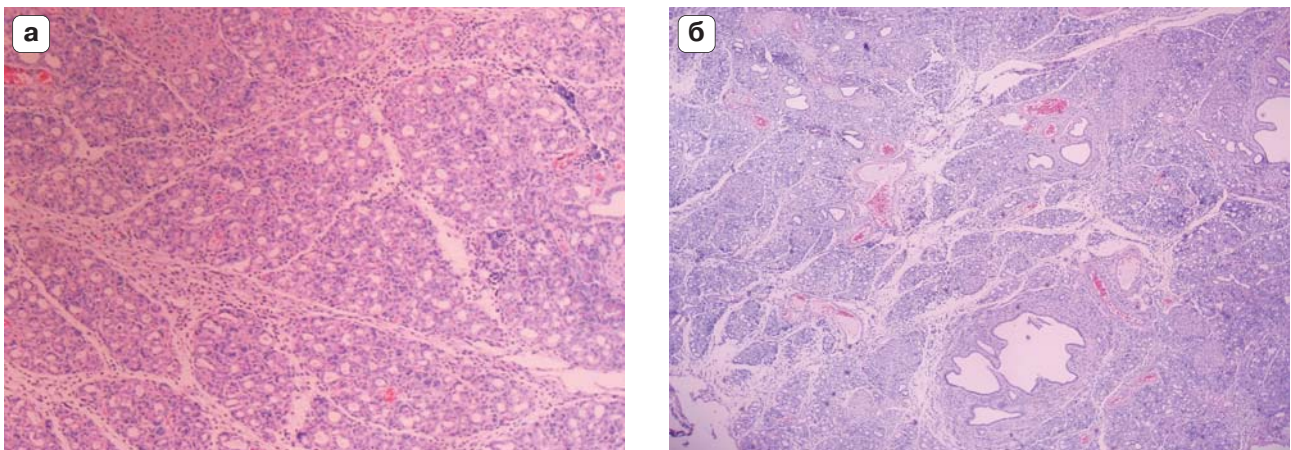


Рис. 4. Микрофото. Изменения в ткани ПЖ крыс в результате частичной окклюзии общего желчного протока и введения церулеина. а – тотальный некроз всей железы, массивная инфильтрация соединительной ткани лейкоцитами, $\times 100$; б – тотальный некроз всей железы, массивная инфильтрация лейкоцитами, $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином.

При выпаивании крыс 10% раствором этилового спирта наблюдали гистологическую картину острого отечного панкреатита, не сопровождающуюся повышением активности трансаминаз и концентрации провоспалительных цитокинов. Это указывало на невысокую интенсивность воспаления и тем более не позволяло свидетельствовать о его системном характере. Поэтому эта модель, несмотря на наличие небольших очагов некроза, не подходила для моделирования ПН у крыс.

Как было показано выше, внутрибрюшинное введение церулеина у крыс не приводило к развитию ПН и не сопровождалось повышенной секрецией цитокинов. При этом выраженность воспалительных изменений в ПЖ не зависела от дозы церулеина. При сочетании выпаивания алкоголя с внутрибрюшинным введением церулеина у крыс также развивался отечный ОП. Поэтому было принято решение попытаться создать модель ПН оперативным путем – частичной обтурацией общего желчного протока.

Существующая модель ПН у крыс, основанная на полной перевязке общего желчного протока ниже впадения в него протока ПЖ, сопровождается развитием механической желтухи, что затрудняет интерпретацию полученных результатов. Поэтому в предлагаемой модели рефлюкс желчи в проток ПЖ возникал, но пассаж желчи сохранялся.

Способ создания собственной механической модели ПН. Крысу наркотизировали внутримышечной инъекцией смеси 5% кетамина и 2% ксилазина, фиксировали в спинном положении. Лапаротомию выполняли в правом подреберье. Осторожно извлекали двенадцатиперстную кишку с прилегающей соединительной тканью (рис. 3), на просвет находили общий желчный проток и накладывали на него лигатуру вблизи стенки двенадцатиперстной кишки. Степень затягивания узла лигатуры контролировали при

помощи инъекционных игл различного диаметра. Таким образом достигали неполного стеноза общего желчного протока, что приводило к поступлению желчи в проток ПЖ и, как следствие, к развитию ПН. При этом пассаж желчи сохранялся. Ряду крыс через 3 дня после частичной окклюзии общего желчного протока однократно внутрибрюшинно вводили церулеин 40 мкг/кг. Через 3 сут после операции выживших животных подвергали эвтаназии с последующим гистологическим исследованием ПЖ.

При анализе данных гистологического исследования препаратов животных, перенесших частичную перевязку общего желчного протока, видно, что в отличие от предыдущих моделей (церулеин, алкоголь) в поджелудочной железе преобладали некротические процессы (рис. 4). Отмечены признаки выраженного воспаления в ткани ПЖ – отек, инфильтрация макрофагами и лейкоцитами. Три крысы погибли. На аутопсии было выяснено, что причиной смерти всех животных был тотальный некроз ПЖ. К сожалению, у погибших животных взять кровь для определения концентрации цитокинов не удалось.

Как видно из табл. 2, в изучаемой группе животных все биохимические показатели находятся выше нормальных значений. При этом статистически значимых различий с группой, в которой после операции церулеин не вводили, по активности α -амилазы ($p = 0,827$), АлАТ ($p = 0,512$), АсАТ ($p = 0,275$) нет.

При анализе секреции цитокинов обнаружили, что механическая модель, дополненная введением церулеина, характеризовалась статистически значимым увеличением секреции цитокинов по сравнению с предыдущими моделями (табл. 3).

При анализе концентрации ИЛ-10 у животных, перенесших операцию с введением церулеина, оказалось, что уровень этого цитокина значительно больше ($p = 0,0495$), чем у интактных

Таблица 2. Активность амилазы и трансаминаз в сыворотке крыс с ПН, вызванным частичной окклюзией общего желчного протока и однократным внутрибрюшинным введением церулеина 40 мкг/кг

Группа	Активность ферментов		
	α -амилаза, МЕ/л	АлАТ, Е/л	АсАТ, Е/л
Операция, церулеин	847,8 ± 102	266,7 ± 201	628,3 ± 342
Операция	879 ± 122	167,3 ± 217	205 ± 386
Допустимые значения	489,0–609,0	110,0–140,0	72,0–196,0

Таблица 3. Сравнительные показатели уровня секреции цитокинов у крыс с ПН

Группа	Концентрация цитокинов, пг/мл		
	ИЛ-10	ИЛ-6	ФНО- α
Операция	67,28 ± 5*	320,28 ± 11*	32,37 ± 14*
Операция + церулеин через 3 дня после операции	72,39 ± 11*	457,19 ± 25*	34,62 ± 9*
Контроль	50,72 ± 8*	127,27 ± 14*	19,8 ± 6*

Примечание: * – различия с контрольной группой достоверны.

животных, и не отличается ($p = 0,512$) от показателя оперированных крыс, которым церулеин не вводили. Что касается ФНО- α , то его уровень также статистически значимо превышал ($p = 0,0495$) контрольные значения и также не отличался от показателей, которые были у животных после операции без введения церулеина.

Таким образом, в исследуемой группе отмечено значительное повышение концентрации всех цитокинов, но принципиальным являлось то, что концентрация ИЛ-6 в этой группе достоверно больше ($p = 0,0495$), чем в группе оперированных без введения церулеина. Таким образом, введение церулеина не только усиливает степень деструкции ПЖ, но и увеличивает секрецию цитокинов, утяжеляя течение заболевания.

● Заключение

Однократное внутрибрюшинное введение церулеина в дозах 20, 40, 50, 60, 80 мкг/кг самцам крыс CD категории SPF в возрасте 12–14 нед вызывает острый отечный панкреатит. Дробное введение церулеина в различных режимах также сопровождается развитием острого отечного панкреатита. Диагноз подтвержден одновременным повышением уровня амилазы в периферической крови через 3–6 ч после введения церулеина, носящим обратимый характер. Церулеиновая модель характеризовалась статистически значимым увеличением секреции ИЛ-10. Статистически значимого повышения секреции ИЛ-6, ФНО- α не наблюдали. Выпаивание 10% раствора этилового спирта на протяжении 2,5 мес у всех экспериментальных животных приводило к развитию острого отечного панкреатита. Гистологически у этих животных выявлены интерстициальный отек различной степени, инфильтрация долек макрофагами и некроз части паренхимы, который характеризовался (в зависимости от степени поражения) потерей гранул зимогена, деградацией части ацинусов, образованием на месте разрушенных ацинусов округлых пустот. После однократной внутрибрюшинной инъекции церулеина 40 мкг/кг выраженность некротических изменений увеличивалась. Алкогольная модель характеризовалась повышением активности α -амилазы и значимым увеличением секреции ИЛ-10 и ИЛ-6.

Неполная окклюзия общего желчного протока привела к развитию ПН различной степени выраженности. Однократная внутрибрюшинная инъекция церулеина 40 мкг/кг оперированным животным увеличивала степень деструкции. В этой модели все анализируемые биохимические

показатели превышали допустимые значения, при этом наблюдали значимое усиление секреции про- и противовоспалительных цитокинов. Таким образом, механическая модель панкреонекроза у крыс может быть рекомендована для исследований новых стратегий лечения и, в частности, для оценки эффективности препаратов, обладающих цитокин-ингибирующей активностью.

● Список литературы/References

1. Bernard C. Lecons de Physiologie Experimentale. 2 (VIII). Paris: Bailliere, 1856; 504–512.
2. Nevalainen T.J., Seppa A. Acute pancreatitis caused by closed duodenal loop in the rat. *Scand. J. Gastroenterol.* 1975; 10 (5): 521–527.
3. Lombardi B. Influence of dietary factors on the pancreatotoxicity of ethionine. *Am. J. Pathol.* 1976; 84 (3): 633–648.
4. Sheen-Chen S.M., Eng H.L., Hung K.S. Altered serum transforming growth factor-beta1 and monocyte chemoattractant protein-1 levels in obstructive jaundice. *World J. Surg.* 2004; 28 (10): 967–970.
5. Lampel M., Kern H.F. Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue. *Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histopathol.* 1977; 373 (2): 97–117.
6. Armstrong C.P., Taylor T.V., Torrance H.B. Effects of bile, infection and pressure on pancreatic duct integrity. *Br. J. Surg.* 1985; 72 (10): 792–795.
7. Schmidt J., Rattner D.W., Lewandrowski K., Compton C.C., Mandavilli U., Knoefel W.T., Warshaw A.L. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy. *Ann. Surg.* 1992; 215 (1): 44–56.
8. Nevalainen T.J., Seppa A. Acute pancreatitis caused by closed duodenal loop in the rat. *Scand. J. Gastroenterol.* 1975; 10 (5): 521–527.
9. Dickson A.P., Foulis A.K., Imrie C.W. Histology and bacteriology of closed duodenal loop models of experimental acute pancreatitis in the rat. *Digestion.* 1986; 34 (1): 15–21.
10. Lombardi B., Estes L.W., Longnecker D.S. Acute hemorrhagic pancreatitis (massive necrosis) with fat necrosis induced in mice by DL-ethionine fed with a choline-deficient diet. *Am. J. Pathol.* 1975; 79 (3): 465–480.
11. Nehez L., Andersson R. Compromise of immune function in obstructive jaundice. *Eur. J. Surg.* 2002; 168 (6): 315–328.
12. Schmidt M., Raghavan B., Muller V., Vogl T., Fejer G., Tchapchet S., Keck S., Kalis C., Nielsen P.J., Galanos C., Roth J., Skerra A., Martin S.F., Freudenberg M.A., Goebeler M. Crucial role for human Toll-like receptor 4 in the development of contact allergy to nickel. *Nat. Immunol.* 2010; 11 (1): 814–819.
13. Karmen A. A note on the spectrometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *Clin. Invest.* 1955; 34 (1): 131–133.
14. Wrobtewski F., La Due J.S. Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac with hepatic disease. *Proc. Soc. exp. biol. Med.* 1956; 91 (4): 569–571.