© В. В. Савельев, М. М. Винокуров, Б. М. Кершенгольц, 2018
УДК 616.37-002.4-07:577.213.3-001
DOI: 10.24884/0042-4625-2018-177-1-25-30

В. В. Савельев¹, М. М. Винокуров¹, Б. М. Кершенгольц²

ПРЕДИКТОРНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТОК КРОВИ В РАННЕЙ ДИАГНОСТИКЕ ИНФИЦИРОВАННОГО ПАНКРЕОНЕКРОЗА

¹ Кафедра факультетской хирургии, урологии, онкологии и оториноларингологии (зав. – проф. М. М. Винокуров), Медицинский институт «Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова», г. Якутск
² Лаборатория экологической и медицинской биохимии, биотехнологий и радиобиологии (зав. – канд. биол. наук Е. С. Хлебный), «Институт биологических проблем криолитозоны» Сибирского отделения РАН, г. Якутск

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Оценка предикторной значимости повреждения ДНК моноклеарных клеток крови у больных с панкреонекрозом. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Работа основана на анализе результатов комплексного лечения 497 больных с панкреонекрозом и у которых проводились исследования ДНК повреждения моноклеарных клеток крови методом гель-электрофореза (метод «ДНК-комет»). **РЕЗУЛЬТАТЫ.** В ходе исследования удалось внедрить и эффективно использовать на практике метод «ДНК-комет» в ранней диагностике развития панкреатогенной инфекции. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Внедрение метода позволило снизить количество необоснованных оперативных вмешательств в стерильную фазу панкреонекроза в 1,9 раза и, наряду с комплексными лечебными мероприятиями, снизить уровень общей летальности с 11,1 до 3,9 %.

Ключевые слова: панкреонекроз, моноклеарные клетки крови, метод «ДНК-комет»

V. V. Savelyev¹, M. M. Vinokurov¹, B. M. Kershengolts²

Predictory significance of DNA damage to mononuclear blood cells in early diagnostics of infected pancreatic necrosis

¹ Department of faculty surgery, urology, oncology and otorhinolaryngology, Institute of Medicine of Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «M. K. Ammosov North-Eastern Federal University», Yakutsk; ² Laboratory of ecological and medical biochemistry, biotechnology and radiobiology Federal State Budgetary Educational Institution of Science «Institute for Biological Problems of Cryolithozone of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences», Yakutsk

OBJECTIVE. The evaluation of predictive significance of DNA damage of mononuclear blood cells in patients with pancreatic necrosis. **MATERIAL AND METHODS.** The work is based on the analyzing the results of the complex treatment of 497 patients with pancreatic necrosis, and in whom DNA damage of mononuclear blood cells was studied by the method of the gel-electrophoresis («DNA-comet» method). **RESULTS.** In the course of the research, it was possible to introduce and effectively use the «DNA-comet» method in the early diagnostics of pancreatogenic infection. **CONCLUSION.** The introduction of the method allowed reducing the number of unreasonable surgical interventions in the sterile phase of pancreatic necrosis into 1.9 times, and along with complex therapeutic measures, to reduce the level of overall mortality from 11.1 to 3.9 %.

Keywords: pancreatic necrosis, mononuclear blood cells, the method of «DNA-comet»

Введение. Острый панкреатит, особенно его деструктивные формы, является одной из тяжелых хирургических патологий органов брюшной полости и относится к одной из важнейших проблем современной неотложной абдоминальной хирургии [10, 11, 15, 18, 23]. Об этом свидетельствуют как отсутствие единых и согласованных взглядов в выборе консервативной и хирургической тактик, так и значительная вариабельность количества послеоперационных осложнений и уровня летальности при этом тяжелом заболевании в различных хирургических клиниках [1, 5, 25]. Как утверждают [6, 11, 13, 21], несмотря на достигнутые успехи в совершенствовании диагностики, интенсивной терапии, хирургических методов лечения, общая летальность при панкреонекрозе на протяжении последнего десятилетия остается на высоком уровне

(от 10 до 30 %), а при распространенных инфицированных его формах достигает 85 % и более. Изменилась и структура летальности: ранее большая часть летальных исходов приходилась на ферментативную фазу панкреонекроза, в настоящее время пациенты чаще умирают в поздних стадиях заболевания, вследствие присоединения инфекции и развития панкреатогенного сепсиса [6, 9, 12].

По данным ряда авторов [2, 6, 19], инфицирование зон некротической деструкции развивается у 30–70 % больных панкреонекрозом и является одним из основных факторов риска летального исхода. Ранняя диагностика инфицирования зон некротической деструкции представляет на сегодняшний день значительные трудности, что зачастую приводит к выбору необоснованной тактики ведения и лечения. По мнению некоторых авторов

[6, 14], удельный вес диагностических ошибок при верификации инфекционных осложнений панкреонекроза достигает 40 % и более. Учитывая, что панкреонекроз сопровождается системной воспалительной реакцией даже при отсутствии инфекции, а традиционно используемые клинико-лабораторные тесты не являются достаточно специфичными и чувствительными в диагностике развития панкреатогенной инфекции, весьма актуальным является поиск новых эффективных маркёров развития инфекционного процесса [6, 24]. В последнее время особое внимание исследователей обращено на новые методы диагностики, с большой долей вероятности позволяющие дифференцировать стерильный и инфицированный панкреонекроз: определение уровня прокальцитонина и пресептина, тонкоигольная аспирационная биопсия зон некротической деструкции под ультразвуковым или КТ-контролем и др. [4, 6]. Однако и в настоящее время место этих методов в комплексной диагностике панкреатогенной инфекции окончательно не определено.

Материал и методы. Представленная работа основана на анализе результатов комплексного лечения 497 больных с панкреонекрозом в возрасте от 15 до 85 лет, мужчин – 352 (70,8 %), женщин – 145 (29,2 %), находившихся на лечении в Центре экстренной медицинской помощи Республики Саха (Якутия) (хирургические отделения Республиканской больницы № 2) в период с 2010 по 2017 г. Диагноз «Панкреонекроз и его осложнения» верифицированы на основании комплексного обследования, включавшего данные физикальных, инструментальных и лабораторных методов исследования. Кроме того, учитывая варианты развития патологического процесса при панкреонекрозе [12], все больные со стерильным панкреонекрозом были разделены на две группы, в зависимости от клинико-патоморфологической формы осложнения: группа «А» – больные с ферментативным перитонитом – 188 (37,8 %), группа «Б» – больные с формированием парапанкреатического инфильтрата – 309 (62,2 %).

ДНК повреждения, уровень апоптотических, некротических мононуклеарных клеток крови больных панкреонекрозом оце-

нивали методом гель-электрофореза изолированных клеток (метод «ДНК-комет») [17, 20]. Полученные с микропрепаратов изображения «ДНК-комет» анализировали с использованием программного обеспечения «CASP 2.2.1» (CaspLab, USA) [3]. Так же, как и некоторые авторы [3, 16], в качестве показателя поврежденности ДНК чаще всего использовали длину «хвоста», процентное содержание ДНК в «хвосте» или их произведение – так называемый «момент хвоста». Апоптотические «ДНК-кометы» идентифицировали как специфичные ДНК, «ДНК-кометы» с диффузным «хвостом» и практически отсутствующей «головой», а некротические – как широкие диффузные «ДНК-кометы» неправильной формы (рис. 1, 2). Также представлены изображения неповрежденных мононуклеарных клеток здорового донора (рис. 3).

Выявление таких атипичных «ДНК-комет» рассматривалось как косвенный показатель, соответственно, апоптотической или некротической гибели клеток. В микропрепаратах «ДНК-комет» часто выявлялись атипичные «ДНК-кометы», с отсутствующей или практически отсутствующей «головой» и широким диффузным «хвостом», получившие название ghost cells или hedgehogs [22], их выделяли в отдельную категорию и рассматривали отдельно. «ДНК-кометы» сходной морфологии обнаруживали в первой фазе панкреонекроза. Механизм их возникновения, по-видимому, связан с выраженной эндогенной интоксикацией, мощными окислительными процессами, которые и обуславливают появление клеток такого типа [3] (рис. 4). В дальнейшем при обнаружении таких клеток их классифицировали как «ДНК-кометы» «цитотоксических» клеток.

Статистическая обработка материала произведена с использованием статистической программы «StatPlus 2007» для операционной системы «Microsoft Office 2007», а также программного пакета «IBM.SPSS.Statistiks.v22». При оценке всей совокупности вычислялись средние значения (μ) и стандартное отклонение (σ), коэффициент достоверности отличий (p) определялся по критерию Ньюмена–Кейлса.

Результаты. Как было уже указано, наряду с общеклиническими методами лабораторных исследований у больных панкреонекрозом, мы оценивали процесс повреждения ДНК, уровень «цитотоксических», апоптотических и некротических клеток методом гель-электрофореза изолированных мононуклеарных клеток крови (метод «ДНК-

Рис. 1. «ДНК-кометы» апоптотических клеток

Рис. 2. «ДНК-кометы» некротических клеток

Рис. 3. Мононуклеарные клетки здорового донора

Рис. 4. «ДНК-кометы» «цитотоксических» клеток

комет»). Все показатели оценивали на 1-е, 3-и, 7-е, 10-е и 15-е сутки от начала лечения в клинике.

Оценка уровня «цитотоксических», некротических и апоптотических «ДНК-комет» мононуклеарных клеток крови у пациентов с различными клинико-патоморфологическими формами внутрибрюшных осложнений стерильного панкреонекроза показала, что характер вышеуказанных изменений, прежде всего, зависел от клинико-патоморфологической формы осложнения заболевания, распространённости и выраженности воспалительно-деструктивных процессов, которые фиксировались уже с 1-х суток поступления больного в стационар.

Полученные результаты (таблица) указывали на то, что в первые 5–7 суток от момента начала заболевания происходили значимые изменения в крови больных панкреонекрозом, в значительной степени это касалось «цитотоксических» «ДНК-комет», уровень которых стабильно повышался. В то же время значения некротических и апоптотических «ДНК-комет» оставались долгое время неизменными, с некоторым превышением доли апоптотических клеток над некротическими на 3-и сутки от момента заболевания и скачком уровня некротических клеток на 7-е сутки. В последующие дни (10-е, 15-е сутки) наблюдался некоторый разброс средних значений,

Динамика содержания «ДНК-комет» в плазме крови больных со стерильными клинико-патоморфологическими формами панкреонекроза

Клинико-патоморфологическая форма осложнения панкреонекроза	ДНК-повреждения мононуклеарных клеток крови		
	«цитотоксические» «ДНК-кометы»	апоптотические «ДНК-кометы»	некротические «ДНК-кометы»
Контроль			
Группа [А] – n=188. Ферментативный перитонит, сутки:			
1-е	0,09±0,1	0,03±0,3	0,01±0,1
3-и	9,9±2,2*	1,2±0,1	0,9±0,1
7-е	12,1±2,1*	6,1±0,1	1,1±0,1
10-е	8,5±1,3*	10,8±0,2*	7,4±0,2*
15-е	4,1±2,1	12,8±0,1*	16,8±0,1*
15-е	3,6±2,1	15,4±0,2*	17,3±0,2*
Контроль			
Группа [Б] – n=309. Парапанкреатический инфильтрат, сутки:			
1-е	0,09±0,1	0,03±0,3	0,01±0,1
3-и	10,3±2,5*	1,4±1,4	1,3±0,2
7-е	14,2±1,2*	7,2±1,3*	1,4±0,1
10-е	9,6±1,1*	8,6±2,0*	7,6±0,1*
15-е	6,1±1,2*	13,8±1,1*	16,8±0,2*
15-е	4,6±1,2	17,4±3,2*	19,3±0,3*

* – p<0,05.

который во многом зависел от эффективности проводимых комплексных лечебных мероприятий и течения самого заболевания. При благоприятном течении, наряду со значительным снижением в плазме крови «цитотоксических» «ДНК-комет» и апоптотических «ДНК-комет», с 7-х по 10-е сутки уровень некротических «ДНК-комет» оставался неизменным или умеренно повышался по сравнению со значениями аналогичных показателей 7-х суток.

Обсуждение. Появление некротических «ДНК-комет», особенно их высокое содержание на 7-е сутки наблюдения, сопряжено, вероятно, с повышенной альтерацией лейкоцитов по некротическому механизму, в результате их активного участия в процессах фагоцитоза в зоне некротизированных тканей, что подтверждают ряд исследователей, использовавших вышеописанную методику при заболеваниях, сопровождающихся воспалительно-деструктивным процессом [7, 8]. Обнаружение большого количества «цитотоксических» «ДНК-комет» в первые 3–5 сут, по нашему мнению, имеет цитотоксический механизм – поступление в кровь большого количества продуктов перекисного окисления липидов (перекисей и гидроперекисей), а также других активных метаболитов, обладающих высокими цитотоксическими свойствами. Похожие данные получены [3] при обработке мононуклеарных клеток плазмы крови *in vitro* перекисью водорода и другими цитотоксическими агентами.

Достоверное увеличение уровня некротических «ДНК-комет» у больных с различными клиникo-патоморфологическими формами осложнений острого деструктивного панкреатита косвенным образом свидетельствует об активном участии мононуклеарных клеток крови (особенно с 10-х суток) в удалении продуктов клеточного распада в зоне некробиотического процесса, что, возможно, и приводит к предупреждению развития инфекционных осложнений у этих групп больных. Подобное, по данным ряда авторов [7, 8], наблюдается, например, при сочетанных травмах. Напротив, критическое снижение уровня некротических «ДНК-комет» часто свидетельствует о неблагоприятном течении заболевания и может послужить хорошим прогностическим фактором неблагоприятного течения заболевания.

В ходе исследования обнаружилась еще одна важная особенность, заключающаяся в том, что у больных стерильным панкреонекрозом и у которых имелось тяжелое течение заболевания, нередко приводящее к развитию полиорганной недостаточности, отмечалось неизменно высокое содержание «цитотоксических» «ДНК-комет» – более 48–50 % от общего количества мононуклеарных клеток. При этом практически не встречались (или встречались в единичных количествах) апоптотические и некротические «ДНК-кометы». Как правило, эти пациенты погибали, несмотря на проводимую

интенсивную терапию и(или) проведенное оперативное вмешательство, что, по-видимому, связано с избыточным токсическим воздействием на мононуклеарные клетки крови, без возможности адекватного ответа последних на создавшиеся экстремальные условия среды. Мы считаем, что обнаруженные изменения в крови также могут служить хорошим прогностическим признаком и быть широко использованы на практике.

Следует подчеркнуть, что обнаруженная динамика генотоксикологических процессов в организме больного достаточно адекватно вписывается в схему клинической эволюции деструктивного панкреатита [11], что ещё раз подтверждает факт обоснованности применения метода «ДНК-комет» для оценки, в том числе, патоморфологических процессов, происходящих в организме больного с панкреонекрозом (рис. 5).

В завершение исследования, для объективизации полученных данных,

Рис. 5. Схема клинической эволюции деструктивного панкреатита

нами проведен анализ прогностической ценности развития инфекционных осложнений по уровню некротических «ДНК-комет» с помощью физико-математической методики – построение ROC-кривых (receiver operating characteristic), также часто используемой в медицинской аналитике. Отмечено, что их содержание в группах исследования без развития инфекционных осложнений на 7-й и 10-й день наблюдения было значительно выше, чем у больных с развитием инфекционных осложнений. Так, по нашему мнению, активная гибель мононуклеарных клеток крови связана с их участием в разрешении, в том числе, и инфекционных осложнений и, в конечном итоге, определяет предупреждение их развития у этих больных. Значение площади под ROC-кривой, построенной для 10-го дня наблюдения, составило 0,73. Оптимальной величиной для оценки вероятности правильного распознавания положительных и отрицательных примеров в ROC-анализе является точка (порог) отсечения кривой (Cut-off Point), дающая в сумме максимальные величины чувствительности и специфичности. В нашем наблюдении точка отсечения составила 9,6 %. Данную величину можно рекомендовать как пороговую для больных острым деструктивным панкреатитом начиная с 10-х суток от момента начала заболевания, ниже значений которой риск развития инфекционных осложнений резко увеличивается. Эти данные свидетельствуют о том, что высокие ~ 16–20 % значения некротических «ДНК-комет», начиная с 10-х суток от начала заболевания, могут служить хорошим прогностическим признаком, позволяющим предположить малую степень вероятности развития инфекционных осложнений.

Выводы. 1. Повреждение мононуклеарных клеток плазмы крови при остром деструктивном панкреатите происходит как путем некроза (появление некротических «ДНК-комет»), так и путем апоптоза (повышение уровня апоптотических «ДНК-комет»).

2. Повреждение ДНК на начальных этапах (3–5 сут) от момента начала заболевания проявляется преобладанием в плазме крови «цитотоксических» «ДНК-комет», что обусловлено поступлением в кровь активных метаболитов, обладающих высокими цитотоксическими свойствами.

3. Прогностическим показателем высокого риска развития инфекционных осложнений у больных острым деструктивным панкреатитом является уменьшение уровня некротических «ДНК-комет» мононуклеарных клеток крови, начиная с 10-х суток от момента начала заболевания, ниже 9,6 %. Чувствительность данного показателя – 75 %, специфичность – 85 %.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

1. Винник Ю. С., Дунаевская С. С., Антюфриева Д. А. Диагностическая ценность интегральных шкал в оценке степени тяжести острого панкреатита и состояния больного // Вестн. Росс. Акад. мед. наук. 2015. № 1. С. 90–94. [Vinnik U. S., Dunaevskaya S. S., Antyufrieva D. A. Diagnosticheskaya tsennost integralnih shkal v otsenke stepeni tyazhesti ostrogo pankreatita i sostoyaniya bolnogo // Vestnik Rossijskoj Akademii meditsinskih nauk. 2015. № 1. P. 90–94].
2. Ермолов А. С., Иванов П. А., Благовестнов Д. А., Гришин А. А. Диагностика и лечение острого панкреатита. М.: ВИДАР, 2013. 384 с. [Ermolov A. S., Ivanov P. A., Blagovestnov D. A., Grishin A. A. Diagnostika i lechenie ostrogo pankreatita. Moskva: VIDAR, 2013. 384 p].
3. Жанатаев А. К., Никитина В. А., Воронина В. А., Дурнев А. Д. Методические аспекты оценки ДНК-повреждений методом ДНК-комет // Приклад. токсикол. 2011. № 2. С. 28–36. [Zhantaev A. K., Nikitina V. A., Voronina V. A., Durnev A. D. Metodicheskie aspekty otsenki DNK-povrezhdenij metodom DNK-komet // Prikladnaya toksikologiya. 2011. № 2. P. 28–36].
4. Затевахин И. И., Цициашвили М. Ш., Будурова М. Д., Алтунин А. И. Панкреонекроз. М.: ВНИТИ, 2007. 224 с. [Zatevahin I. I., Tsitsiasvili M. Sh., Budurova M. D., Altunin A. I. Pankreonekroz. Moskva: Izdatel'stvo VNITI, 2007. 224 p].
5. Ивлев В. В., Варзин С. А., Шишкин А. Н., Ушверидзе Д. Г., Соловейчик А. С., Азанчевская С. В. Анализ летальности при остром деструктивном панкреатите // Пирогов. хирург. неделя : Материалы Всеросс. форума. СПб., 2010. С. 327. [Ivlev V. V., Varzin S. A., Shishkin A. N., Ushveridze D. G., Solovejchik A. S., Azanchevskaya S. V. Analiz letalnosti pri ostrom dastruktivnom pankreatite // Materialy Vserossijskogo foruma «Pirogovskaya hirurgicheskaya nedelya». Sankt-Peterburg, 2010. P. 327].
6. Литвин А. А. Хирургическое лечение инфицированного панкреонекроза // Новости хир. 2011. № 6. С. 36–44. [Litvin A. A. Khirurgicheskoe lechenie infitsirovannogo pankreonekroza // Novosti khirurgii. 2011. № 6. P. 36–44].
7. Мороз В. В., Решетняк В. И., Муравьева М. Ю., Жанатаев А. К., Марченков Ю. В., Дурнев А. Д. Обмен холестерина, ДНК повреждение, апоптоз и некроз клеток в крови при тяжелой сочетанной травме // Общая реаниматол. 2008. № 1. С. 5–12. [Moroz V. V., Reshetnyak V. I., Murav'eva M. Yu., Zhanyaev A. K., Marchenkov Yu. V., Durnev A. D. Obmen holesterina, DNK povrezhdeniya, apoptoz i nekroz kletok v krvi pri tyazheloi sochetannoi travme // Obsh'aya reanimatologiya. 2008. № 1. P. 5–12].
8. Мороз В. В., Мягкова Е. А., Жанатаев А. К. и др. Повреждения ДНК и процессы клеточной гибели лейкоцитов у пострадавших с тяжелой травмой // Общая реаниматол. 2014. № 4. С. 11–36 [Moroz V. V., Myagkova E. A., Zhantaev A. K., Ryabov G. A., Ostapchenko D. A., Durnev A. D., Reshetnyak V. I. Povrezhdeniya DNK i protsessi klrtochnoj gibeli leukotsitov u postradavshih s tyazheloi travmoi // Obsh'aya reanimatologiya. 2014. № 4. P. 11–36].
9. Надашковский Э. В. Острый панкреатит : рук-во для врачей / под ред. проф. Э. В. Надашковского. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 272 с. [Nadashkovskij Eh. V. Ostrij pankreatit: ruk.dlya vrachej / pod red. prof. Eh. V. Nadashkovskogo. Moskva: GEOTAR – Media, 2009. 272 p.].
10. Орлов Ю. П., Ершов А. В. Связь нарушенного обмена железа с гемодинамикой и процессами липопероксидации при критических состояниях панкреатогенной этиологии // Материалы XII съезда хирургов России. Ростов н/Д, 2015. С. 9–10. [Orlov Y. P., Ershov A. V. Svyaz narushennogo obmena zheleza s gemodinamikoy i protsessami lipoperoksidatsii pri kriticheskikh sostoyaniyah pankreatogennoi ehtiologii // Materiali XII sezda hirurgov Rossii. Rostov-na-Donu, 2015. P. 9–10].
11. Савельев В. С., Кириенко А. И. Клиническая хирургия : нац. руко-во : в 3 т. Т. II / под ред. В. С. Савельева, А. И. Кириенко. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 832 с. [Savelev V. S., Kirienko A. I. Klinicheskaya hirurgiya: nats. ruk.: v 3 t. / pod red. V. S. Savelev, A. I. Kirienko. Moskva: Izdatel'stvo GEOTAR-Media, 2009. T. II. 832 p.].
12. Филимонов М. И., Бурневич С. З. Хирургия панкреонекроза // 80 лекций по хирургии / под ред. В. С. Савельева. М.: Литтерра, 2008. С. 447–455. [Filimonov M. I., Burnevich S. Z. Hirurgiya pankreonekroza // 80 lektzij po hirurgii / Pod redaktsiej V.S. Saveleva. Moskva: Litterra, 2008. P. 447–455].

13. Шотт А. В. Леонович С. И., Кондратенко Г. Г. Эволюция методов лечения острого панкреатита // *Здравоохранение*. 2006. № 12. С. 40–46 [Shott A. V., Leonovich S. I., Kondratenko G. G. Ehvolutsiya metodov lecheniya ostrogo pankreatita // *Zdravoohranenir*. 2006. № 12. P. 40–46].
14. Beger H. G., Bchler M. Acute pancreatitis : research and clinical management. Springer London, Limited, 2011. 412 p.
15. Bchler M. Diseases of pancreas: acute pancreatitis, chronic pancreatitis, neoplasms of the pancreas. Berlin : Karger Publishers, 2004. 212 p.
16. Collins A. R. The comet assay for DNA damage and repair : principles, application and limitations // *Mol. Biotech*. 2004. Vol. 26. P. 229–261.
17. Dhawan A., Anderson D. The Comet Assay in Toxicology Developmental Toxicology Division / Indian Institute of Toxicology Research. Lucknow. India. 2009. P. 478.
18. Dulce M., Taxonera C., Giner M. Update on pathogenesis and clinical management of acute pancreatitis // *World J. Gastrointestinal Pathophysiol*. 2012. Vol. 3. № 3. P. 60–70.
19. Forsmark C. E. Pancreatitis and its complications. New Jersey : Humana Press Inc, 2005. 134 p.
20. Hartmann A. Recommendations for conducting the in vivo alkaline comet assay // *Mutagenesis*. 2003. Vol. 18. P. 45–51.
21. Jonson C. D. Pancreatic disease : protocols and clinical research. N. Y. : CWI-S, 2009. 125 p.
22. Kumaravel T. S., Vilhar B, Stephen P. Comet Assay measurements : a perspective // *Cell. Biol. Toxicol*. 2009. № 1. P. 53–64.
23. Lankisch P. G. Natural course of acute pancreatitis : what we know today and what we ought to know for tomorrow // *J. Pancreas*. 2009. Vol. 38. P. 494–498.
24. Rau B., Kruger C. M., Schilling M. K. Procalcitonin : improved biochemical severity stratification and postoperative monitoring in severe abdominal inflammation and sepsis // *Langenbecks Arch. Surg*. 2004. Vol. 389, № 2. P. 134–144.
25. Santos J. S., Kemp R., Ardengh J. C., Elias J. Conservative management of cholestasis with and without fever in acute biliary pancreatitis // *World J. Gastrointestinal Surg*. 2012. Vol. 4. № 3. P. 55–61.

Поступила в редакцию 12.05.2017 г.

Сведения об авторах:

Савельев Вячеслав Васильевич (e-mail: vvsaveliev@mail.ru), канд. мед. наук, доц. кафедры факультетской хирургии, урологии, онкологии и оториноларингологии; *Винокуров Михаил Михайлович* (e-mail: mmv_mi@rambler.ru), д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой факультетской хирургии, урологии, онкологии и оториноларингологии; Медицинский институт ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет им. М. К. Аммосова», 677000, г. Якутск, ул. Белинского, д. 58. *Кершенгольц Борис Моисеевич* (e-mail: kerschen@mail.ru), д-р биол. наук, проф., Институт биологических проблем криолитозоны, 677000, г. Якутск, ул. Ленина, д. 41.