

УДК 616.37-002.1-092-07-085

©І. Ю. Полянський, В. В. Максим'юк, В. В. Тарабанчук, А. Г. Бічер, Є. С. Піжовський  
Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

## АКТИВНІСТЬ ТРИПСИНУ ТА $\alpha_1$ -АНТИТРИПСИНУ ПРИ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ

АКТИВНІСТЬ ТРИПСИНУ ТА  $\alpha_1$ -АНТИТРИПСИНУ ПРИ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ – В експерименті при гострому панкреатиті вивчено динамічні особливості змін активності трипсину та  $\alpha_1$ -антитрипсину в сироватці венозної крові та тканинах. Встановлено, що одним із механізмів антиферментного захисту при гострому панкреатиті є нарощання активності  $\alpha_1$ -антитрипсину в крові, тканинах підшлункової залози, печінки та легень. Первина неспроможність та швидке виснаження вказаного механізму тканинного та сироваткового антипротеазного захисту є одним із ключових патогенетичних механізмів прогресування місцевих та системних проявів гострого панкреатиту. Це регламентує необхідність напрацювання нових підходів до адекватної корекції таких патологічних порушень.

АКТИВНОСТЬ ТРИПСИНА І  $\alpha_1$ -АНТИТРИПСИНА ПРИ ОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТЕ – В експерименті при острому панкреатите изучены динамические особенности изменений активности трипсина и  $\alpha_1$ -антитрипсина в сыворотке венозной крови и тканях. Установлено, что одним из механизмов антиферментной защиты при остром панкреатите есть нарастание активности  $\alpha_1$ -антитрипсина в крови, тканях поджелудочной железы, печени и легких. Первичная несостоятельность и быстрое истощение указанного механизма тканевой и сывороточной антипротеазной защиты является одним из ключевых патогенетических механизмов прогрессирования местных и системных проявлений острого панкреатита. Это регламентирует необходимость наработки новых подходов к адекватной коррекции таких патологических нарушений.

TRYPSIN AND  $\alpha_1$ -ANTITRYPSIN ACTIVITY AT THE ACUTE PANCREATITIS – In the experiment at acute pancreatitis there were studied the dynamical particularities of trypsin activity and  $\alpha_1$ -antitrypsin in plasma of venous blood and tissues. It was established that one of the mechanism of antienzyme's protection at acute pancreatitis is an increase of activity of  $\alpha_1$ -antitrypsin in the blood, tissues of the pancreas, liver and lungs. Primary inability and rapid exhaustion of the indicated mechanism of tissue and serum antienzyme's protection is the focal pathogenetic mechanisms progression of the local and systemic manifestations of acute pancreatitis. It regulates the need for elaboration of new approaches to an adequate correction of pathological disorders.

**Ключові слова:** гострий панкреатит, трипсин,  $\alpha_1$ -антитрипсин.

**Ключевые слова:** острый панкреатит, трипсин,  $\alpha_1$ -антитрипсин.

**Key words:** acute pancreatitis, trypsin,  $\alpha_1$ -antitrypsin.

**ВСТУП** Однією з центральних ланок патогенезу гострого панкреатиту є порушення рівноваги в системі тканинних та сироваткових протеаз-антипротеаз [2, 3, 6]. Важливим чинником антипротеазного захисту є  $\alpha_1$ -антитрипсин, який синтезується печінкою і забезпечує 90 % загальної трипсиннігбуючої активності крові [1–5].  $\alpha_1$ -антитрипсин належить до низькомолекулярних глукопротеїдів і здатний пригнічувати активність багатьох протеолітичних ферментів: хімотрипсину, тромбіну, плазміну, калікреїну, еластази колагенази, гіалуронідази, протеаз лейкоцитів, макрофагів та макроорганізмів. Головна фізіологічна функція цього протеазного інгібітора полягає у захисті тканин від пошкоджуючої дії протеолітичних ферментів, зокрема в інактивації нейтрофільної еластази – протеази, що гідролізує структурні

протеїни [1–5, 7]. Разом з тим, незважаючи на важливі функції  $\alpha_1$ -антитрипсину, його роль у патогенезі гострого панкреатиту вивчено далеко не в повному обсязі.

Метою дослідження стало експериментальне вивчення нових ланок патогенезу гострого панкреатиту шляхом з'ясування особливостей змін активності  $\alpha_1$ -антитрипсину та оцінки можливостей його сироваткового і тканинного антипротеазного впливу.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Об'єктом експериментальних досліджень стали 63 статевозрілі сірі кролики масою від 8 до 10 кг, у яких перед ініціацією панкреатиту виконували катетеризацію стегнової, портальної та грудного відділу нижньої порожнистої вен. Експериментальний панкреатит моделювали за власною методикою, суть якої полягає у відтворенні протокової гіпертензії шляхом перев'язки вивідної біліопанкреатичної протоки з наступним введенням у тканини підшлункової залози розчину медичної жовчі з трипсином (заявка на корисну модель № 2011 08099). Забір крові проводили до моделювання панкреатиту а також на 1-шу, 3-ю, 5-ту та 7-му доби з моменту його ініціації. У ці ж терміни проводили забір тканин підшлункової залози, печінки та легень, після чого готували 10 % розчин гомогенату тканин на буферному розчині.

Активність  $\alpha_1$ -антитрипсину в сироватці венозної крові та гомогенатах тканін визначили за методом К. Н. Веремеенко и соавт. (1988) [2], а рівень трипсіну – за методом В. F. Erlander et al. (1961) [5] у модифікації В. А. Шатерникова (1966) [4].

При виконанні досліджень дотримувались загальноприйнятих світових та вітчизняних норм здійснення досліджень у галузі біології та медицини.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** При оцінці морфологічних ознак експериментального гострого панкреатиту встановлено, що на 24 год його перебігу визначався набряк підшлункової залози з наявністю окремих субкапсулярних вогнищевих крововиливів. Через 72 год з часу ініціації панкреатиту констатували нарощання набряку підшлункової залози та прилеглих тканин, гіперемію місцевої очеревини, збільшення кількості вогнищевих крововиливів, появу стеатонекрозів та геморагічного перитонеального ексудату. На 5–7-му добу перебігу експериментального панкреатиту виявлялись вірогідні ознаки прогресуючого поширеного геморагічного панкреонекрозу.

Показники активності трипсину крові та тканин наведено у таблиці 1.

У результаті вивчення рівня трипсину крові стегнової вени встановлено, що через 24 год з часу ініціації панкреатиту його активність достовірно зростала у 1,3 раза з подальшим поступовим зниженням впродовж наступних 6-ти діб нижче вихідного рівня. У крові портальної вени активність трипсину на 1-шу добу вірогідно знижувалась у 1,7 раза з наступним поступовим підвищенням на 7-му добу в 2,1 раза.

**Таблиця 1. Активність трипсину венозної крові та гомогенату тканин у різні терміни перебігу гострого панкреатиту в експерименті (Мод)**

Час з моменту моделювання панкреатиту	Трипсин крові			Трипсин гомогенату тканин		
	стегнова вена	портальна вена	нижня порожниста вена	легені	печінка	підшлункова залоза
	a	b	c	a	b	c
Контроль, n=63	29,61±0,99 p <sub>a-b</sub> <0,05	25,86±1,12	40,53±1,71 p <sub>c-a,b</sub> <0,001	40,65±0,56 p <sub>a-b,c</sub> <0,001	44,61±0,89	46,39±1,01
Панкреатит 24 год, n=63	39,80±3,09 p <sub>a-b,c</sub> <0,001 p <sub>1-2</sub> <0,01	15,33±1,88 p <sub>b-c</sub> <0,001 p <sub>1-2</sub> <0,001	26,13±2,12 p <sub>1-2</sub> <0,001	49,33±0,92 p <sub>a-b,c</sub> <0,001 p <sub>1-2</sub> <0,001	42,69±0,74	42,33±1,34 p <sub>1-2</sub> <0,05
Панкреатит 72 год, n=57	28,40±1,59 p <sub>2-3</sub> <0,01	26,40±2,15 p <sub>2-3</sub> <0,001	42,13±2,51 p <sub>c-a,b</sub> <0,001 p <sub>2-3</sub> <0,001	48,01±1,19 p <sub>1-3</sub> <0,001	43,32±2,07	48,12±2,11 p <sub>2-3</sub> <0,05
Панкреатит 5 діб, n=44	27,86±2,01 p <sub>a-b</sub> <0,05 p <sub>2-4</sub> <0,01	34,33±1,94 p <sub>1-2,4</sub> <0,001 p <sub>3-4</sub> <0,01	31,86±3,24 p <sub>1,3-4</sub> <0,05	42,09±1,98 p <sub>a-b</sub> <0,01 p <sub>2-4</sub> <0,001 p <sub>3-4</sub> <0,05	50,06±1,78 p <sub>1-4</sub> <0,01 p <sub>2-4</sub> <0,001 p <sub>3-4</sub> <0,05	54,07±2,02 p <sub>c-a</sub> <0,001 p <sub>1,2-4</sub> <0,001 p <sub>3-4</sub> <0,05
Панкреатит 7 діб, n=39	24,80±1,87 p <sub>a-b</sub> <0,05 p <sub>1-5</sub> <0,05 p <sub>2-5</sub> <0,001	31,09±2,17 p <sub>1-5</sub> <0,05 p <sub>2-5</sub> <0,001	32,66±1,63 p <sub>c-a</sub> <0,001 p <sub>1-5</sub> <0,01 p <sub>2-5</sub> <0,05	45,33±1,44 p <sub>a-b</sub> <0,01 p <sub>1-5</sub> <0,001 p <sub>2-5</sub> <0,05	50,62±1,10 p <sub>1,2-5</sub> <0,001 p <sub>3-5</sub> <0,01	53,64±1,39 p <sub>c-a</sub> <0,001 p <sub>1,2-5</sub> <0,001

Примітка. Наведено тільки статистично вірогідні відмінності.

Активність трипсину крові грудного відділу нижньої порожнистої вени на 1-шу добу вірогідно знижувалась у 1,5 раза, а на 7-му добу була нижчою за вихідну величину в 1,3 раза.

При аналізі рівня трипсину в гомогенатах тканин встановлено, що його активність у легенях на 1-шу добу перебігу експериментального панкреатиту вірогідно зростала у 1,3 раза, а на 7-му добу – перевищувала вихідну величину у 1,1 раза. Величина вказаного показника у печінці впродовж перших 3-х діб вірогідно не змінювалась, а на 5–7-му добу зростала у 1,2 раза. У тканинах підшлункової залози на 1-шу добу відмічено достовірне зниження активності трипсину в 1,1 раза, з наступним поступовим зростанням на 5–7-у добу в 1,3 рази.

Показники активності  $\alpha_1$ -антитрипсину в сироватці крові та гомогенатах тканин наведено у таблиці 2.

При вивчені рівня  $\alpha_1$ -антитрипсину крові стегнової вени встановлено, що через 24 год з часу моделювання панкреатиту його активність впродовж перших 5-ти діб з часу моделювання панкреатиту вірогідно перевищувала вихідну величину в 1,2–1,3 раза з наступним зниженням на 7-му добу в 1,2 раза. У крові порталової вени величина вказаного показника впродовж 7-ми діб перебігу експериментального панкреатиту була вірогідно вищою за контрольну величину у 1,3–1,8 раза. Активність  $\alpha_1$ -антитрипсину крові нижньої порожнистої вени в процесі прогресування панкреатиту мала вірогідну тенденцію до нарощання і на 7-му добу перевищувала вихідну величину в 1,7 раза.

У результаті дослідження рівня  $\alpha_1$ -антитрипсину в гомогенатах тканин встановлено, що його активність у легенях та печінці через 24 год з часу ініціації панкреатиту вірогідно зростала у 1,2 та 1,3 раза відповідно, з

**Таблиця 2. Рівень  $\alpha_1$ -антитрипсину плазми венозної та гомогенату тканин у різні терміни перебігу гострого панкреатиту в експерименті (мкмоль/л)**

Час з моменту моделювання панкреатиту	$\alpha_1$ -антитрипсин крові			$\alpha_1$ -антитрипсин гомогенату тканин		
	стегнова вена	портальна вена	нижня порожниста вена	легені	печінка	підшлункова залоза
	a	b	c	a	b	c
Контроль, n=63	61,98±3,04 p <sub>a-b,c</sub> <0,001	45,84±1,12	50,57±1,29 p <sub>c-b</sub> <0,01	143,33±0,87 p <sub>a-b</sub> <0,001	132,90±0,54	150,81±1,10 p <sub>c-a,b</sub> <0,001
Панкреатит 24 год, n=63	80,08±2,01 p <sub>a-b,c</sub> <0,001 p <sub>2-1</sub> <0,001	68,13±1,99 p <sub>b-c</sub> <0,05 p <sub>2-1</sub> <0,001	62,20±1,54 p <sub>2-1</sub> <0,001	172,04±2,34 p <sub>2-1</sub> <0,001	173,68±3,07 p <sub>2-1</sub> <0,001	138,11±1,82 p <sub>c-a,b</sub> <0,001 p <sub>2-1</sub> <0,001
Панкреатит 72 год, n=57	69,75±1,89 p <sub>a-c</sub> <0,001 p <sub>3-1</sub> <0,05 p <sub>3-2</sub> <0,001	81,39±2,55 p <sub>b-c,a</sub> <0,001 p <sub>3-1,2</sub> <0,001	50,33±2,17 p <sub>3-2</sub> <0,057	156,02±1,94 p <sub>a-c</sub> <0,001 p <sub>3-1,2</sub> <0,001	150,85±2,11 p <sub>3-1,2</sub> <0,001	143,72±2,31 p <sub>3-1</sub> <0,01 p <sub>3-2</sub> <0,057
Панкреатит 5 діб, n=44	75,71±3,12 p <sub>a-c</sub> <0,05 p <sub>a-b</sub> <0,001 p <sub>4-1</sub> <0,01	57,82±3,78 p <sub>4-1,3</sub> <0,001 p <sub>4-2</sub> <0,05	68,43±1,78 p <sub>4-1,3</sub> <0,001 p <sub>4-2</sub> <0,05	146,63±1,17 p <sub>4-1</sub> <0,05 p <sub>4-2,3</sub> <0,001	143,39±4,14 p <sub>4-1</sub> <0,01 p <sub>4-2</sub> <0,001	153,98±2,59 p <sub>c-a,b</sub> <0,05 p <sub>4-2</sub> <0,001 p <sub>4-3</sub> <0,01
Панкреатит 7 діб, n=39	52,82±1,86 p <sub>5-1</sub> <0,05 p <sub>5-2,3,4</sub> <0,001	62,20±2,08 p <sub>b-a</sub> <0,01 p <sub>5-1</sub> <0,001 p <sub>5-3</sub> <0,001	82,19±3,44 p <sub>c-a,b</sub> <0,001 p <sub>5-1,2,3,4</sub> <0,001 p <sub>5-3,4</sub> <0,001	127,55±3,58 p <sub>5-1,2,3</sub> <0,001 p <sub>5-4</sub> <0,05	124,32±1,94 p <sub>5-1,2,3,4</sub> <0,001	167,72±5,83 p <sub>c-a,b</sub> <0,001 p <sub>5-1,2,3</sub> <0,001 p <sub>5-4</sub> <0,05

Примітка. Наведено тільки статистично вірогідні відмінності.

подальшим поступовим зниженням на 7-му добу в 1,4 раза. Активність  $\alpha_1$ -антитрипсину в тканинах підшлункової залози на 1-шу добу вірогідно знижувалась 1,1 раза з наступним зростанням до 7-ї доби у 1,2 раза.

Таким чином, результати комплексного аналізу результатів дослідження свідчать, що з 1-ї по 7-му добу перебігу гострого експериментального панкреатиту має місце паралельне наростання активності трипсину та  $\alpha_1$ -антитрипсину в тканинах підшлункової залози. На нашу думку, такі результати вказують на те, що ініціація та прогресування автокаталітичного інtrapанкреатичного процесу призводить до запуску місцевих механізмів антиферментного захисту, одним з яких є протеазноінгібуючий вплив  $\alpha_1$ -антитрипсину.

Зниження активності трипсину та підвищення рівня  $\alpha_1$ -антитрипсину в крові порталної вени на 1-шу добу перебігу панкреатиту, з нашої точки зору, свідчить про те, що на ранніх стадіях розвитку захворювання механізм антитрипсинового захисту у вказаному судинному руслі є спроможним. Разом з тим, така спроможність зумовлена не стільки резервними можливостями  $\alpha_1$ -антитрипсину, скільки відсутністю масивної генералізації активованих ферментів підшлункової залози венозним шляхом. Доказом цього є те, що з 1-ї по 7-му добу активність  $\alpha_1$ -антитрипсину в крові порталної вени залишається практично незмінною, разом з тим, як рівень трипсину у вказаному венозному руслі прогресивно наростає.

Через 24 год з часу ініціації панкреатиту відмічають зростання активності трипсину в крові стегнової вени та тканинах легенів на тлі сталості вказаного показника у тканинах печінки та його зниження у тканинах підшлункової залози та крові порталної і порожнистої вен. З нашого погляду, такі результати свідчать про те, що впродовж перших 24 год перебігу панкреатиту підвищення рівня трипсинемії у периферичному венозному руслі відбувається не за рахунок генералізації трипсину венозним шляхом, а за рахунок його системного поширення лімфатичним шляхом. Правомірність такого судження, на нашу думку, також підтверджує виражене наростання на 1-шу добу  $\alpha_1$ -антитрипсину в легенях та стегновій вені на тлі сталості вказаного показника у тканинах печінки.

Наростання активності трипсину в крові порталної вени, сталість його активності у печінці та зниження у порожнистій вені на тлі наростання  $\alpha_1$ -антитрипсину в печінці, крові нижньої порожнистої вени, легенях та стегновій вені є свідченням того, що впродовж перших трьох перебігу гострого панкреатиту спрацьовує захисний механізм, який полягає у синтезі печінкою  $\alpha_1$ -антитрипсину з наступним його поширенням у легені та периферичне венозне русло.

З 3-ї по 7-му добу відмічають зниження активності  $\alpha_1$ -антитрипсину в тканинах печінки та легень нижче вихідного рівня на тлі наростання активності трипсину в підшлунковій залозі, печінці та легенях та зниження вираженості трипсинемії у стегновій та нижній порожнистій венах. Це, на нашу думку, свідчить про те, що у вказаній термін часу ініціюється запуск бар'єрних механізмів у печінці та легенях. Такі механізми захисту спрямовані на попередження генералізації акти-

вованих панкреатичних ензимів у системний кровотік та реалізації їх системного пошкоджуючого впливу. Разом з тим, масивна пролонгована інвазія активованих протеаз у легені та печінку призводить не тільки до виснаження місцевих чинників антитрипсиновоного захисту, а й до ураження тканин вказаних органів із розвитком їх дисфункції та недостатності.

Таким чином, підсумовуючи результати досліджень, можна зробити висновок, що вираженість місцевих та системних проявів гострого панкреатиту першочергово залежать не тільки від активності інtrapанкреатичного автокаталітичного процесу, а й від спроможності тканинних та сироваткових чинників антипротеазного захисту, швидке виснаження яких є основним механізмом реалізації місцевого та дистанційного пошкоджуючого впливу активованих панкреатичних ензимів.

**ВИСНОВКИ** 1. Розвиток автокаталітичного ураження підшлункової залози та системна генералізація її активованих ферментів призводить до ініціації тканинних та сироваткових механізмів антиферментного захисту, одним з яких є наростання активності  $\alpha_1$ -антитрипсину в крові, тканинах підшлункової залози, печінки та легень.

2. Одним з ключових патогенетичних механізмів прогресування місцевих та системних проявів гострого панкреатиту є первинна неспроможність та швидке виснаження тканинних і сироваткових чинників антипротеазного захисту, що регламентує необхідність напрацювання нових підходів до адекватної корекції таких патологічних порушень.

**Перспективи подальших досліджень** Перспективним є подальше вивчення місцевих та системних інгібіторів панкреатичних протеаз, що може скласти основу для напрацювання нових ефективних методів лікування гострого панкреатиту.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Акбашева О. Е. Активность трипсиноподобных протеиназ и деградация коллагена слизистой оболочки кишечника при заболеваниях желудочно-кишечного тракта / О. Е. Акбашева, В. А. Бурковская, А. Е. Деханд [и соват.] // РЖГК. – 2010. – Т. 20, № 2. – С. 31–38.
2. Веремеенко К. Н. Протеолиз в норме и при патологии / К. Н. Веремеенко, О. П. Голобородько, А. И. Кизим // К.: Здоров'я, 1988. – 200 с.
3. Жукова Е. Н. Дефицит ингибитора протеаз альфа<sub>1</sub>-антитрипсина – фактор риска в развитии и обострении различных клинических форм хронического панкреатита / Е. Н. Жукова // Российский гастроэнтерологический журнал. – 1998. – № 2. – С. 57–59.
4. Шатерников В. А. Протеолитическая активность и содержание ингибитора трипсина в сыворотке крови и соке поджелудочной железы при хроническом панкреатите / В. А. Шатерников // Вопросы медицинской химии. – 1966. – Т. 12, № 1. – С. 103–105.
5. Erlanger B. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin / B. Erlanger, N. Kokowsky, W. Cohen // Arch. Biochem. Biophys. – 1961. – Vol. 95. – P. 271–278.
6. Alpha-1 antitrypsin genotypes in patients with chronic pancreatitis / H. Witt, A. Kage, W. Luck, M. Becker // Scand. J. Gastroenterol. – 2002. Vol. 37. – P. 356–359.
7. Characterization of serine/cysteine protease inhibitor  $\alpha_1$ -antitrypsin from meconium-instilled rabbit lungs / A. Zagariya, R. Bhat, E. Zhabotynsky [et al.] // Journal of Cellular Biochemistry. – 2005. – Vol. 96, № 1. – P. 137–144.

Отримано 28.10.11