

УДК 616.37-002-092

ЭФФЕКТЫ КРИОВОЗДЕЙСТВИЯ НА ПОДЖЕЛУДОЧНУЮ ЖЕЛЕЗУ**Курзанов А.Н.***ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава Российской Федерации, Краснодар, e-mail: kurzanov@mail.ru*

Проведен анализ существующих представлений о криовоздействии на поджелудочную железу в лечебных и экспериментальных целях. Рассмотрены методические аспекты глубокого охлаждения ткани органа с использованием криохирургических устройств, использующих в качестве хладоагента жидкий азот либо орошение поверхности железы струей хлорэтила. Проанализированы данные литературы о патофизиологических процессах, лежащих в основе локальной криодеструкции поджелудочной железы в ходе моделирования ее экспериментальной патологии. Эти представления дополнены новой концепцией о роли и механизмах ишемически-реперфузионного повреждения ткани железы после криовоздействия на нее и сопутствующих этому патофизиологическому процессу многогранных ответных реакций организма на криовоздействие.

Ключевые слова: криовоздействие, поджелудочная железа**EFFECTS OF CRIOTHERAPY ON PANCREAS****Kurzanov A.N.***Kuban State Medical University, Krasnodar, e-mail: kurzanov@mail.ru*

Existing ideas on cryotherapy of pancreas for treatment and experimental purposes were analyzed. The article reviewed the methodical aspects of applying of extreme cold to the pancreatic tissue by means of the cryosurgical devices, based on the use of liquid nitrogen as the cooling solution or spraying chlorethyl on the gland surface. The article analyzed the literature data on pathophysiological processes that form the basis of the local cryo-destruction of pancreas during the modeling of its experimental pathology. These ideas were extended with a new concept about the role and mechanisms of ischemic-reperfusion damage of pancreatic issue after the cryotherapy and associated multifaceted response reactions of the organism to the cryotherapy.

Keywords: cryotherapy, pancreas

Данный обзор посвящен анализу существующих представлений о различных аспектах криовоздействия на поджелудочную железу, а также представляет авторскую точку зрения на патофизиологические механизмы криовоздействия на ткань этого органа. Обоснование и интерпретация криовоздействия на поджелудочную железу в различных работах имеют чрезвычайно широкий спектр: от криовоздействий лечебного характера [1, 2, 24] до целенаправленного криоповреждения ткани железы [4, 5, 10].

Сопоставить эти точки зрения сложно, прежде всего, по причине разнородности исходных логических позиций. Однако противоречивость этих позиций – кажущаяся, так как она отражает прежде всего разные цели криовоздействия, а не его механизмы, в которых всегда основным фактором является криоповреждение ткани поджелудочной железы. Если это ткань патологически измененная в результате травмы органа, развития панкреонекроза, опухолевого процесса, либо иных причин, то криодеструкция, либо криоэкстирпация такой ткани, безусловно, направлена на получение лечебного эффекта. Воздействие холодом на неповрежденную здоровую ткань железы имеет место в экспериментальных исследо-

ваниях с целью моделирования патологических процессов по типу острого панкреатита или панкреонекроза.

В лечебных и экспериментальных целях криовоздействие на поджелудочную железу получило достаточно широкое распространение.

В экспериментальных и клинических исследованиях для криовоздействия на поджелудочную железу чаще всего применяют криоаппликаторы криохирургических комплексов и устройств, использующих в качестве хладоагента жидкий азот [4, 13, 8] либо орошение поверхности железы струей хлорэтила [3, 15, 21].

Криоапликация поджелудочной железы проводится с целью остановки кровотечения при травме органа, для прекращения аутолиза в месте повреждения и подавления экзокреторной функции, предотвращения формирования свищей и кист, развития ферментативного перитонита, ограничения панкреонекроза и снижения эндогенной интоксикации, что в целом позволяет добиться эффективного лечения заболеваний железы [1, 12, 19].

При этом наиболее обсуждаемыми вопросами методических аспектов охлаждения ткани органа являются параметры криовоздействия – время и температура, до

которой необходимо охладить ткань железы для достижения необходимого эффекта, а также количество циклов и локализацию точек криоаппликации. Утверждается, что холодовая деструкция ткани поджелудочной железы возможна лишь при ее охлаждении до температуры -20°C [22].

Охлаждение всей ткани железы в температурном диапазоне от 0 до -20°C приводит к образованию зон глубокой гипотермии без формирования локусов крионекроза. В экспериментальных исследованиях по определению оптимального времени криоаппликации [7] показано, что криовоздействие на ткань поджелудочной железы следует производить с такой экспозицией воздействия криоаппликатора, которая позволяет добиться снижения температуры задней поверхности органа до -20°C .

Лишь в этом случае регенерация фокуса криоаппликации протекает в асептических условиях, не сопровождаясь лейкоцитарной инфильтрацией. Оптимальной оказалось экспозиция в 120 секунд воздействия криоаппликатора в каждой точке при условии, что рабочая температура наконечника криоаппликатора -195°C .

В экспериментальных исследованиях на крысах [8, 9, 10] оценивалось эффективность криогенного способа моделирования патологии поджелудочной железы. Локальное охлаждение железы производили путем соприкосновения криохирургического наконечника в течение 60 секунд при температуре -20°C , -60°C , -100°C , -140°C и -180°C . Структурные изменения, вызванные криовоздействием, определены как стадии развития острого панкреатита (при воздействии в диапазоне -20°C и -60°C) с распространением поражения панкреатической клетчатки, большого сальника и брыжейки кишок (при гипотермии в температурных режимах -100°C и 148°C) и развитием геморрагического панкреонекроза и серозно-геморрагического перитонита при охлаждении ткани железы при температуре -180°C .

Что касается моделирования острого экспериментального панкреатита с использованием криоповреждения ткани поджелудочной железы, то многие исследователи, упоминавшие в публикациях воспроизведения острого «холодового» экспериментального панкреатита, либо панкреонекроза не углубляются в обсуждение патогенеза и патофизиологических механизмов, что в конечном итоге и не очень существенно. Важен факт совершенно доказанной резуль-

тативности и стабильности этого методического приема моделирования патологии поджелудочной железы [8, 11, 14].

От криохирургии заболеваний поджелудочной железы до их криомоделирования целелеполагающая дистанция не близкая, но это не отрицает очевидность и необходимость существования и того, и другого. Более того, очевидная необходимость понимания патофизиологических механизмов криовоздействия на поджелудочную железу во всех случаях однозначно определяет целесообразность их исследования, так как медицинские проблемы, связанные с патологией поджелудочной железы, далеки от полного решения и имеют тенденцию ко все большей актуализации.

Одно из первых объяснений механизма повреждающего действия глубокого охлаждения ткани поджелудочной железы базировалось на представлениях о физических явлениях при замерзании воды в тканях органа и механических воздействиях на ткань формирующихся кристаллов льда. Считается, что в механизме повреждающего действия криовоздействия на живые ткани существенную роль играют изменения, происходящие с водой, находящейся внутри клеток и вне клеток [2]. Основными повреждающими факторами при замораживании является образование внутриклеточного льда и обезвоживание клетки. Образование внутриклеточного льда характерно для большой скорости охлаждения (более 10 К/мин). Кристаллизация внутриклеточной воды приводит к увеличению объема мембранных структур (ядро, аппарат Гольджи, митохондрии, лизосомы, эндоплазматическая сеть, цитоплазматическая мембрана и пр.). Эти структуры разрушаются. Обезвоживание клетки характерно для небольшой скорости охлаждения (менее 10 К/мин). Потеря клеткой воды происходит вследствие вымораживания воды во внешней среде и повышения концентрации растворенных в ней веществ. При охлаждении клетка может потерять до 80-90% воды, при этом разрушаются гидратированные комплексы с макромолекулами, что приводит к так называемой «криоденатурации» – потере биологическими полимерами (прежде всего белками и белковыми комплексами) третичной и четвертичной структуры, что приводит к необратимой утрате функций этих полимеров [27,30]. Фазовый переход, наступающий при превращении воды в лед, увеличивает объем воды почти на 10% как внутри клетки, так и в околоклеточном про-

странстве, что оказывает повреждающее действие на клеточные мембраны [9]. Сначала замерзает межклеточная жидкость, затем внутриклеточная вода. Образующиеся и растущие по мере углубления охлаждения кристаллы льда совершают вращательное движение вокруг центров кристаллизации. При этом кристаллы льда повреждают, «режут» клеточные и внутриклеточные мембраны [20].

Повреждение клеточных мембран и структурных компонентов клетки приводит к осмотическим сдвигам по типу осмотического шока, изменениям pH и содержания электролитов, что сопровождается денатурацией и изменениям биомолекул и субклеточных структур, а также прекращением подвижности протоплазмы клеток и развитием термального шока.

Патоморфоз криоиндуцированных панкреатических эффектов представлен в научной литературе многими исследователями [6,21,9], но патофизиологические аспекты проблемы в большинстве работ представлены цитированием публикации о роли панкреатических гидролаз в аутолизе ткани поджелудочной железы и факторах, запускающих этот процесс [9,18,13].

Повреждение мембран ацинарных клеток поджелудочной железы лежит в основе развития острого панкреатита (20, 2, 6), вызывая усиленный приток внеклеточных ионов Ca^{2+} , которые инициируют процессы внутриклеточной активации трипсиногена при участии лизосомального катепсина Б [28, 29]. Повреждение панкреатитов сопровождается выделением активированных гидролаз и запуском процесса аутолиза ткани железы [18].

В развитии криповреждения ткани поджелудочной железы существенным фактором является нарушение кровообращения в замороженных тканях [1,23]. В результате криовоздействия на период промерзания ткани полностью прекращается кровообращение и лимфоток. К тканям не поступает кислород и развивается их ишемия, полностью тормозятся все обменные процессы, останавливаются биохимические и физиологические реакции, включая энергетические процессы в митохондриях. После криовоздействия на поджелудочную железу магистральные сосуды органа не изменяют свою структуру, в средних и мелких – развиваются явления стаза и тромбоза с последующей реканализацией. В нервных структурах органа имеют место выраженные дегенеративные и деструктивные из-

менения, присущие частичной холодовой денервации поджелудочной железы [11]. Утверждается, что в основе развития патологии поджелудочной железы и экспериментального ее повреждения криовоздействием лежат общие патогенетические механизмы [10].

Все вышеизложенное не подвергается сомнению и, тем более, отрицанию, но, по-нашему мнению, может быть дополнено новыми представлениями, являющимися результатом анализа данных, полученных в ходе многолетних исследований по различным аспектам эффектов криовоздействия на поджелудочную железу в эксперименте. Это в первую очередь касается роли ишемически-реперфузионного повреждения ткани поджелудочной железы после ее глубокого охлаждения и сопутствующих этому патофизиологическому процессу многогранных изменений системы про/антиоксиданты, цитокинового статуса, инициации окислительного повреждения тканей, накоплению в них активированных нейтрофилов и других проявлений реакции поджелудочной железы на криовоздействие.

Мы моделировали по методу П.С. Симаворяна «холодовой» острый панкреатит у крыс, многократно в ходе различных исследований на протяжении 35 лет с высокой воспроизводимостью верифицированной последующими морфологическими исследованиями.

По этой методике, у крыс, находящихся под наркозом, в асептических условиях, используя хирургический доступ к органам брюшной полости, воспроизводят острый панкреатит средней тяжести путем орошения струей хлорэтила обеих поверхностей селезеночной части поджелудочной железы до появления налета инея. Ткань орошенного участка железы при этом промерзает, а ее температура понижается до $-25-30^{\circ}C$. После спонтанного оттаивания витальная картина охлажденного участка очень существенно отличается от вида ткани поджелудочной железы, не подвергавшейся орошению хлорэтилом.

Макроскопическая и гистологическая картина ткани поджелудочной железы в наших исследованиях в большой мере соответствовала описанию патоморфологических изменений железы, представленных в доступной литературе, что позволяет не детализировать полученные нами [6, 14, 15, 16], а также другими авторами [5, 9, 17] результаты светооптических исследований, а сфокусироваться на их анализе в ракур-

се обсуждения патофизиологической роли реперфузионного повреждения ткани поджелудочной железы в процессе развития острого экспериментального панкреатита, воспроизведенного по «холодовой» модели. В известных нам публикациях, проанализированных по итогам тщательного поиска в ведущих мировых базах научных данных, такого обсуждения ранее не проводилось. Сам факт ишемически реперфузионного повреждения ткани поджелудочной железы зафиксирован в научных публикациях неоднократно и его реальность сомнений не вызывает [25,26].

В процессе анализа событий в ткани поджелудочной железы крыс в период глубокого охлаждения локуса ее селезеночного сегмента мы за отправной момент приняли очевидный факт прекращения циркуляции крови и лимфы в этом участке ткани железы на время от ее промерзания до момента спонтанного оттаивания. Длительность однократного криовоздействия хлорэтилом на обе поверхности селезеночного сегмента составляла 2-3 минуты, а спонтанное оттаивание промерзшего участка происходило через 5-7 минут. В ряде экспериментов мы производили повторное орошение хлорэтилом этого же локуса железы после его оттаивания. В целом, период прекращения циркуляции крови и лимфы в охлажденном участке железы и, соответственно, период ее ишемизации продолжался 8-10 минут. После оттаивания ткани железы в участке, подвергнутом криовоздействию, кровоток возобновлялся, то есть имела место реперфузия локуса ткани железы, подвергнутого глубокому охлаждению.

Таким образом, в процессе моделирования «холодового» острого экспериментального панкреатита имело место ишемически-реперфузионное воздействие на ткань поджелудочной железы.

По нашему мнению, именно это обстоятельство во многом определяет последующее развитие патоморфологических изменений поджелудочной железы по типу острого панкреатита. Ишемически-реперфузионное повреждение поджелудочной железы начинает формироваться уже в первые часы после моделирования «холодового» острого панкреатита и, по сути, является пусковым моментом патоморфоза железы и определяет последующие события, когда развиваются выраженные структурные и функциональные нарушения, имеющие множественные разнообразные, характерные для острого экспериментального панкреатита, проявления.

Все вышесказанное позволяет заключить, что эффекты криовоздействия на ПЖ в значительной степени определяются патофизиологическими реакциями процесса ишемии-реперфузии как ответа организма на действие повреждающего фактора – глубокого охлаждения ткани органа. Механизмы этого патофизиологического процесса у живых существ генетически детерминированы и реализуются во взаимосвязи множества проявлений ответа организма на агрессию, которой и является криовоздействие на ткани и органы.

Список литературы

1. Альперович Б.И. Основы криохирургии печени и поджелудочной железы. – 2006. – 232 с.
2. Альперович Б.И. Хирургия печени и желчных путей. Томск, 1997. – 608 с.
3. Андреева С.Д. Структурно-функциональные изменения почек при экспериментальном остром панкреатите // Успехи современного естествознания. -2013. – №8. – С. 105-108.
4. Анищенко В.В., Трубачева А.В. Электрический сигнал поджелудочной железы при моделировании панкреонекроза жидким азотом в эксперименте // Медицина и образование в Сибири. – 2012. – №2. URL: <http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article>.
5. Балачевский Б.В. Опиоидергическая модуляция функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов: Автореф. дисс. канд.мед.наук. – Краснодар, 2007. – 20 с.
6. Балачевский Б.В., Курзанов А.Н., Славинский А.А. Динамика патоморфологических изменений ткани поджелудочной железы крыс при лечении экспериментального панкреатита даларгином // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2006. – №1. – с. 96.
7. Гиршин Г.С. Лечение экспериментального панкреонекроза методом криодеструкции: Автореф. дисс. канд.мед.наук. – 1986. – 22 с.
8. Дорошевич С.В., Пивченко П.Г., Дорошевич Е.Ю. Опыт криомоделирования патологии поджелудочной железы // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2010. – №8. – с. 52-55.
9. Дорошкевич С.В., Дорошкевич Е.Ю. Экспериментальное моделирование острого панкреатита // Новости хирургии. – 2008. – т. 16. – №2. – с. 14-21.
10. Дорошкевич С.В., Пивченко П.Г., Дорошкевич Е.Ю. Оценка эффективности криогенного способа моделирования патологии поджелудочной железы // Журнал Военная медицина. – 2009. – №2. – с. 126-128.
11. Комкова Т.Б. Влияние сверхнизких температур на сосуды и нервные элементы поджелудочной железы: материалы конференции «Медико-биологические аспекты нейро-гуморальной регуляции». Томск, 1997.
12. Комкова Т.Б., Альперович Б.И., Мерзликин Н.В. Криохирургическое лечение хронического болевого панкреатита: современные аспекты. Бюллетень Сибирской медицины, 2012. – т. 11. – №4. – с. 111-115.
13. Кубышкин В.А. Острый панкреатит // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2009. – №2. – с. 48-52.
14. Курзанов А.Н., Титова Г.П., Беспалова Ж.Д. Морфофункциональный статус поджелудочной железы при сочетанной активации соматостатиновых и опиатных рецепторов: Тезис доклада. V Международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения академика В.Н. Черниговского «Механизмы функционирования висцеральных систем». (Санкт-Петербург. 16-19 октября 2007 г.). – С-Пб, 2007. – С. 170-171.
15. Курзанов А.Н., Титова Г.П., Виноградов В.А., Алейник В.А., Герасимов Н.Ф. Морфофункциональные изменения поджелудочной железы под влиянием даларгина

в норме и при экспериментальном панкреатите // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1988. – №4. – С. 445-447.

16. Курзанов А.Н., Титова Г.П., Славинский А.А., Балачевский Б.В. Модуляция функционально-метаболической активности нейтрофилов даларгином при остром экспериментальном панкреатите // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. – 2009. – №1 (30). – с. 119-123.

17. Лубянский В.Г., Быков В.М., Арутюнян Г.А., Алиев А.Р., Жариков А.Н. Применение регионарной инфузии алпростадилла в комплексном лечении больных с панкреонекрозом // Медицина и образование Сибири. – 2014. – №1. URL: www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text-full.=1275.

18. Луцевич Э.В., Чепеленко Г.В. Поджелудочная железа как одна из мишеней «аутоферментного взрыва» при остром панкреатите // Хирургия. – 2001. – №9. – с. 57-60.

19. Мусин В.М. Лечение открытой травмы поджелудочной железы с применением воздействия сверхнизких температур (экспериментальное исследование): Дис. ... канд. мед. наук. – 2005. – 119 с.

20. Пушкарь Н.Е., Белоус А.М. Введение в криобиологию. – Киев, 1975. – 343 с.

21. Симаворян П.С. Некоторые аспекты патофизиологии панкреатитов (экспериментальное исследование): Дис. док. мед. наук. – Ереван, 1973. – 355 с.

22. Шалимов А.А., Шалимов С.А., Лившиц Ю.З. Парциальная резекция головки поджелудочной железы // Вестник хирургии. – 1988. – №9. – с. 30-32.

23. Шафранов В.В., Борхунова Е.Н., Костылев М.А., Цыганов Д.И., Торба А.М., Таганов А.В., Межов Л.П., Калмыкова З.В. Механизм разрушения биологических тканей при локальной криодеструкции // Вестник российской академии естественных наук. – 2012. – №1. – с. 68-77.

24. Шугаев А.Н., Исаметдинов А.А., Гера И.Н. Криохирургия поджелудочной железы в борьбе с эндогенной интоксикацией // Эфферентная терапия. – 1999. – №2. – С. 21-23.

25. Benz S., Schnabel R., Morgenroth K., Weber H., Pfeffer F., Hoptu. T. Ischemia/reperfusion injury of the pancreas: a new animal model // Journal of Surgical Research. – 1998. – 75 (2). – p. 109-115.

26. Dembinski A., Warzecha Z., Geranowicz P., Stachhura J., Tomaszewska R., Konturek S.J., Sendur R., Dembinski M., Pawlik W.W. Pancreatic damage and regeneration in the course of ischemia-reperfusion induced pancreatitis in rats // Journal of physiology and pharmacology. – 2001. – 52. – 2. – p. 221-235.

27. Mildner K. Criobiology – A Short Course, 1999.

28. Saluija A.K. et al. Cerulein-induced in vitro activation of trypsinogen in rat pancreatic acini is mediated by cathepsin β // Gastroenterology. – 1997. – v. 113. – p. 304-310.

29. Wang X.D. et al. Antioxidant and calcium channel blockers counteract endothelial barrier injury induced by acute pancreatitis in rat // Scand. J. Gastroenterology. – 1995. – v. 30. – p. 1129-1136.

30. Wolf J., Bryant Y. Cryobiology and anhydrobiology of cells, 2004.