

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ КАРДИОДЕПРЕССИИ ПРИ ОСТРОМ ДЕСТРУКТИВНОМ ПАНКРЕАТИТЕ

А. В. Ершов, В. Т. Долгих, О. В. Корпачева,
В. В. Русаков, Н. И. Таран, Н. С. Гриценко

Омский государственный медицинский университет Минздрава России,
Россия, 644099, г. Омск, ул. Ленина, д. 12.

Pathogenesis of Cardiac Depression in Acute Destructive Pancreatitis

A. V. Ershov, V. T. Dolgikh, O. V. Korpacheva, V. V. Rusakov, N. I. Taran, N. S. Gritsenko

Omsk State Medical University, Ministry of Public Health, Russia
12, Lenin St., Omsk 644099, Russia

Цель — выявить патогенетические факторы формирования панкреатогенной сердечной недостаточности в ближайшем и отдаленном периодах.

Материал и методы. Исследования проведены на 130 крысах-самцах линии Вистар массой $292 \pm 4,0$ г, разбитых на 4 группы. Животных наркотизировали этиловым эфиром. В трех экспериментальных группах моделировали острый деструктивный панкреатит путем введения в ткань поджелудочной железы желчи, взятой из желчного протока, из расчета 0,15 мл/кг массы тела. Через 24 часа, 7 дней и 1 месяц воспроизводили модель изолированного изоволюмически сокращающегося сердца по E. L. Fallen et al. Давление в левом желудочке измеряли электроманометром ВМТ и регистрировали его вместе с первой производной на приборе НЗ38-4П, рассчитывая систолическое и диастолическое давление, скорости сокращения и расслабления. Одновременно брали пробы перфузата, прошедшего через коронарное русло, в котором унифицированными методами определяли активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и глюкозы. Для выявления механизмов кардиодепрессии осуществляли навязывание высокого ритма сокращений, гиперкальциевую и гипоксическую перфузию.

Результаты. Установлено, что острый деструктивный панкреатит нарушает силовые и скоростные параметры сократительной функции сердца (снижение систолического давления, скоростей сокращения и расслабления миокарда левого желудочка, увеличение диастолического давления, как отражение контрактурных сокращений кардиомиоцитов). Особенно отчетливо эти нарушения выявляются при навязывании высокого ритма сокращений сердца и гиперкальциевой и гипоксической перфузии изолированных сердец. Возрастает также потребление глюкозы на каждый мм рт. ст. развиваемого желудочком давления.

Заключение. Важнейшими патогенетическими факторами панкреатогенной сердечной недостаточности являются гипоксия, деструкция мембран кардиомиоцитов, ингибирование Са-насоса сарколеммы и саркоплазматического ретикулума, митохондриальная дисфункция. Максимальная депрессия сократимости миокарда левого желудочка выявляется в течение первых суток и через месяц после моделирования панкреатонекроза.

Ключевые слова: острый панкреатит; сердечная недостаточность; кардиодепрессия

Objective is to identify the pathogenic factors for progression of pancreatogenic cardiac failure in the nearest and remote periods.

Materials and methods. The study was carried out on 130 male Wistar rats (292 ± 4.0 g) divided into 4 groups. The animals were anesthetized with ethyl ether. Acute destructive pancreatitis was simulated in three experimental groups by infusion of bile (0.15 ml/kg body weight) taken from the bile duct into the pancreatic tissue. The isolated isovolumically contracting rat heart (according to E. L. Fallen et al) was simulated 24 hours, 7 days and 1 month after the bile infusion. The pressure in the left ventricle was measured by electric manometer BMT and registered along with the first derivative at the device N338-4P calculating the systolic and diastolic blood pressure, and the speed of

Адрес для корреспонденции:

Антон Ершов
E-mail: salavatprof@mail.ru

Correspondence to:

Anton Ershov
E-mail: salavatprof@mail.ru

contraction and relaxation. At the same time the perfusate samples passed through the coronary arteries were harvested, and aspartate aminotransferase (AST) and glucose were determined by standard methods. To identify the cardiac depression, the high contraction rhythm and hypercalcemic and hypoxic perfusion were applied.

Results. It was found that in acute destructive pancreatitis the power and speed parameters of the heart contractile function were altered that led to lowering the systolic blood pressure and velocity of contraction and relaxation of the left ventricular myocardium and increased diastolic blood pressure as an indicator of cardiomyocyte contracture rate. These abnormalities were evidently manifested in increased heartbeats, including hypercalcemic and hypoxic perfusion of the isolated hearts. Glucose consumption was raised per each mmHg generated by the ventricular pressure.

Conclusion. the most significant pathogenetic factors of pancreatogenic heart failure include hypoxia, cardiomyocyte membrane destruction, inhibition of sarcolemma Ca-pump, sarcoplasmic reticulum, and mitochondrial dysfunction. The maximum depression of myocardial contractility of the left ventricle is detecting during the first day and in a month after simulated pancreatic necrosis.

Key words: *acute pancreatitis; cardiac failure; cardiac depression*

DOI:10.15360/1813-9779-2016-1-16-25

Введение

Заболеваемость острым панкреатитом неуклонно увеличивается [1, 2], а частота его деструктивных форм достигает 20–45% [3, 4]. При этом летальность остается стабильно высокой и в зависимости от объема поражения pancreas и наличия/отсутствия инфицирования некротических зон колеблется от 15 до 100% [5, 6]. Ведущее значение в развитии летальных исходов при панкреонекрозе придается сердечно-сосудистой и полиорганной недостаточности, возникающим на фоне инфекционно-токсического шока [7]. В ранее проведенных исследованиях нами выявлены нарушения сократимости миокарда в раннем периоде после моделирования острого деструктивного панкреатита [5]. Цель исследования — выявить патогенетические факторы формирования панкреатогенной сердечной недостаточности в ближайшем и отдаленном периодах.

Материал и методы

Исследования проведены на 130 крысах-самцах линии Вистар массой $292 \pm 4,0$ г, разбитых на 4 группы: 3 экспериментальных и 1 контрольную. Животных наркотизировали этиловым эфиром. Исследования проведены с соблюдением принципов гуманного отношения к животным. В трех экспериментальных группах моделировали острый деструктивный панкреатит. За сутки до операции животных лишали пищи, а за 30 мин до проведения эксперимента давали корм, что вызывало усиление процессов пищеварения и способствовало развитию рабочей гиперемии поджелудочной железы. Это позволяло более точно отличать ее от парапанкреатической клетчатки, а также вследствие активации панкреатоцитов и их ферментов способствовало развитию более массивного панкреонекроза и увеличению секреции желчи. В качестве операционного доступа была выбрана срединная лапаротомия. Острый деструктивный панкреатит моделировали путем введения в ткань поджелудочной железы желчи, взятой из желчного протока, из расчета 0,15 мл/кг массы тела с последующей пе-

Introduction

The incidence rate of acute pancreatitis is steadily increasing [1, 2], and the frequency of its destructive forms reaches 20–45% [3, 4]. Meanwhile, the mortality rate remains invariably high and depending on the area affected and the presence/absence of infected necrotic zones within ranges from 15% to 100% [5, 6]. The top position in the lethal outcomes in pancreatic necrosis is given to cardiovascular and multiple organ failure secondary to septic or cardiogenic shock [7]. In previous studies we have detected the alterations in myocardial contractility early after the simulation of acute destructive pancreatitis [5]. The aim of the study is to identify the pathogenic factors for progression of pancreatogenic cardiac failure in the nearest and remote periods.

Materials and Methods

The study was carried out on 130 male Wistar rats (292 ± 4.0 g) divided into 4 groups. The animals were anesthetized with ethyl ether. The studies were conducted in compliance with the principles of humane treatment of animals. Acute destructive pancreatitis was simulated in three experimental groups. The animals were starved a day before the surgery and fed 30 minutes before the study launched that reinforced the digestive processes and facilitated the functional congestion of the pancreas. That allowed distinguishing it more accurately from peripancreatic mass and boosting the development of massive pancreatonecrosis, and the increase of bile secretion due to the activation of pancreatocytes and their enzymes. Midline laparotomy was chosen as a surgical approach. Acute destructive pancreatitis was induced in anesthetized animals by infusion of bile (0.15 ml/kg body weight) taken from the bile duct into the pancreatic tissue followed by ligation of the common bile duct with absorbable suture below the confluence of the pancreatic duct [8]. The animals were taken out of the experiment in 24 hours, 7 days and 1 month after it. The blood samples for biochemical analysis were collected at the same period.

Original Investigations

ревязкой общего желчного протока рассасывающимся шовным материалом ниже впадения в него панкреатического протока [8]. Животных выводили из эксперимента через 24 часа, 7 дней и 1 месяц. В эти же сроки забирали кровь для биохимических исследований.

Для достижения поставленной цели у животных после транстернального разреза извлекали сердца, помещали в охлажденный до $+2^{\circ}\text{C}$ раствор Кребса-Хензеляйта, удаляли предсердия, разрушали проводящую систему сердца, после чего сердца через аорту подключали к перфузионной установке. В полость левого желудочка вводили латексный баллончик постоянного объема, сжимая который сердце осуществляло изоволюмические сокращения с частотой 120 мин⁻¹, навязываемой универсальным электростимулятором ЭСУ-2. Сердца перфузировали ретроградно раствором Кребса-Хензеляйта, насыщенным карбогеном (95% O₂ и 5% CO₂) под давлением 70 мм рт. ст. при 37°C [9]. Давление в левом желудочке измеряли электроманометром ВМТ (Германия) и регистрировали его вместе с первой производной на приборе N338-4П. Через 30 мин перфузии (время, необходимое для стабилизации работы сердца) регистрировали сократительную функцию сердца и одновременно брали пробы перфузата, прошедшего через коронарное русло, в котором унифицированными методами определяли активность аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и глюкозы. Утечку АсАТ из кардиомиоцитов в коронарный проток рассчитывали на 1 г сухой массы миокарда, а потребление глюкозы — на 1 мм рт. ст. развиваемого желудочком давления [10].

В группу I было включено 32 крысы, у которых моделировали тотальный острый деструктивный панкреатит, длительность наблюдения составила 24 часа. Летальные исходы, вызванные острой сердечно-легочной недостаточностью и гнойно-септическими осложнениями, составили 37,5% (12 животных). В группе II длительность наблюдения составила 7 дней с момента моделирования острого деструктивного панкреатита. Из 37 животных погибло 14 крыс (37,8%). В группе III длительность наблюдения составила 30 дней. Из 41 животного погибло 18 крыс (43,9%).

По истечении запланированного срока наблюдения после моделирования острого деструктивного панкреатита у выживших животных под эфирным наркозом извлекали сердца для изучения их сократительной функции [11]. 30-минутная перфузия изолированного изоволюмически сокращающегося сердца оксигенированным раствором Кребса-Хензеляйта устраняет повреждения, вызванные гипоксией препаратов сердца и его подготовкой к перфузии, и восстанавливает систолическое давление, скорости сокращения и скорости расслабления до значений, приводимых в литературе [10, 11]. Когда достигалась стабилизация работы изолированного сердца, использовали ряд приемов, позволявших оценить функциональные резервы миокарда и выявить важнейшие патогенетические факторы панкреатогенной кардиодепрессии:

1) нагрузку ритмом высокой частоты сокращений. При данной пробе увеличивали частоту сокращений сердца до 400 в минуту. Развитие дефекта диастолы при такой нагрузке позволяло оценить сохранность и мощность механизмов, ответственных за транспорт кальция из саркоплазмы в саркоплазматический ретикулум;

To achieve the aim of the study the heart of each experimental animal was removed after the split-sternum incision and perfused with the Krebs-Henseleit buffer cooled to $T+2^{\circ}\text{C}$. The atriums were removed and the cardiac conduction system was destroyed, and then the heart via the aorta was connected to the perfusion unit. The latex balloon with a permanent volume was inserted into the left ventricular cavity; with squeezing this balloon the heart made isovolumic contractions at a frequency of 120 beats/min imposed by a universal electrical stimulator ЭСУ-2. The hearts of rats were retrogradely perfused with the Krebs-Henseleit buffer saturated with carbogen (95% O₂ and 5% CO₂) under the pressure of 70 mmHg and at $t\ 37^{\circ}\text{C}$ [9].

The pressure in the left ventricle was measured by electric manometer BMT (Germany) and registered along with the first derivative at the device N338-4P. In 30 min after perfusion (the time required for cardiac function stabilization) both the cardiac contractile function was recorded and the samples of perfusate passing through the coronary bed were harvested and AST and glucose levels were determined. AST leakage from cardiomyocytes into the coronary flow was calculated per 1g lean myocardium weight, and the glucose consumption was measured per each 1 mmHg developed by the ventricular pressure [10].

Group I included 32 rats, in which the total acute destructive pancreatitis was simulated. Lethal outcomes caused by acute cardio-pulmonary failure and septic complications were 37.5% (12 animals). Group II included animals with the follow-up lasted for 7 days after the simulation of acute destructive pancreatitis. Of 37 animals 14 rats died (37.8%). In group III the follow-up lasted 30 days, of 41 animals 18 rats died (43.9%).

Upon follow-up completed on simulated acute destructive pancreatitis in rats survived under the ether anesthesia the hearts were removed to study their contractile function [11]. Perfusate sampling was carried out along with the registration of the parameters of the left ventricular contractile function. Glucose value and AST activity were determined with the unified methods calculating the glucose intake (1 g wet myocardial mass \times 1 min \times 1 mmHg). AST loss in cardiomyocytes was calculated as following (1g dry myocardial weight \times 1 min of myocardial contraction). Isolated isovolumic rat hearts were perfused with oxygenated Krebs-Henseleit buffer for 30 to eliminate hypoxic damages and restore the systolic blood pressure, and the contraction and relaxation rate to the values presented in the literature [10, 11]. Upon stabilization of the isolated heart work the series of techniques to assess the functional myocardial reserves and identify the most important pathogenetic factors for pancreatogenic cardiac depression:

1) Testing for high frequency rhythmic contractions. While the test performed the heart rate was increased up to 400 per minute. The development of the diastole failure during the test allowed assessing the maintenance and capacity of the mechanisms responsible for calcium transportation from the sarcoplasm into the sarcoplasmic reticulum;

2) Testing for loading the isolated hearts with calcium ions by increasing Ca²⁺ level in the perfusate from 2.5 to 7.5 mmol/l. This test allowed evaluating the efficiency of Ca²⁺ pump function of the sarcolemma and the sarcoplasmic reticulum;

3) hypoxic cardiac perfusion with Krebs-Henseleit buffer for 15 min with pO₂ lowering in 4 times (from 600

2) нагрузку изолированных сердец ионами кальция путем увеличения содержания Ca^{2+} в перфузате с 2,5 до 7,5 ммоль/л. Эта проба позволила оценить эффективность функционирования Ca^{2+} -насоса сарколеммы и саркоплазматического ретикулума;

3) гипоксическую перфузию сердца в течение 15 мин раствором Кребса-Хензеля, достигавшуюся снижением в 4 раза pO_2 (с 600 до 150 мм рт. ст.) в перфузате; реоксигенацию сердец, возобновляя подачу кислорода после гипоксической пробы, что позволяло оценить устойчивость клеточных мембран к действию активных форм кислорода.

В связи с функциональными ограничениями гипоксическая проба была проведена в группе I на 16 сердцах, в группе II — на 18, в группе III — на 20, в группе IV — на 10. Нагрузка ритмом высокой частоты сокращений и гиперкальциевая проба была проведена в группе I на 16 сердцах, в группе II — на 19, в группе III — на 21, в группе IV — на 10.

Группу IV (контроль) составили 20 интактных животных. У всех животных в один день проводили все аналогичные с экспериментальными группами манипуляции.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica v. 6. Нормальность распределения полученных результатов в вариационном ряду оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова, а также согласно правилу двух и трех сигм (σ). Данные, не подчинявшиеся закону нормального (гауссовского) распределения, представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25 и 75 перцентили). При сравнении количественных признаков двух совокупностей несвязанных выборок, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали t -критерий Стьюдента. Критерий Манна-Уитни применяли, если сравниваемые совокупности несвязанных выборок не подчинялись закону нормального распределения. Критерий Вилкоксона использовался при сравнении двух связанных выборок. Критический уровень значимости статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05, так как при этом вероятность различия составляла более 95%.

Результаты и обсуждение

Панкреонекроз вызывал снижение и силовых, и скоростных показателей сократимости левого желудочка изолированного сердца как в ближайшем, так и в отдаленном периоде (табл. 1). Систолическое давление в конце первых суток оказывалось сниженным на 20% по сравнению с контролем, а через 7 и 30 суток — на 28% и 30% соответственно. Диастолическое давление в желудочке в конце первых суток превышало контрольные значения в 1,6 раза, а через 7 и 30 суток — в 1,2 раза. Аналогично изменялись и скоростные показатели сократимости — скорость сокращения и скорость расслабления, уменьшаясь в различные сроки наблюдения на 10–28% по сравнению с контролем.

Снижение силовых и скоростных показателей сократимости, а также повышение конечного

to 150 mmHg) in the perfusate; cardiac reoxygenation with oxygen supply after the hypoxic test to estimate the resistance of the cell membranes to the reactive oxygen species.

Due to the functional limitations the hypoxic test was carried out in the group I ($n=16$), the group II ($n=18$), the group III ($n=20$), and the group IV ($n=10$). Tests for high frequently rhythmic contractions and hyper-calcium test were conducted in the group I ($n=16$); in the group II ($n=19$), in the group III ($n=21$), and in group IV ($n=10$).

Twenty intact animals were included in the group IV (control). The animals from all groups underwent the same manipulation in one day.

Statistic data processing was conducted using the software Statistica 6.0. The normality of distribution of variables was assessed by (a) Kolmogorov-Smirnov criterium, or (b) the rule of two and three sigma (σ). The data, which disobeyed the Gaussian statistics, were presented as Me (LQ; HQ) and interquartile range (25 and 75 percentiles). Student's t -test was exploited to compare the two sets of unrelated samples obeyed the normal distribution. Mann-Whitney test was used when the compared variables from unrelated samples did not obey the rules of normal distribution. A Wilcoxon criterion was used to compare two dependent samples. The critical value for statistical hypothesis test was $P=0.05$, where the probability of differences was over 95%.

Results and Discussion

As shown in Table 1 pancreatic necrosis resulted in reducing the power and speed parameters of left ventricular contractility in the isolated heart both in the nearest and remote periods. Systolic blood pressure at the end of the first day was reduced by 20% compared to the control group, and by 28% and 30% 7 and 30 days later, respectively. Diastolic ventricular pressure at the end of the first day exceeded 1.6 times the control value, and was 1.2-fold higher than the control values when determined on days 7 and 30 post-induction. Contractility rate indices including rate of contractility and rate of relaxation have been similarly altered being decreased in different periods to 10–28% compared to control.

Decreases in contractility power and speed values and increases of left ventricular end diastolic pressure indicate a primary cardiac failure evidently expressed in the early period of the study. However, myocardium relaxation was considerably impaired particularly in the remote periods of the study (30 days) due to energy metabolism violation or damage of the membrane ionic pumps, especially Ca-pump of sarcolemma and sarcoplasmic reticulum, or a consequence of the combined effect of both factors [10]. It was evidently manifested in inducing the high rate of contractions. Thus, in transition from 120 min⁻¹ to 400 min⁻¹ in the control group, a positive inotropic effect (statistically significant increase of the systolic blood pressure by 16%) was observed, and a negative inotropic effect was registered in pancreatic necrosis with the lowering of systolic blood pressure in one

Таблица 1. Влияние острого деструктивного панкреатита на сократительную функцию сердца (Me, LQ; HQ).
Table 1. Effect of acute destructive pancreatitis on the cardiac contractility (Me, LQ; HQ).

Groups of animals	Systolic blood pressure, mm Hg	Diastolic blood pressure, mm Hg	Contractility rate, mm Hg/sec.	Relaxation rate, mm Hg/sec.
1 (n=16)	76.2* (71.3; 81.2)	6.2* (5.4; 6.4)	1291* (1105; 1314)	1105* (1023; 1116)
2 (n=19)	69.3* (64.4; 72.3)	4.7 (4.2; 4.9)	1568* (1413; 1610)	1262 (1123; 1315)
3 (n=21)	67.5* (63.1; 69.5)	4.8* (4.3; 5.2)	1639 (1511; 1702)	1221 (1106; 1301)
Control (n=10)	96.2 (93.1; 98.2)	3.8 (3.6; 3.9)	1779 (1602; 1813)	1342 (1302; 1425)

Note: * — $P < 0.05$ versus control.

Примечание: для таблиц 1, 2: Groups of animals — группы животных; Control — контроль. Systolic blood pressure, mm Hg — систолическое давление, мм рт. ст.; Diastolic blood pressure — диастолическое давление; Contractility rate, mm Hg/sec — скорость сокращения, мм рт. ст./с; Relaxation rate — скорость расслабления. * — $p < 0,05$ по отношению к контролю.

диастолического давления в левом желудочке указывают на первичную сердечную недостаточность, отчетливо выраженную уже в раннем периоде наблюдения. Однако в большей степени нарушается расслабление миокарда, особенно в отдаленные периоды наблюдения (30 суток), что может быть следствием нарушения его энергетического обмена или повреждения мембранных ионных насосов, в первую очередь Са-насоса сарколеммы и саркоплазматического ретикулума, либо следствием сочетанного действия обоих факторов [10].

Особенно отчетливо это проявлялось при навязывании высокого ритма сокращений. Так, при увеличении частоты стимуляции со 120 мин⁻¹ до 400 мин⁻¹ в контроле наблюдался положительный инотропный эффект (статистически значимое увеличение систолического давления на 16%), а на фоне панкреонекроза — отрицательный инотропный эффект: уменьшение систолического давления через сутки в 2,7 раза, а через 7 суток — в 2,3 раза. Диастолическое давление при этом возрастало более чем в 3 раза, свидетельствуя о контрактурах кардиомиоцитов. Через месяц после моделирования панкреонекроза сердца вообще не усваивали столь частый ритм — наблюдалась либо выраженная альтернация сокращений, либо возникла фибрилляция желудочков.

Отрицательный инотропный эффект высокой частоты сокращений, 3-кратное повышение диастолического давления в левом желудочке при внезапном переходе со 120 до 400 сокращений в 1 минуту свидетельствуют о повреждении мембранных механизмов ионного транспорта. Повреждаются, в первую очередь, Са-насос сарколеммы и саркоплазматического ретикулума, Na-Ca-ионообменный механизм, ответственные за быстрое удаление избытка Са²⁺ из саркоплазмы и диастолическое расслабление миокарда.

Это положение подтверждается опытами, в которых сердца перфузировали раствором с повышенным в 3 раза содержанием Са²⁺. Как известно, Са²⁺ играет ключевую роль в процессах ионного транспорта, энергетического метаболизма и взаимодействия с сократительными белками

day later by 2.7, and by 2.3 times after 7 days. Diastolic pressure was increased more than 3-fold, indicating cardiomyocyte contracture. In a month after the simulation of pancreatonecrosis the experimental hearts did not assimilate this high rate of contractions; a marked alternation of contraction rate or ventricular fibrillation was observed.

In fact, the negative inotropic effect of high frequency rate and a triple elevation of the diastolic pressure in the left ventricle in the sudden transition from 120 to 400 contractions in 1 minute evidence the damage of the membrane mechanisms for ion transportation. First of all, Ca-pump of the sarcolemma and sarcoplasmic reticulum and Na-Ca-ion exchange mechanisms responsible for the rapid removal of excessive Са²⁺ from the sarcoplasm and diastolic myocardium relaxation are damaged.

This was confirmed by experiments where the hearts were perfused with a buffer with the triple concentration of Са²⁺. It is known, Са²⁺ plays a key role in ion transportation, energy metabolism and in interaction with contractile proteins, i.e. it determined the processes of contraction and relaxation of the cardiac muscle and, based on the detected violations of myocardial contractile function in necrotizing pancreatitis, it was reasonable to assess the sensitivity of isolated isovolumic contracting hearts taken out at the different period after the simulation of pancreatic necrosis to the changes of Са²⁺ rate in the perfusate. This allows determining the damage of sarcolemma and sarcoplasmic reticulum Ca-pump responsible for the transmembrane transportation of Са²⁺, and the role of these alterations in the development of pancreatogenic cardiac failure.

Increasing of Са²⁺ in the perfusate from 2.5 to 7.5 mmol/l accompanied by moderate positive inotropic effect in the hearts of the control group. In 15 minutes of hyper-calcemic perfusion the systolic left ventricular pressure elevated from 96.2 (93.1; 98.3) mmHg to 114.4 (107.2; 121.4) mmHg, and the diastolic pressure increased 1.6-fold from 3.8 (3.6; 3.9) to 6.3 (5.6; 6.8) mmHg.

Hearts from animals with simulated pancreatic necrosis responded to hyper calcemic perfusion by

ми, т.е. определяет процессы сокращения и расслабления сердечной мышцы. Основываясь на выявленных нарушениях сократительной функции миокарда при панкреонекрозе, целесообразно оценить чувствительность изолированных изоволюмически сокращающихся сердец, взятых в различные сроки после моделирования панкреонекроза, к изменению концентрации Ca^{2+} в перфузионном растворе. Это позволит в известной мере судить о степени повреждения Са-насоса сарколеммы и саркоплазматического ретикулума, ответственного за трансмембранный перенос Ca^{2+} , и роли этих повреждений в формировании панкреатогенной недостаточности сердца.

Увеличение концентрации Ca^{2+} в перфузате с 2,5 до 7,5 ммоль/л сопровождалось умеренно выраженным положительным инотропным эффектом сердец контрольных животных. Через 15 минут гиперкальциевой перфузии систолическое давление в левом желудочке у них возрастало с 96,2 (93,1; 98,3) мм рт. ст. до 114,4 (107,2; 121,4) мм рт. ст., а диастолическое возрастало в 1,6 раза — с 3,8 (3,6; 3,9) до 6,3 (5,6; 6,8) мм рт. ст.

Сердца животных, у которых моделировали панкреонекроз, на гиперкальциевую перфузию отвечали отрицательным инотропным эффектом — статистически значимым снижением систолического давления в желудочке в 2 раза и 3-кратным увеличением диастолического давления через сутки, 4-кратным — через 7 суток: с 4,7 (4,2; 4,9) до 17,5 (16,4; 18,6) мм рт. ст.

Таким образом, после моделирования панкреонекроза повышается зависимость сократительной функции сердца от концентрации Ca^{2+} в перфузионном растворе. Как известно, в нормальных условиях увеличение содержания Ca^{2+} во внешней среде и саркоплазме активирует Са-АТФазу сарколеммы и саркоплазматического ретикулума, увеличивает темп поглощения Ca^{2+} этими мембранными структурами. Нарушение этой нормальной реакции у сердец животных, перенесших панкреонекроз, свидетельствует о повреждении Са-насоса, ответственного за сокращение и расслабление сердечной мышцы.

Другим очень важным патогенетическим фактором панкреатогенной кардиодепрессии является гипоксия. Правомерность этого положения подтверждают результаты перфузии изолированных сердец раствором Кребса-Хензеляйта, pO_2 которого был снижен с 600 до 150 мм рт. ст. В контрольной серии в первую минуту гипоксической перфузии снижение систолического давления происходило без увеличения диастолического давления, т.е. без явлений контрактуры. Со 2–3-й минуты диастолическое давление начинало постепенно возрастать с 3,8 (3,6; 3,9) мм рт. ст. и через 15 мин достигало 11,4 (10,5; 12,1) мм рт. ст., что свидетельствует о постепенном развитии

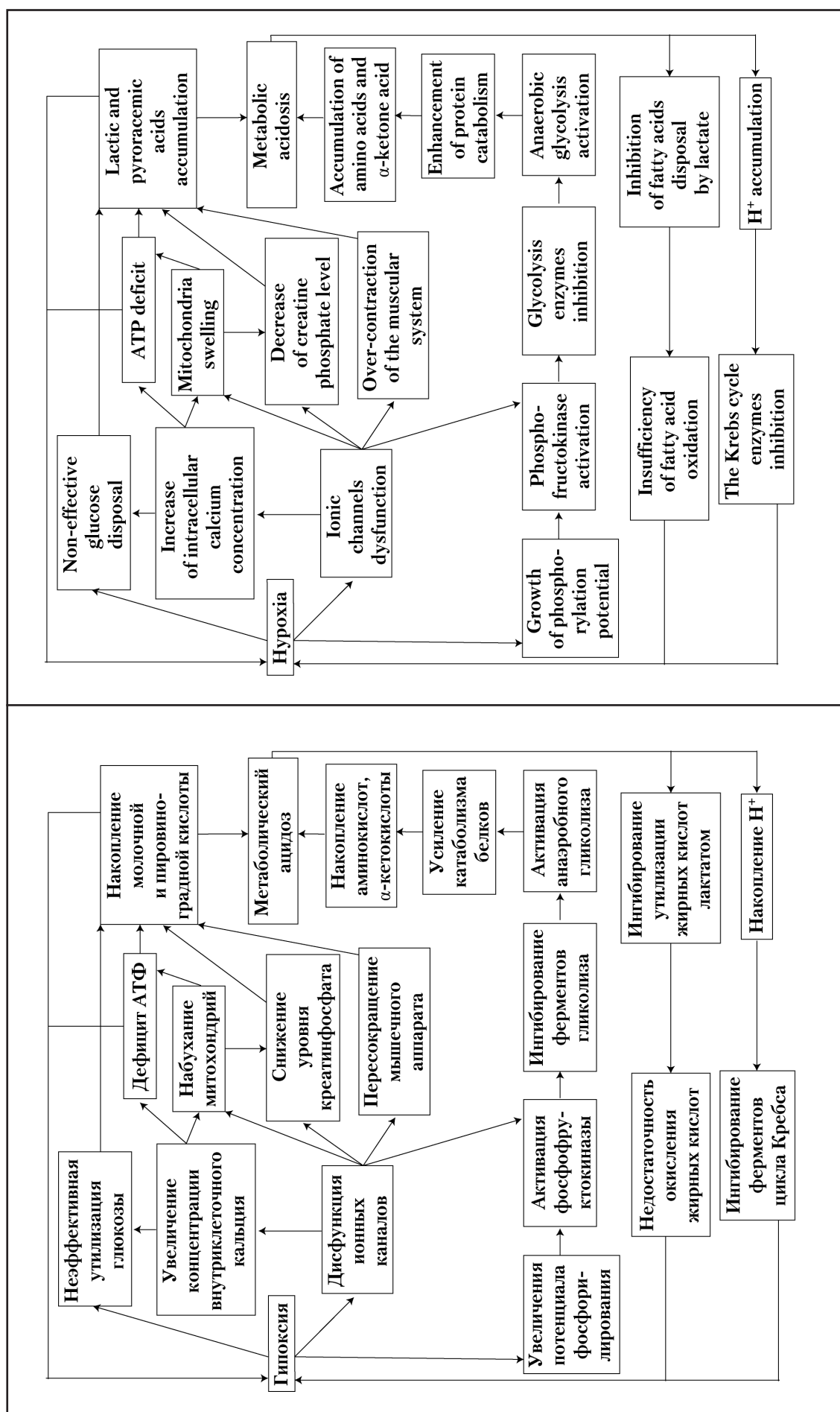
the negative inotropic effect, doubled statistically significant reduction of the systolic pressure in the ventricle, and tripled increase of the diastolic blood pressure in a day and 4-fold increase after 7 days, from 4.7 (4.2; 4.9) to 17.5 (16.4; 18.6) mm Hg.

Thus, after the simulation of pancreatonecrosis, the dependence of the cardiac contractile function from Ca^{2+} concentration in perfusate was increased. It is known that in the normal conditions the increase level of Ca^{2+} in the ambient and in the sarcoplasm activates Ca-ATPase of sarcolemma and sarcoplasmic reticulum and magnifies the absorption rate of Ca^{2+} by the membrane structures. Alteration of this response in the hearts of rats with induced pancreatic necrosis demonstrate the damage of the Ca-pump responsible for the contraction and relaxation of the heart muscle.

Hypoxia is another important pathogenetic factor of development of pancreatogenic cardiac depression. The validity of this point was verified by studies of isolated hearts perfusion with Krebs-Henseleit buffer without glucose, in which pO_2 dropped down from 600 to 150 mmHg. In the control group during the first minute of the hypoxic perfusion the lowering of the systolic blood pressure was not accompanied by the raising the diastolic blood pressure, i.e., without the phenomena of contracture. 2–3 minutes later the diastolic pressure started gradual elevation from 3.8 (3.6; 3.9) mmHg and in 15 minutes it reached 11.4 (10.5; 12.1) mmHg, indicating the gradual development of hypoxic contracture. Systolic blood pressure dropped by 2.1-fold.

In the hearts of experimental animals with pancreatic necrosis the damaging effect of hypoxia was most significant; contractures developing from the first minutes of hypoxic perfusion stipulated the elevation of the diastolic blood pressure by 2.6 times in a day, by 2.9 times in 7 days, and by 2.3 times in a month. A 15-minute hypoxic perfusion significantly reduced the systolic pressure in the left ventricle by 1.8-fold in a day, by 1.9-fold in 7 days, and by 2.8-fold from 67.5 (63.1; 69.5) mmHg to 24.1 (22.5; 26.6) mm Hg in a month. Thus, pancreatic necrosis reduces the cardiac resistance to hypoxia, particularly at the level of Ca-pump of sarcolemma and sarcoplasmic reticulum.

Recovery of myocardial contractile function of the left ventricle after hypoxia elimination went differently. Reoxygenation after hypoxic perfusion enhanced the reduction of systolic and diastolic pressure in the left ventricle of the isolated rat hearts. Analyzing the recovery process after hypoxic cardiac perfusion the dependence from the simulation of acute destructive pancreatitis was clearly observed. Elevation of the systolic blood pressure by 5%–10% in average was evidently registered. On the other hand, the diastolic pressure decreased in dynamics and tended to the parameters in the control group, however, it was less than the restoration of the car-



Блок-схема формирования порочного круга на клеточном уровне вследствие развития кислородной недостаточности кардиомиоцитов (на основе литературных данных и результатов собственных исследований).
Flow chart for a vicious circle formation at the cellular level due to the development of cardio myocytes hypoxia (based on the data published and the results of studies carried out).

Таблица 2. Влияние острого деструктивного панкреатита на потребление глюкозы и выход АсАТ в коронарный проток изолированных сердец ($M \pm \sigma$).**Table 2. Effect of acute destructive pancreatitis on glucose intake and AST release into the coronary flow of isolated hearts ($M \pm \sigma$).**

Groups of animals	Glucose, nM/min·g	AST, IU/min·g
1 ($n=16$)	126±6.8*	404±20.1*
2 ($n=19$)	132±7.2*	343±18.4*
3 ($n=21$)	145±9.3*	213±16.5
Control ($n=10$)	109±5.8	216±10.1

Note: * — $P < 0.05$ versus control.**Примечание:** Glucose, nM/min·g — глюкоза, нмоль/мин·г; AST, IU/min·g — АсАТ, МЕ/мин·г. * — $p < 0,05$ по отношению к контролю.

гипоксической контрактуры. Систолическое давление уменьшилось в 2,1 раза.

Для сердец животных с панкреонекрозом повреждающий эффект гипоксии оказался более глубоким: контрактуры, развиваясь с первых минут гипоксической перфузии, обуславливали повышение диастолического давления через сутки в 2,6 раза, через 7 суток — в 2,9 раза, а через месяц — 2,3 раза. 15-минутная гипоксическая перфузия статистически значимо уменьшала систолическое давление в левом желудочке сердца через сутки в 1,8 раза, через 7 суток — в 1,9 раза, а через месяц — в 2,8 раза: с 67,5 (63,1; 69,5) мм рт. ст. до 24,1 (22,5; 26,6) мм рт. ст. Таким образом, панкреонекроз снижает резистентность сердца, в частности — Са-насоса сарколеммы и саркоплазматического ретикулума, к гипоксии.

Восстановление сократительной функции миокарда левого желудочка сердца после устранения гипоксии происходило по-разному. В частности, реоксигенация после гипоксической перфузии способствовала повышению систолического и снижению диастолического давления в левом желудочке изолированных сердец крыс. При анализе восстановления силовых показателей сокращений сердца после гипоксической перфузии четко прослеживали зависимость от момента моделирования острого деструктивного панкреатита. Отчетливо выявляли увеличение систолического давления в среднем на 5–10%. Диастолическое давление, напротив, в динамике уменьшалось и стремилось к показателям контрольной группы, однако это происходило в меньшей степени, чем восстановление систолической функции сердец, свидетельствуя о сохранении остаточных явлений гипоксической контрактуры миокарда. Закономерно предположить, что столь разнонаправленные временные изменения чувствительности к гипоксии изолированных сердец животных, у которых моделировали острый деструктивный панкреатит, индуцированы дополнительным воздействием панкреатогенных факторов (рисунок), появившихся в крови и тканях этих животных и оказывавших кардиотропное влияние [12].

В этих же исследованиях одновременно с регистрацией сократительной функции миокарда

diac systolic function, indicating on keeping of residual effects of hypoxic myocardial contraction. It has been supposed, that such multidirectional temporary changes of sensitivity to hypoxic isolated rat hearts, where acute destructive pancreatitis was simulated, were induced by additional pancreatogenic factors exposure (Figure), detected in the blood and tissues of animals and having a cardiotropic impact [12].

In these studies, myocardial contractile function and AST release from cardiomyocytes into the coronary flow and glucose consumption by 1 mmHg of the developed pressure were observed (Table. 2). Leakage of enzymes into the coronary flow a day after the simulation of pancreatic necrosis was increased by 87%, and by 59% was over a control values a week later, reflecting alterations of sarcolemma of cardiomyocytes and AST release in the perfusate, which did not differ from the control group a month later.

Under cardiac hypersensitivity to oxygen insufficiency, the deficit of energy supply for cardiomyocytes, inadequate mechanisms for maintaining of Ca optimum concentration in cytoplasm became evident. It could be assumed that the mitochondrial dysfunction and destabilization of mitochondrial membranes [13, 14] exacerbate the deficit of energy-rich synthesis [15, 16]. Mitochondrial dysfunction did exist because of evidence of wasteful consumption of glucose by the rat hearts in necrotizing pancreatitis: a day intake of glucose by the left ventricle per each mmHg increased by 21% in 7 days and by 33% in a month later.

Conclusion

Most important pathogenetic factors of metabolic alterations in the heart that led to development of prolong cardiac depression included hypoxia, cardiomyocyte membrane destruction, mitochondrial dysfunction, early endotoxemia and reactive oxidative species [12, 14]. These factors and their negative impact on the heart were discovered by assessing the impact of blood components of rats with acute destructive pancreatitis on the intact hearts. Presumably, the influence of various pathogenic factors on the metabolism and the structural integrity

определяли выход АсАТ из кардиомиоцитов в коронарный проток и потребление глюкозы на 1 мм рт. ст. развиваемого давления (табл. 2). Утечка ферментов в коронарный проток через сутки после моделирования панкреонекроза возросла на 87%, через неделю превышала контрольный уровень на 59%, что косвенно указывало на повреждение сарколеммы кардиомиоцитов, а через месяц выход АсАТ в перфузат не отличался от контроля.

В условиях повышенной чувствительности сердца к кислородной недостаточности, дефицита субстратов энергетического обеспечения кардиомиоцитов, неполноценности механизмов поддержания оптимальной концентрации цитоплазматического кальция логично предположить дисфункцию митохондрий и дестабилизацию митохондриальных мембран [13, 14], которые, с одной стороны, еще больше усиливают дисбаланс внутриклеточного кальция, с другой стороны, усугубляют дефицит синтеза макроэргов [15, 16]. Отражением митохондриальной дисфункции было неэкономное расходование глюкозы сердцами животных при панкреонекрозе: через сутки потребление глюкозы на каждый мм рт. ст. развиваемого левым желудочком сердца возрастало на 15,5%, через 7 суток — на 21%, а через месяц — на 33%.

Заключение

Таким образом, выявленное временное различие силовых и скоростных параметров сокращения миокарда, утечки ферментов в коронарный проток и утилизации глюкозы митохондриями может быть обусловлено различным по времени влиянием на миокард патогенных факторов панкреатогенного и непанкреатогенного происхождения [12]. На наш взгляд, важнейшими патогенетическими факторами функционально-метаболических повреждений сердца с формированием длительной кардиодепрессии являются гипоксия, деструкция мембран кардиомиоцитов, нарушение биоэнергетики вследствие митохондриальной дисфункции, а также — эндотоксемия и активация процессов свободно-радикального окисления [12, 14]. Эти факторы и их негативное влияние на сердце были установлены благодаря оценке изолированного влияния компонентов крови крыс с острым деструктивным панкреатитом на интактные сердца. Вероятно, влияние различных патогенных факторов на метаболизм и структурную целостность кардиомиоцитов со временем не уменьшается, а приобретает новые количественные и качественные проявления. В дополнение к известным механизмам, оказывающим повреждающее действие на миокард при остром развитии воспаления поджелудочной железы присоединяются новые патогенные факторы, такие как аутоиммунная вторичная альтерация и разрастание соединительной ткани [17].

of cardiomyocytes have not been reduced during the time, however, new quantitative and qualitative manifestations are observed. In addition to known mechanisms of myocardium damage in rats with induced acute pancreatitis, novel pathogenic factors such as autoimmune secondary alteration and connective tissue proliferation have been added [17].

Our study revealed the regularities in power and rate parameters in isolated isovolumic heart in rats under permanent monitoring of the main parameters of heart function during prolonged time frame following modeling of acute destructive pancreatitis.

The shifting of key pathogenetic factors effecting the cardiac tissue was registered. In acute pancreatitis, the signs of cardiomyocyte alterations by aggressive pancreatic enzymes, a myocardial depression factor, and toxins initially prevailed. Hypoxic damages and inflammation lesions of vascular wall manifested in excessive proliferation of the connective tissue cells in the myocardium seem to play a dominant role in acute pancreatitis [12, 17]. Then, the changing the dominant dysfunction of myocardium in early acute destructive pancreatitis to systolic dysfunction occurred, that could be considered as a consequence of a later inflammation within the pancreas. However, if the diastolic dysfunction was mainly associated with damage of calcium pumps and imbalance in the system of pro- and anti-oxidants [17, 18], the cause of systolic dysfunction appeared to be alterations in oxidation-reduction processes stipulating the inefficient metabolism of glucose as an energy substrate.

В ходе проведенного исследования были выявлены закономерности изменения силовых и скоростных параметров работы изолированного изоволюмически сокращающегося сердца крыс с контролем основных параметров его функционирования и учета давности моделирования острого деструктивного панкреатита и стадии его развития. Отмечена стадийная смена ключевых патогенетических факторов, воздействующих на сердечную ткань. В период острого воспаления превалируют признаки альтеративного повреждения кардиомиоцитов агрессивными компонентами — панкреатическими ферментами, фактором депрессии миокарда, токсинами, в период же хронизации процесса в поджелудочной железе превалирующую роль приобретают гипоксические повреждения и воспалительное поражение сосудистой стенки, реализующиеся в избыточном разрастании соединительной ткани в миокарде [12, 17]. Отмечена характерная смена превалирования диастолической дисфункции миокарда на ранних сроках острого деструктивного панкреатита на систолическую дисфункцию, наблюдаемую на поздних стадиях развития воспаления в подже-

лудочной железе. При этом, если диастолическая дисфункция в основном связана с повреждением кальциевых насосов и дисбалансом в системе про- и антиоксидантов [18, 19], то причиной систоли-

ческой дисфункции являются нарушения окислительно-восстановительных процессов, обуславливающих неэффективное использование глюкозы в качестве энергетического субстрата.

Литература

1. Литвин А.А. Инфицированный панкреонекроз. М.: Интеграция; 2011: 240.
2. Порядин Г.В., Власов А.П., Анашкин С.Г., Власова Т.И., Потянова И.В., Турыгина С.А. Системные факторы прогрессирования острого панкреатита. *Патол. физиология и эксперим. терапия*. 2015; 59 (2): 46–50. PMID: 26571807
3. Кригер А.Г., Владимиров В.Г., Андрейцев И.Л., Серегин Р.В., Макарова Е.Е. Лечение панкреонекроза с поражением забрюшинной клетчатки. *Хирургия. Журн. им. Н.И.Пирогова*. 2004; 2: 18–22. PMID: 14983147
4. Алиев С.В., Алиев Э.С. Нерешенные вопросы хирургической тактики при инфицированном панкреонекрозе. *Хирургия. Журн. им. Н.И.Пирогова*. 2015; 8: 64–69. PMID: 26410891
5. Винник Ю.С., Миллер С.В., Теплякова О.В. Совершенствование дифференциальной диагностики и прогнозирования течения деструктивных форм острого панкреатита. *Вестн. хирургии им. И.И.Грекова*. 2009; 168 (6): 16–20. PMID: 20209984
6. Werner J., Büchler M.W. Infections complications in necrotizing pancreatitis. *Zentrabl. Chir*. 2007; 132 (5): 433–437. PMID: 17907086
7. Кизжаева Е.С. Системные шкалы в оценке полиорганной недостаточности при остром панкреатите. *Рос. мед. журнал*. 2006; 4: 49–52.
8. Долгих В.Т., Морозов С.В., Иванов К.А., Ершов А.В. Способ моделирования панкреонекроза в эксперименте. Патент РФ на изобретение № 2290702.
9. Fallen E.L., Elliot W.C., Gorlin R. Apparatus for study of ventricular function and metabolism in the isolated perfused rat heart. *J. Appl. Physiol*. 1967; 22 (4): 836–839. PMID: 6023203
10. Долгих В.Т. Повреждение и защита сердца при острой смертельной кровопотере. Омск; 2002: 203.
11. Меерсон Ф.З., Долгих В.Т. Предупреждение повреждений сердца оксигенирующим натрием при терминальных состояниях, вызванных острой кровопотерей. *Кардиология*. 1982; 22 (10): 38–44. PMID: 7176316
12. Ершов А.В., Долгих В.Т. Влияние панкреатогенных факторов на сократимость и метаболизм изолированного сердца крысы. *Сибирский мед. журнал*. 2015; 6: 23–30.
13. Долгих В.Т., Ершов А.В., Шикунова Л.Г. К патогенезу сердечной недостаточности при панкреонекрозе (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2009; 5 (3): 39–44. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-3-39>
14. Окороков А.И. Диагностика болезней сердца и сосудов. М.: Медицинская литература; 2002: 464.
15. Толстой А.Д., Гольцов Р.В. Возможности «обрыва» деструктивного процесса на ранних стадиях панкреонекроза. *Общая реаниматология*. 2005; 1 (3): 58–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-3-58-60>
16. Давыдов В.Г. Роль апоптоза ацинарных клеток поджелудочной железы в патогенезе острого панкреатита. *Казанский мед. журнал*. 2004; 85 (5): 377–379.
17. Ершов А.В. Роль гипоксических повреждений миокарда в развитии сердечной недостаточности при панкреонекрозе. *Патол. физиология и эксперим. терапия*. 2009; 4: 17–20. PMID: 20143525
18. Lalmanach G., Naudin C., Lecaillie F., Fritz H. Kininogens: more than cysteine protease inhibitors and kinin precursors. *Biochimie*. 2010; 92 (11): 1568–1579. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2010.03.011>. PMID: 20346387

Поступила 05.09.2015

References

1. Litvin A.A. Infitsirovannyi pankreonekroz. [Infected pancreonecrosis]. Moscow: Integratsiya; 2011: 240. [In Russ.]
2. Poryadin G.V., Vlasov A.P., Anashkin S.G., Vlasova T.I., Potyanova I.V., Turygina S.A. Sistemnye faktory progressirovaniya ostrogo pankreatita. [Systemic factors of acute pancreatitis advance]. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya*. 2015; 59 (2): 46–50. PMID: 26571807. [In Russ.]
3. Kriger A.G., Vladimirov V.G., Andreitsev I.L., Seregin R.V., Makarova E.E. Lechenie pankreonekroza s porazheniem zabryushinnoi kletchatki. [Treatment of pancreonecrosis with lesion of retroperitoneal adipose tissue]. *Khirurgiya. Zhurnal Imeni N.I.Pirogova*. 2004; 2: 18–22. PMID: 14983147. [In Russ.]
4. Aliev S.V., Aliev E.S. Nereshennyye voprosy khirurgicheskoi taktiki pri infitsirovannom pankreonekroze. [Unsolved issues of surgical treatment of infected pancreonecrosis]. *Khirurgiya. Zhurnal Imeni N.I.Pirogova*. 2015; 8: 64–69. PMID: 26410891. [In Russ.]
5. Vinnik Yu.S., Miller S.V., Teplyakova O.V. Sovershenstvovanie differentsialnoi diagnostiki i prognozirovaniya techeniya destruktivnykh form ostrogo pankreatita. [Improvement of differential diagnostics and prognostication of the course of destructive forms of acute pancreatitis]. *Vestnik Khirurgii Imeni I.I.Grekova*. 2009; 168 (6): 16–20. PMID: 20209984. [In Russ.]
6. Werner J., Büchler M.W. Infections complications in necrotizing pancreatitis. *Zentrabl. Chir*. 2007; 132 (5): 433–437. PMID: 17907086
7. Kizhaeva E.S. Sistemnye shkaly v otsenke poliorgannoi nedostatochnosti pri ostrom pankreatite. [Systemic scales in the evaluation of multipleorgan dysfunction in acute pancreatitis]. *Rossiyskiy Meditsinskiy Zhurnal*. 2006; 4: 49–52. [In Russ.]
8. Dolgikh V.T., Morozov S.V., Ivanov K.A., Ershov A.V. Sposob modelirovaniya pankreonekroza v eksperimente. Patent RF na izobretenie № 2290702. [Methods of pancreonecrosis experimental modelling. RF patent for invention № 2290702]. [In Russ.]
9. Fallen E.L., Elliot W.C., Gorlin R. Apparatus for study of ventricular function and metabolism in the isolated perfused rat heart. *J. Appl. Physiol*. 1967; 22 (4): 836–839. PMID: 6023203
10. Dolgikh V.T. Povrezhdenie i zashchita serdtsa pri ostroi smertelnoi krvopotere. [Heart damage and protection in acute lethal blood loss]. Омск; 2002: 203. [In Russ.]
11. Meyerson F.Z., Dolgikh V.T. Preduprezhdenie povrezhdenii serdtsa oksibutiratom natriya pri terminalnykh sostoyaniyakh, vyzvannykh ostroi krvopotere. [Prevention of heart damage of sodium oxybutyrate in terminal states caused by acute blood loss]. *Kardiologiya*. 1982; 22 (10): 38–44. PMID: 7176316. [In Russ.]
12. Ershov A.V., Dolgikh V.T. Vliyanie pankreatogennykh faktorov na sokratimost i metabolism izolirovannogo serdtsa krysy. [Influence of pancreatogenic factors on isolated rat heart contractility and metabolism]. *Sibirskiy Meditsinskiy Zhurnal*. 2015; 6: 23–30. [In Russ.]
13. Dolgikh V.T., Ershov A.V., Shikunova L.G. K patogenezu serdechnoi nedostatochnosti pri pankreonekroze (eksperimentalnoe issledovanie). *Obshchaya Reanimatologiya*. [To the pathogenesis of heart failure in pancreonecrosis: experimental study. *General Reanimatology*]. 2009; 5 (3): 39–44. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-3-39>. [In Russ.]
14. Okorokov A.I. Diagnostika boleznei vnutrennikh organov. t.6. Diagnostika boleznei serdtsa i sosudov. [Diagnosis of internal diseases. v.6. Diagnosis of heart and vascular diseases]. Moscow: Meditsinskaya Literatura; 2002: 464. [In Russ.]
15. Tolstoy A.D., Goltsov R.V. Vozmozhnosti «obryva» destruktivnogo protsesa na rannikh stadiyakh pankreonekroza. *Obshchaya Reanimatologiya*. [The potentialities of abolition of a destructive process in early pancreonecrosis. *General Reanimatology*]. 2005; 1 (3): 58–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-3-58-60>. [In Russ.]
16. Davydov V.G. Rol apoptoza atsinarnykh kletok podzheludochnoi zhelezy v patogeneze ostrogo pankreatita. [Role of apoptosis of acinar pancreatic cells in the pathogenesis of acute pancreatitis]. *Kazanskiy Meditsinskiy Zhurnal*. 2004; 85 (5): 377–379. [In Russ.]
17. Ershov A.V. Rol gipoksicheskikh povrezhdenii miokarda v razvitiy serdechnoi nedostatochnosti pri pankreonekroze. [Role of myocardial hypoxic lesions in the development of heart failure in the presence of pancreonecrosis]. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya*. 2009; 4: 17–20. PMID: 20143525. [In Russ.]
18. Lalmanach G., Naudin C., Lecaillie F., Fritz H. Kininogens: more than cysteine protease inhibitors and kinin precursors. *Biochimie*. 2010; 92 (11): 1568–1579. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2010.03.011>. PMID: 20346387

Submitted 05.09.2015