

© В.М. Демидов, *С.М. Демидов, 2012

УДК 616.37- 002-036.11

В.М. ДЕМИДОВ, *С.М. ДЕМИДОВ

Одеський національний медичний університет, кафедра загальної хірургії; *міська клінічна лікарня №10, Одеса

НОВІ АСПЕКТИ РАННЬОЇ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ З УРАХУВАННЯМ ГУМОРАЛЬНИХ ЗМІН В ОРГАНІЗМІ ХВОРИХ

Автори викладають методи ранньої діагностики гострого панкреатиту через визначення концентрації в крові пацієнтів фактору некрозу пухлини-альфа, інтерлейкінів-1 і -6, трансформуючого фактору росту-1-бета і гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактору. Ефективність запропонованих способів неспецифічної діагностики гострого панкреатиту полягає в можливості з їх допомогою у ранньому (доклінічному) визначенні захворювання та скороченні термінів лікування.

Ключові слова: гострий панкреатит, рання діагностика, цитокіни, фактори росту

Вступ. Останніми роками неухильно збільшується кількість хворих із гострими запальними захворюваннями паренхіми підшлункової залози (ПЗ) [17, 18, 21]. Сучасна терапія цих хворих не завжди є задовільною, про що свідчать високі показники інфікування осередків некротичної деструкції у пацієнтів із гострим панкреатитом (ГП), подальше прогресування хвороби із розвитком панкреонекрозу та відповідні незадовільні показники наявності значної кількості гнійно-септичних ускладнень, високої летальності [10, 15]. Серед причин подібного становища слід виділити пізню та неадекватну діагностику самого захворювання та його ускладнень, а також невірний вибір консервативної та/або хірургічної тактики лікування [4, 8]. Захворювання частіше за все розвивається у осіб працездатного віку, з чого виходить соціальна обумовленість проблеми розробки нових засобів та схем комплексного лікування вказаного контингенту хворих. Поза нашої уваги був ще один аспект даної проблеми – діагностичний.

Зараз частіше за все з діагностичною метою визначають рівні панкреатичних ферментів у сироватці крові хворих на ГП, що надходять туди за умов процесів протеолізу та аутолізу тканини ПЗ [3]. Ці методики передбачають визначення рівнів амілази, трипсину, еластази у сироватці крові пацієнтів і мають достатньо високу чутливість та специфічність. Однак, визначити підвищений рівень амілази та інших панкреатичних ферментів у сироватці крові також можливо лише в випадку, коли запальний процес призвів вже до досить значущих змін у тканині ПЗ. Все це обумовило нас до пошуку більш досконалих методів діагностики ГП вже на доклінічному етапі.

В патогенезі ГП відзначено активацію імунної системи через модуляцію активності системи цитокінів [13, 20]. Це підтверджується тим, що за умов експериментального панкреонекрозу показано зростання рівня одного з представників сімейства цитокінів – фактора некрозу пухлин-альфа (ФНП- α) [1]. Відомо також, що за умов відтворення ГП в сироватці крові щурів спостерігається зро-

стання інтерлейкіну-1-бета (ІЛ-1 β) – іншого представника сімейства прозапальних цитокінів [7]. Приймаючи до уваги все вищевказане, а також різноманітність клінічних проявів ГП – від розвитку ендотоксичних реакцій до виразних метаболічних порушень, – та частий розвиток екстрапанкреатичних порушень, можливо припустити, що в організмі хворих на ГП відбуваються значні гуморальні зміни [11, 14, 17, 19]. Це пояснює активну участь в маніфестації патологічного процесу імунної системи, активність якої сприяє розвитку ланцюжних процесів, з одного боку, – активації нейтрофільних лейкоцитів, збільшенню проникливості судинної стінки та зростанню рівня представників сімейства прозапальних цитокінів та, з іншого боку, – розвитку панкреатичних і системних уражень [4, 9, 12, 13, 19].

Протягом останнього десятиріччя ми намагаємось вирішити проблему підвищення ефективності лікування хворих на ГП через переважну розробку та використання нових інформативних засобів діагностики захворювання на ранньому етапі [2, 5]. Іншим питанням, яке часто постає перед фахівцями, є спромоги визначення перебігу захворювання, тобто, чи можливо при надходженні хворих на ГП до стаціонару визначитися з потенційною можливістю розвитку гнійно-септичних ускладнень захворювання.

Мета дослідження. Обґрунтувати перспективи застосування нових методів комплексної діагностики ГП на ранньому етапі з урахуванням неспецифічних змін в організмі хворих, пов'язаних переважно з активністю імунної системи.

Матеріали та методи. Клінічні спостереження були проведені за 98 хворими (55 чоловіків та 43 жінки) віком від 26 до 49 років, які знаходились у хірургічних відділеннях міських лікарень м. Одеси.

У 63 випадках особливих скарг на момент надходження пацієнти не пред'являли, однак в анамнезі визначалися періодичне здуття живота, порушення травлення, незначний біль у епігастрії. Об'єктивні дані: загальний стан хворих досить

задовільний, шкіра та слизові бліді, за даними ультразвукового дослідження органів черевної порожнини патології не виявлено. Загальні клінічні та біохімічні дослідження під час обстеження – у межах вікової норми. 35 хворих надійшли до стаціонару із клініко-лабораторним симптомокомплексом, який дозволяв припускати розвиток ГП.

Остаточний діагноз ГП виставляли після комплексного клініко-лабораторного обстеження хворих, аналізу даних ультразвукового дослідження органів черевної порожнини, ендоскопічної ретроградної холангіопанкреатографії, оглядової рентгенограми панкреатичної ділянки, показників біохімічного та загальноклінічного дослідження крові. Загальноприйнятими засобами в сироватці крові хворих визначали активність амілази, ліпази, трипсину та інгібітору трипсину. Хворим проводили ретельне фізикальне обстеження. Визначали інтенсивність болю, його локалізацію та тривалість. Ультразвукове дослідження (УЗД) органів черевної порожнини пацієнтів проводили за допомогою ультразвукової багатоцільової скануючої системи “Echovision SSD-250” (‘Aloka’).

Виділяли такі групи хворих: у пацієнтів 1-ї групи (n=36) в сироватці крові методом ензимзв’язаного імуносорбентного аналізу (ELISA-тест) з використанням вторинних видоспецифічних моноклональних антитіл з діагностичною метою визначали рівень фактора некрозу пухлини-альфа (ФНП- α).

Пацієнтам 2-ї групи (n=42) в сироватці крові за допомогою методу ензимзв’язаного імуносорбентного аналізу з використанням вторинних видоспецифічних моноклональних антитіл при довжині хвилі 405 нм на автоматичному лічильному приладі (Immunosoft Software Package, США) визначали в сироватці крові вміст ФНП- α , інтерлейкіну-1-бета (ІЛ-1 β), ІЛ-6 та факторів росту – трансформуючого фактору росту-1-бета (ТФР-1 β) та гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактору (ГМ-КСФ). Вміст цитокінів визначали двічі на тиждень впродовж 2 тижнів обстеження. Після ретроспективного аналізу ми виділяли такі терміни спостереження: за 14 діб до розвитку гострого панкреатиту (-14), за 10 діб (-10), за 7 діб (-7), за 3 доби (-3) доби до розвитку гострого панкреатиту, безпосередній початок гострого панкреатиту (0), 7 доба (+7) після початку хвороби (день випису хвориз зі стаціонару) та 30 доба (+30) після початку хвороби (контрольне обстеження).

В усіх групах обстежених хворих виділяли також контрольні групи по 10 пацієнтів в кожній (загалом – 20 пацієнтів).

Для лікування хворих із ГП хворим застосовували звичайну загальноприйнятну тактику консервативного лікування шляхом внутрішньовенного введення цитостатичних (5-фторурацил, фторафур), антибактеріальних (антибіотики широкого спектра дії), дезагрегантних (фраксипарин – по

0.3-0.6 мл) та антиферментних (контрікал, тзалол і трасилол – по 60000-100000 ОД, пантрипін – по 50-120 ОД) препаратів. Додаткового до цього хворим в/в вводили інгібітор пакрнеатичної секреції та протеолізу сандостатин.

Отримані данні обраховували статистично. $p < 0.05$ обирали критерієм вірогідності.

Результати досліджень та їх обговорення.

1. Визначення концентрації ФНП- α в сироватці крові

В сироватці крові осіб, які становили контрольну групу, вміст ФНП- α становив $2,2 \pm 0,1$ пг/мл. В крові осіб основної групи з підозрою на ГП (у 31 особи, 86%) було визначено значне зростання досліджуваного показника, який дорівнював в середньому $48,8 \pm 2,4$ пг/мл, що майже в 22 рази перевищувало аналогічні дані у осіб контрольної групи ($P < 0.001$). Це надавало можливість запідозрити наявність у хворих латентного запалення ПЗ. При подальшому спостереженні, у 34 пацієнтів (94%) розвинулася клініка ГП, яка підтверджувалася швидкою динамікою клінічних симптомів захворювання, а також зростанням активності протеолітичних ферментів сироватки крові. Це було ствердженням результатів дослідження визначення вмісту ФНП- α .

Хворим проведена відповідна медикаментозна патогенетична терапія. Всі вони одужали, виписані зі стаціонару на 6-9 добу у задовільному стані. При контрольному обстеженні через 1 місяць – скарг нема.

2. Визначення концентрації ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6, ТФР-1 β та ГМ-КСФ в сироватці крові

У осіб, які звернулися до хірургічних клінік з метою обстеження (-14 доба спостереження) вміст в сироватці крові ФНП- α становив в середньому $2,2 \pm 0,2$ пг/мл. Впродовж першого тижня спостереження концентрація цього цитокіну не відрізнялася суттєво від початкового рівня. Але вже за тиждень до початку захворювання (-7 доба спостереження) концентрація в сироватці крові досліджуваного цитокіну становила $39,6 \pm 2,3$ пг/мл, що було в 18 разів більше тої величини, що ми її отримали на -14 добу обстеження ($P < 0.001$). За три доби до початку ГП (-3 доба) відмічали зростання сироваткового вмісту ФНП- α в 26 разів ($P < 0.001$), а на початку захворювання (0, розвиток ГП) – в 44 рази ($P < 0.001$). На день випису хворих зі стаціонару після проведеного лікування (+7 доба) вміст ФНП- α в сироватці крові становив $2,4 \pm 0,5$ пг/мл, що значно не відрізнялося від початкового рівня, що ми його зареєстрували на початок дослідження. Контрольна перевірка, зроблена через місяць після випису зі стаціонару (+30 доба) також не виявила значних змін у концентрації ФНП- α в сироватці крові осіб, які перенесли ГП.

При спостереженні за зміною концентрації ІЛ-1 β в сироватці крові осіб, які звернулися до хірургічних клінік для обстеження не було виявлено значних змін рівня вказаного цитокіну впродовж

цілого періоду клінічного спостереження ($P > 0.05$). На початок захворювання ГП вміст ІЛ-1 β в сироватці крові становив 3.7 ± 0.4 пг/мл, що було на 7% більше тих даних. Що ми їх зареєстрували за 14 діб до початку захворювання ($P > 0.05$).

На початок захворювання концентрація ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ГП зросла на 64% відносно аналогічних значень за 14 діб до початку захворювання (-14 доба; $P < 0.001$). При подальших дослідженнях вміст ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ГП на момент випису зі стаціонару, а також при контрольному спостереженні не відрізнявся суттєво від початкового рівня.

При визначенні концентрації факторів росту – ТФР-1 β та ГМ-КСФ – було встановлено, що вміст вказаних цитокінів в сироватці крові значно зростає, відповідно, в 4.2 та 5.6 разів ($P < 0.001$) порівняно з початковими рівнями, що ми їх зареєстрували на 14 добу до початку захворювання. Протягом всіх інших вказаних термінових інтервалів концентрація ТФР-1 β та ГМ-КСФ не відрізнялася суттєво від початкових даних ($P > 0.05$).

В ретроспективному аспекті видно, що найбільш раннім за часом в діагностичному плані було зростання вмісту ФНП- α в сироватці крові у тих осіб, у котрих потім розвинувся ГП. Це відбулося вже за 7 діб до початку захворювання, причому відносні показники вмісту даного цитокіну було в 18 разів більшими ($P < 0.001$) відносно початкових значень. Надалі вміст ФНП- α продовжував зростати, сягаючи свого максимуму на початку захворювання. Потім внаслідок проведеного патогенетичного лікування концентрація ФНП- α знижувалася та досягла початкових рівнів. Жоден з інших засобів діагностики в терміновому аспекті не виявився корисним для раннього виявлення можливості розвитку гострого запалення паренхіми ПЗ.

Таким чином, цікавою є принципова можливість ранньої діагностики ГП шляхом визначення саме гуморальних змін в організмі потенціального хворого, коли ще сам патологічний процес має латентний або прихований характер. В цьому аспекті слід відзначити, що значну патогенетичну роль, за сучасними уявленнями, при ГП має активація цитокінового каскаду [7, 11, 14, 19]. Показано суттєве зростання концентрації ФНП- α та ІЛ-1 β в сироватці крові щурів із гострим експериментальним панкреатитом (ГЕП) [7, 19]. Ці результати узгоджуються та повторюють дані [1], в яких показано зростання вмісту ФНП- α в сироватці крові щурів із панкреонекрозом. Отже, ймовірно припустити, що саме прозапальні цитокіни є тими субстанціями, котрі опосередковують подальший розвиток патологічного процесу та є відповідальними за численні системні ускладнення при ГП. Наше припущення стверджується даними, що за умов гострих запальних процесів триває дегрануляція тучних клітин та активація макрофагів, з котрих до кровообігу звільнюються біологічно активні речо-

вини – маркери запалення та/або нейротрофічні фактори і субстанції, котрі сприяють подальшому прогресуванню патологічного процесу [6, 19].

Слід відзначити, що серед всіх досліджуваних цитокінів та факторів росту лише концентрація ФНП- α зростала завчасно, що мало бути діагностичним критерієм можливості виникнення ГП у досліджуваних осіб. Відзначена тенденція була потім перевірена на 30 пацієнтах 2-ї групи, в яких відзначалося зростання рівня ФНП- α без наявності клінічних ознак захворювання. Потім у 93% ($n=28$) пацієнтів розвинулася клініка ГП. Отже, серед усіх випробованих нами діагностичних засобів тільки зростання концентрації ФНП- α можливо розглядати як найбільш вірогідний діагностичний критерій ранньої діагностики ГП. Всі інші мають безсумнівно високу діагностичну цінність на момент надходження хворих до стаціонару з метою проведення як безпосередньої діагностики ГП паренхіми підшлункової залози, так і проведення диференціальної діагностики розвинутого патологічного процесу.

Ще один важливий факт, який ми отримали, – це суттєве зростання концентрації ІЛ-6, ТФР-1 β та ГМ-КСФ в сироватці крові хворих на ГП, що свідчить про опосередкування системою цитокінів гострого запалення в паренхімі ПЗ. У зв'язку з цим можливо рекомендувати у складних діагностичних випадках визначати вміст вказаних цитокінів (або одного з них, враховуючи значну вартість проведення цієї вімунологічної реакції) для вирішення подальшої тактики лікування конкретної хворої особи.

Вартим уваги може стати один з фрагментів отриманих результатів про те, що вміст ІЛ-1 β залишається незмінним впродовж розвитку хвороби та випису хворих зі стаціонару. Нам здається, що це можна пояснити таким чином. Відомо, що ФНП- α індукуює синтез деяких нейротрофічних факторів, до яких належить і ІЛ-1 β [12, 16]. При цьому логічно припустити, що при ГП синтез ІЛ-1 β трохи 'затримується' у терміновому аспекті від синтезу ФНП- α , який «індукує» механізм формування вказаного патологічного стану. А проведене лікування хворих та їх послідує одужання не надає можливості визначити зростання вмісту цього цитокіну, оскільки сам запальний процес в паренхімі ПЗ ліквідується.

Висновки. 1. Перебіг ГП супроводжується значним зростанням концентрації прозапальних цитокінів в сироватці крові, що відзначається на його початку.

2. З діагностичною метою, починаючи з 7 доби, до розвитку гострого панкреатиту доцільним є визначення вмісту ФНП- α в сироватці крові пацієнтів. Вказаний засіб ми вважаємо як найбільш ранній діагностичний критерій у випадку ГП.

3. Ефективність вказаних діагностичних заходів полягає в значному економічному ефекті завдяки скороченню строків лікування та кількості застосованих лікарських засобів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.

1. Використання пентоксифіліну для лікування експериментального панкреонекрозу / А.О. Лобенко, Б.С. Запорожченко, О.А. Шандра [та ін.] // Журн. АМН України. — 1998. — Т.4, №3. — С. 530—539.
2. Демидов В.М. Дослідження змін концентрацій сироватки крові хворих на гострий панкреатит як ранній діагностичний критерій / В.М. Демидов, Б.С. Запорожченко, С.М. Демидов // Клін. хір. — 2003. — № 3. — С. 29 — 32.
3. Колб В. Г. Лабораторная диагностика хирургических заболеваний / В.Г. Колб, В.С. Камышников. — М.: Высшая школа, 1993. — 185 с.
4. Миниинвазивное оперативное лечение острого панкреатита / Е.Н. Деговцов, С.И. Возлюбленный, М.С. Возлюбленный [и др.] // Анналы хирург. гепатологии. — 2007. — Т.12, №2. — С. 62.
5. Нова методика діагностики гострого панкреатиту із застосуванням рентгенендоваскулярної хірургії / В.М. Демидов, Л.Ф. Нікішин, А.М. Торбинський, [та ін.]. // Харківська хірургічна школа. — 2005. — № 2.1 (17). — С. 50—52.
6. Переяслов А.А. Дисбаланс цитокинів як причина розвитку і прогресування гострого панкреатиту / А.А. Переяслов, С.М. Чуклін, М.М. Посівнич // Вісник морської медицини. — 2003. — №2 (21). — С. 262—264.
7. Сыновец О. А. Модуляция цитокинового каскада как один из патогенетических механизмов формирования острого экспериментального панкреатита / О.А. Сыновец // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 2000. — Т. 10, № 6. — С. 37—43.
8. Шабанов В. В. Профилактика острого послеоперационного панкреатита при лапароскопической холецистэктомии / В.В. Шабанов, Б.Ю. Цветков, А.С. Бенин // Эндоскоп. хирургия. — 2006. — №1. — С. 9 — 11.
9. Шалимов А.А. Острый панкреатит и его осложнения / А.А. Шалимов, А.П. Радзиховский, М.Е. Ничитайло. — К.: Наукова думка, 1990. — 272 с.
10. Acute chylous peritonitis due to acute pancreatitis / G.K. Georgiou, H. Harissis, M. Mitsis [et al.] // World J. Gastroenterol. — 2012. — Vol. 18, N 16. — P. 1987 — 1990.
11. Circulating cytokine levels in acute pancreatitis-model of SIRS/CARS can help in the clinical assessment of disease severity / I. Gunjaca, J. Zunic, M. Gunjaca, Z. Kovacj // Inflammation. — 2012. — Vol.35, №2. — P. 758—763.
12. Circulating tumor necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-6 concentrations in chronic alcoholic patients / R.S. Blumenthal, I.W. Flinn, O. Proske [et al.] // Hepatology. — 1991. — Vol. 13. — P. 267—276.
13. Cytokines and organ failure in acute pancreatitis: inflammatory response in acute pancreatitis / M.L. Malmström, M.B. Hansen, A.M. Andersen [et al.] // Pancreas. — 2012. — Vol.41, №2. — P. 271—277.
14. Delayed production of IL—18 in lungs and pancreas of rats with acute pancreatitis / C.M. Pastor, D.R. Morel, A. Vonlaufen [et al.] // Pancreatology. — 2010. — Vol.10, №6. — P. 752—757.
15. Differences between diffuse and focal autoimmune pancreatitis / T. Tabata, T. Kamisawa, K. Takuma [et al.] // World J. Gastroenterol. — 2012. — Vol.18, №17. — P. 2099—2104.
16. Dinarello C. A. The role of interleukin-1 in disease / C.A. Dinarello, S.M. Wolff // N. Engl. J. Med. — 1993. — Vol.328, №1. — P. 106—113.
17. Mitkov M. Concurrent treatment of acute pancreatitis and multiple visceral artery aneurysms using endovascular techniques / M. Mitkov, W.K. Al—Khatib, W.Zhou // Vasc. Endovascular Surg. — 2012. — Vol. 46, №3. — P. 283—286.
18. Pezzilli R. How to evaluate the severity of acute pancreatitis: back to the past? / R. Pezzilli // JOP. — 2012. — Vol.13, №3. — P. 324—325.
19. The glucocorticoid-induced TNF receptor family-related protein (GITR) is critical to the development of acute pancreatitis in mice / M. Galuppo, G. Nocentini, E. Mazzon [et al.] // Br. J. Pharmacol. — 2011. — Vol. 162, №5. — P. 1186—1201.
20. The role of sphingosine kinase 1 in patients with severe acute pancreatitis / Q. Li, C. Wang, Q. Zhang [et al.] // Ann. Surg. — 2012. — Vol. 255, №5. — P. 954—962.
21. The use of gabexate mesylate and ulinastatin for the prevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis / Y.W. Yoo, S.W. Cha, A. Kim [et al.] // Gut Liver. — 2012. — Vol. 6, №2. — P. 256—261.

V.M. DEMIDOV, *S.M. DEMIDOV

*Odessa National Medical University, General Surgery Department; *Municipal Hospital N10, Odessa*

ACUTE PANCREATITIS NONSPECIFIC EARLY DIAGNOSIS NEW ASPECTS EVALUATING HUMORAL CHANGES IN THE PATIENTS' ORGANISM

Authors described the method of acute pancreatitis early diagnosis through the plasma level of tumor necrosis factor, interleukin-1, interleukin-6, transforming growth factor and granulocyte-macrophage colonystimulating factor. The advantages of the acute pancreatitis nonspecific diagnostic methods proposed are the following: real early (preclinical) acute pancreatitis diagnosis, possibility of its complications prognosis together with treatment shortening.

Key words: acute pancreatitis, early diagnosis, cytokines, growth factors

Стаття надійшла до редакції: 20.04.2012 р.