УДК 616.381-002.073.535.379

Куюн Л. О.

ДИФЕРЕНЦІЙНА ДІАГНОСТИКА РІЗНИХ КЛІНІЧНИХ ФОРМ ПЕРИТОНІТУ ХВОРИХ ЗА ДОПОМОГОЮ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНОГО АНАЛІЗУ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м. Київ)

ludaalex@ukr.net

Робота виконана в рамках програми кафедри хірургії стоматологічного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Оптимізація вибору пластичного матеріалу при лікуванні гриж живота» № державної реєстрації – 0104U000450, 2006 рік.

Вступ. Дія на організм широкого спектру інфекційних, механічних, термічних та токсичних чинників викликає активацію двох важливих захисних систем організму – імунної та антиоксидантної. Ці системи відіграють ключову роль у реакціях гострої фази запалення, а також взаємодіють одна з одною за допомогою різних медіаторів. В наш час проводяться дослідження, які висвітлюють поняття імунологічного захисту організму, як його функції, що забезпечує розпізнання, метаболізм, нейтралізацію та виведення з організму різних речовин – як чужорідних ксенобіотиків, так і сполук ендогенного походження. При цьому функціональні можливості імунокомпетентних клітин визначаються рівнем метаболічних процесів, серед яких вільнорадікальні (ВР) процеси мають велике значення [9]. Розвиток ВР процесів призводить до утворення активних форм кисню (АФК). В наш час широко застосовується реєстрація АФК у різних системах і при різних гострих запальних захворюваннях з метою визначення ступеню тяжкості патологічного процесу, його динаміки, а також можливості застосування антиоксидантних речовин, які гальмують та перешкоджають ВР процесам і запобігають порушенню життєдіяльності клітин, їх дистрофії та загибелі [8]. Автори цього дослідження застосували хемілюмінесцентний метод (ХЛ), як найбільш інформативний, якісний і швидкий, що дозволяє реєструвати рівень ВР процесів. Якісні показники цього методу використані нами з метою диференційної діагностики гострого запалення черевної порожнини у хірургічних хворих з різними формами перитоніту [5,7]. Застосування ХЛ аналізу сироватки крові з метою диференційної діагностики різноманітних інфекційних запальних захворювань, таких як хронічний бронхіт, пневмонія, різних клінічних форм перитоніту, а саме серозно-фібринозного (СФП) і гнійно-фібринозного (ГФП) залишається актуальним [7]. Показники ХЛ відбивають інтенсивність ВР процесів ліпідів плазми крові і активність антиоксидантного захисту (АОЗ) в різних системах організму [2,3,4,7]. Проведення ХЛ аналізу у динаміці передбачало можливість оцінити ступінь важкості системного запального процесу в периферичній крові і місцевого – у черевній порожнині. Явище спонтанної дуже слабкої ХЛ було відкрито авторами статті [8]. Цей процес реєструвався у видимій і ультрафіолетовій частині спектру, відбувався безперервно і тривав доки відбувалися обмінні процеси, тому спонтанну ХЛ можна позначити, як метаболічне світіння. Тому що рівень спонтанної ХЛ дуже слабкий, найбільший інтерес дослідників належить до вимірювання індукованої ХЛ. Індукція ХЛ проводиться різним чином, за допомогою різних окислювачів, таких як іони двовалентного заліза, перекису водню, перманганату калію та інших речовин. Застосування індукції ХЛ суттєво підсилює світіння, що у свою чергу полегшує і кількісну оцінку процесу ХЛ. В літературі практично відсутні дані із порівняльної оцінки результатів ХЛ хворих на різні клінічні форми перитоніту (СФП та ГФП) динаміці запального процесу, як системного – у периферичній крові, так і локального з клітинами перитонеального ексудату (КПЕ).

Мета роботи — визначити системні і локальні рівні перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного захисту (АОЗ) сироватки крові і клітин перитонеального ексудату хворих на перитоніт та диференціювати різні клінічні форми перитоніту у хірургічних хворих на перитоніт (серозно-фібринозний і гнійно-фібринозний) хемілюмінесцентним методом і запропонувати ефективні методи лікування хворих з різними формами перитоніту.

Об'єкт і методи дослідження. В представленій роботі дослідження проводили на матеріалі від 37 хворих на перитоніт, з яких у 28 пацієнтів діагностували СФП, а у 9 –ГФП. Усі пацієнти проходили оперативне лікування на кафедрі хірургії стоматологічного факультету Національного Медичного Університету імені О.О. Богомольця на базі Київської міської лікарні швидкої медичної допомоги (КМЛШМД). Як контроль оцінювали ХЛ сироватки людей, у яких було відсутнє запалення черевної порожнини – 10 осіб. ХЛ аналіз проводився за стандартною методикою згідно з протоколом, який представлено в роботі авторів статті [7]. Індукцію ХЛ отримували за допомогою 0,3% розчину гідроген перекису, для підсилення процесу використовували 5 мМ розчин люмінолу фірми Fluka (виробництва США). Кінетичну криву записували протягом 5 хвилин. Згідно з методикою вивчення рівня ВРП та АОЗ ця крива визначала світлосуму світіння (∑ХЛ), а також висоту першого піку світіння (h1). Усі вимірювання проводили при температурі 37^{0}С, реакційну суміш постійно перемішували, також визначали рівень спонтанної ХЛ. Згідно з методикою розчин гідроген перекису додавали на початку вимірювання (через 3-5 секунд). В роботі крім сироватки хворих з різними формами перитоніту і контрольної групи, оцінювали інтенсивність ВРП і АОЗ з клітинами ПЕ хворих

на СФ і ГФ перитоніт. Концентрація клітин ПЕ була 2.0×10^6 клітин в 1 мл ЗФР.

Математичний аналіз результатів дослідження проводився з використанням методів варіаційної статистики. Порівняння двох середніх незалежних вибірок оцінювали за критерієм Ст'юдента і порівняння центральних тенденцій двох незалежних вибірок з використанням U-критерію Вілкоксона-Манна-Уітні при непараметричному розподілі. Кількісні зміни представлені у вигляді середніх значень і середньоквадратичних відхилень для параметричних методів.

Результати дослідження та їх обговорення. Отримані дані - кінетичні криві, які відтворюють динаміку перебігу процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і АОЗ в сироватці хворих з СФП і ГФП і клітинах ПЕ, наведені на **рис. 1-8,** свідчать про те, що рівні процесів окислення за показниками світлосуми, ХЛ -∑, h1 та спонтанній ХЛ, суттєво відрізняються. На **рис. 8** наведена кінетична крива ХЛ сироватки крові хворого М. на ГФП, спонтанна ХЛ – 2,58; індукована ХЛ світлосуми – ∑843,54 та h1 – 184,04. Тоді як у хворого на СФП ці показники достовірно знижені і спонтанна ХЛ дорівнює 0,33,індукована ХЛ ∑ – 241,52, h1- 81,5. В контрольній групі ці аналогічні показники були такими: спонтанна ХЛ – 0,19; ∑ -160,1; h1-58,8. Вивчення активності процесу окислення ліпідів та АОЗ у серозному випоті і з клітинами ПЕ хворих на ГФП показало достовірне посилення ПОЛ при одночасному зниженні активності АОЗ. ХЛ проводили з матеріалом, який було отримано під час операції. Показники кінетичних кривих з серозним випотом хворої Ф. на ГФП були такими: спонтанна ХЛ – 4,63; ∑ – 1362,43; h1 – 213,02. Як відомо, основними продуцентами речовин, що здатні ініціювати і прискорювати. В **таблиці** представлені дані ХЛ сироватки крові, контрольної групи та хворих на СФП і ГФП. Процеси ПОЛ є фагоцитуючі клітини тобто перитонеальні макрофаги та нейтрофіли. Саме присутність цих клітин є першою ознакою виникнення гострого запалення і ці клітини здатні провокувати розвиток різних ускладнень за допомогою прозапальних медіаторів таких як ФНП-α, ІЛ-β, ІФН-γ, ІЛ-2, ІЛ-8 і від їх співвідношення з протизапальними ІЛ такими як ІЛ-10, ІЛ-4 і ТРФ- β [11,12]. Саме від цього залежить перебіг післяопераційного періоду хворих на перитоніт та їх одужання. У роботі авторів дослідження [11] представлені дані про посилення впливу окислювального стресу на процеси ПОЛ та рівень аскорбатзалежного та неферментативного окислення субстратів клітин і плазми крові у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень (ХОЗЛ) і курців з великим стажем паління. Автор цієї роботи відмітив, що генерація активних форм кисню у хворих на ХОЗЛ значно посилюється

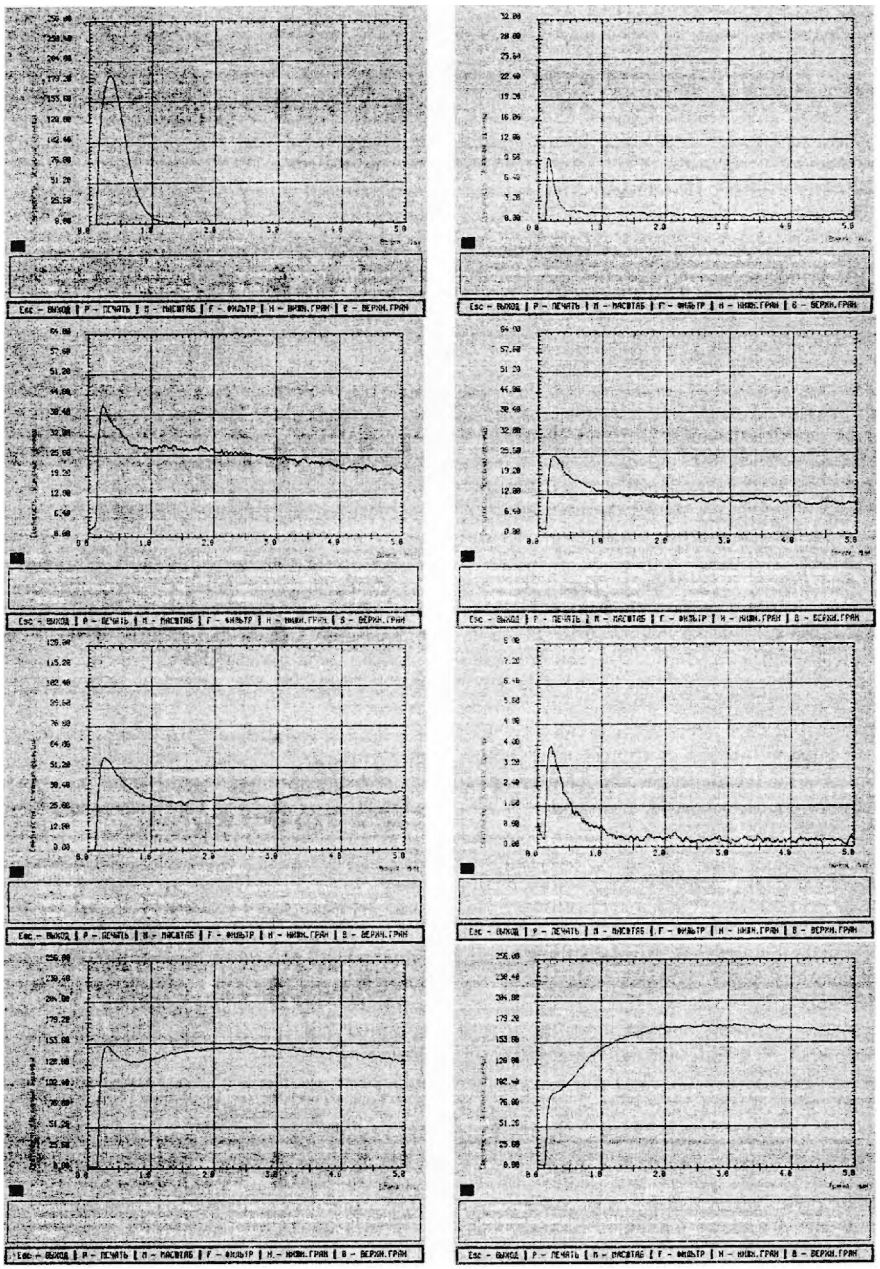

Рис. 1-8. Кінетика хемілюмінесценції сироватки крові хворих на різні форми перитоніту , індукованому 0,3 % розчином гідроперекису водню . По осі абсцис відлік часу в хвилинах; по осі ординат – інтенсивність хемілюмінесценції в умовних одиницях.

Примітка. *Рисунки читати зліва направо та зверху вниз.

Таблиця.

Показники хемілюмінесценції сироватки крові хворих з різними формами перитоніту

ГРУПИ	ХЕМІЛЮМІНІСЕНЦІЯ, M ± m		
	СПОНТАННА	ІНДУКОВАНА (∑)	h1
Контроль n -- 10	0,238 ± 0,045	182,65 ± 19,40	63,29 ± 10,16
Хворі на СФП n -- 28	0,467 ± 0,095*	294,88 ± 48,56*	82,21 ± 6,42
Хворі на ГФП n -- 9	4,418 ± 0,53**	1355,82 ± 115,95**	243,82 ± 56,25**

Примітка. * достовірність p < 0,001 по показниках ХЛ в групі хворих на СФП в порівнянні з даними контролю; ** достовірність p < 0,001 по всіх показниках ХЛ в групі хворих на ГФП в порівнянні з даними контролю та хворих з СФП.

навіть у пасивних курців. Отримані авторами представленої роботи дані свідчать про те, що метод ХЛ може успішно використовуватися для диференційної діагностики різних клінічних форм перитоніту [9,10,11]. У дослідженні 2006 [12] наведені дані про посилення впливу окислювального стресу на процеси ПОЛ та рівень аскорбатзалежного та неферментативного окислення субстратів клітин плазми крові у хворих на ХОЗЛ і курців з великим стажем. Автор роботи відмітив, що генерація активних форм кисню у хворих на ХОЗЛ значно посилюється і навіть у пасивних курців цей показник достовірно вище у порівнянні з контролем. Метод ХЛ дозволяє визначити хворих з ускладненим ГФП. У таких хворих показано достовірне збільшення рівня ПОЛ і зменшення АОЗ, але рівень АОЗ поступово збільшувався саме у тих хворих, у яких клінічний стан суттєво покращувався. Рівень ПОЛ у таких хворих також зменшувався, але цей процес відбувався значно повільніше в порівнянні з темпами росту рівня АОЗ.

Висновки. Хемілюмінесцентний метод дозволяє провести диференційну діагностику різних клінічних форм перитоніту у хірургічних хворих в післяопераційний період, як системно – в сироватці крові, так і локально – з клітинами перитонеального ексудату. У хворих на ГФП спостерігається достовірне збільшення всіх показників ХЛ – спонтанної, індукованої світлосуми ∑ ХЛ та рівень h1 піка в порівнянні з аналогічними показниками у хворих на СФП. Рівень ХЛ за показниками ПОЛ і АОЗ, який було досліджено локально, показав достовірне посилення рівня ПОЛ при паралельному зниженні значення АОЗ. ХЛ виявилась простим, перспективним і надійним методом прогнозування, діагностики і оцінки перебігу післяопераційного періоду хворих на важкий ГФП.

Перспективи подальших досліджень. Перспективними є дослідження, які сприятимуть застосуванню найбільш ефективних засобів лікування гострого запалення черевної порожнини хворих з важким ГФП. Потрібно, щоб крім запалення ці препарати корегували рівень ПОЛ і АОЗ, як локально – в черевній порожнині, так і системно – в периферичній крові. Використання таких методів лікування скоротить термін перебування хворих в лікарні і покращить умови їх реабілітації після хірургічного втручання.

Література

1. Baraboy V.A. Rol' perekisnogo okisleniya v mekhanizme stressa / V.A. Baraboy // Fiziol. zhurnal. – 1989. — № 6. – S. 67-72.
2. Vladimirov YU.A. Perekisnoye okisleniye lipidov v biologicheskikh membranakh / YU.A. Vladimirov, I.A. Archakov. — M.: «Nauka», 1972. – 252 s.
3. Danilyak I.G. Generatsiya aktivnykh form kisloroda leykotsitami perefiricheskoy krovi, perekisnoye okisleniye lipidov i antioksidantnaya zashchita u bol'nykh bronkhial'noy astmoy / I.G. Danilyak, A.KH. Kogan, S. Bolevich // Terapevticheskiy arkhiv. — 1992. — T. 64, № 3. — S. 54-57.
4. Zhuravlev A.K. Metod registratsii perekisnoy khemilyuminestsentsii plazmy krovi / A.K. Zhuravlev, M.P. Sherstnev // Laboratornoye delo. — 1985. — № 10. — S. 586-587.
5. Kuyun L.A. Prognoz techeniya posleoperatsionnogo perioda u bol'nykh, prooperirovannykh na organakh bryushnoy polosti / L.A. Kuyun, K.M. Berezhnoy // Hmunolognya ta alergolognya. — 2005. — № 3. — S. 16-23.
6. Lukash A.I. Biokhimicheskaya otsenka individul'noy chuvstvitel'nosti k kislorodnoy intoksikatsii / A.I. Lukash, V.V. Vnukov, S.I. Dudkin // Voprosy med. khimii. — 1984. — Vyp. 4. — S. 60-64.
7. Serkiz YA.I. Khemilyuminestsentsiya krovi v eksperimental'noy i klinicheskoy onkologii / YA.I. Serkiz, Ye.Ye. Chebotarev, V.A. Baraboy [i dr.]. — Kiyev: Naukova dumka, 1984. — 184 s.
8. Tutel'yan A.V. Razrabotka sistemy otsenki immunotropnykh preparatov prirodnogo i sinteticheskogo proiskhozhdeniya na osnove analiza vzaimosvyazi immunnoy antioksidantnoy zashchity / A.V. Tutel'yan // Allergologiya i immunologiya. — 2004. — T. 5, № 2. — S. 289-298.
9. Hoepelman I.M. Bacterial iron enhances oxygen radical-mediated killing of Staphylococcus aureus by phagocytes / I.M. Hoepelman [et al.] // Infect & Immun. — 1990. — V. 58, № 1. — P. 26-31.
10. Horsburgh M.J. PerR Controls Oxidative Stress Resistance and Iron Storage and Is Required for Virulence in Staphylococcus aureus / M.J. Horsburgh, M.O. Clements, H. Crossley [et al.] // Infect. & Immun. — 2001. — V. 69, № 6. — P. 3744-3754.
11. Lopez N. A Comprehensive review of abdominal infections / N. Lopez, L. Kobayashi, P. Coimbra // World J. Emerg. Surg. — 2011. — V. 6, № 7. — Feb 23. — Doi 10.1186/1749-7922-6-7.

УДК 616.381-002.073.535.379

ДИФЕРЕНЦІЙНА ДІАГНОСТИКА РІЗНИХ КЛІНІЧНИХ ФОРМ ПЕРИТОНІТУ ХВОРИХ З А ДОПОМОГОЮ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНОГО АНАЛІЗУ

Куюн Л. О.

Резюме. Хемілюмінесцентний метод дозволяє вивчити рівень перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантного захисту (АОЗ) сироватки периферичної крові та клітин перитонеального ексудату, а також

диференціювати різні клінічні форми перитоніту (серозно-фібринозного, СФП та гнійного-фібринозного, ГФП) у хірургічних хворих. В роботі дослідження проводилось на матеріалі від 37 хворих на перитоніт, з яких у 28 пацієнтів діагностували СФП, а у 9 –ГФП. ХЛ метод дає можливість виявити хворих з ускладненим перебігом післяопераційного гнійно-фібринозного перитоніту. У таких хворих завдяки ХЛ аналізу показано достовірне зростання рівня ПОЛ і зниження АОЗ, але рівень антиоксидантного захисту поступово зростає саме у тих хворих, клінічний стан яких значно покращується. При цьому рівень ПОЛ у цих хворих знижується, але повільніше порівняно з темпами росту рівня АОЗ. Необхідно відмітити, що при використанні за об'єкт дослідження клітин перитонеального ексудату рівень як ПОЛ, так і АОЗ мав достовірні відмінності, порівнюючи з такими, що властиві ХЛ сироватки крові. Пропонується в клініці використовувати дані ХЛ і приймати рішення щодо можливості подальшого призначення препаратів, що моделюють рівень метаболізму ПОЛ та АОЗ, паралельно із застосуванням імуномодуляторів та традиційних лікарських засобів для лікування хворих з ускладненим перебігом гнійно-фібринозного післяопераційного перитоніту.

Ключові слова: хемілюмінесценція, вільнорадикальні процеси, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантний захист, перитоніт.

УДК 616.381-002.073.535.379

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА РАЗЛИЧНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМ ПЕРИТОНИТА У БОЛЬНЫХ С ПОМОЩЬЮ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

Куюн Л. А.

Резюме. Хемилюминесцентный метод позволяет изучить уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты (АОЗ) сыворотки периферической крови и клеток перитонеального экссудата, а также дифференцировать различные клинические формы перитонита (серозно-фибринозного – СФП и гнойного-фибринозного – ГФП) у хирургических больных. В работе исследование проводилось на материале от 37 больных перитонитом, из которых у 28 пациентов диагностировали СФП, а в 9 -ГФП. ХЛ метод дает возможность выявить больных с осложненным течением послеоперационного гнойно-фибринозного перитонита. У таких больных благодаря ХЛ анализу показано достоверное повышение уровня ПОЛ и снижение АОЗ, но уровень антиоксидантной защиты постепенно растет именно у тех больных, клиническое состояние которых значительно улучшалось. При этом уровень ПОЛ у этих больных снижался, но медленнее по сравнению с темпами роста уровня АОЗ. Необходимо отметить, что при использовании в качестве объекта исследования клеток перитонеального экссудата уровень как ПОЛ, так и АОЗ имел достоверные различия, по сравнению с такими, которые присущи ХЛ сыворотки крови. Предлагается, что в клинике использование данных ХЛ позволит принимать решение о возможности дальнейшего назначения препаратов, модулирующих уровень метаболизма ПОЛ и АОЗ, параллельно с применением иммуномодуляторов рекомендуется использовать и традиционные лекарственные средства для лечения больных с осложненным течением гнойно-фибринозного послеоперационного перитонита.

Ключевые слова: хемилюминесценция, свободнорадикальные процессы, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, перитонит.

UDC 616.381-002.073.535.379

DIFFERENTIAL DIAGNOSTICS OF DIFFERENT FORMS OF PERITONITIS BY MEANS OF CHEMILUMINESCENSE

Kuyun L. A.

Abstract. Chemiluminescence allows to measure the levels of lipids peroxidation and antioxidant protection in peripheral blood serum and peritoneal exudates cells, and differenciate clinical forms of peritonitis – serous fibrous (SFP) and serous purulent – (SPP).

This study was based on the material from 37 patients with peritonitis, of which 28 patients were diagnosed with SFP, and 9-SPP. This method permits to reveal patients with complicated postoperative fibrous-purulent peritonitis. In such patients, as was shown by chemiluminescence, the level of lipids peroxidation raises and antioxidant protection decreases, but the level of antioxidant protection may rise in patients, who show rapid improvement. However, the level of antioxidant protection increases very slowly compared to increase of lipids peroxidation level. It was noted during the research that peritoneal exudates cells, being an object for chemiluminescence, demonstrated much higher levels of lipids peroxidation and antioxidant protection than blood serum, and vice versa. It was suggested that data obtained by chemiluminescence may help to choose the right method of treatment for patients with complicated forms of postoperative fibrous-purulent peritonitis. It may also serve as a criterion for prescription of drugs, which modulate levels of antioxidant protection and lipids peroxidation along with immunomodulators and traditional conventional medications.

Relevance of the research. The research findings will lead to discovery of much more effective methods in treating patients with acute inflammation of the peritoneal cavity and purulent peritonitis. Therapies should alter levels of lipid peroxidation and levels of antioxidant defense both locally in the peritoneal cavity and systemically in the peripheral blood. Such treatment methods result in shorter hospitalization time and improved somatic health after surgical treatment.

Keywords: chemiluminescence, free radical processes, lipids peroxidation, antioxidant defense, peritonitis.

Рецензент – проф. Скрипнік І. М.

Стаття надійшла 11.06.2017 року