

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М. І. ПИРОГОВА

СТОЛЯРЧУК ОЛЕКСАНДР ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК:616.37–002–085.281–039.72

**КОРЕКЦІЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ХВОРИХ
НА ГОСТРИЙ ПАНКРЕАТИТ
(клініко-експериментальне дослідження)**

14.01.03 - хірургія

Автореферат дисертації
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Вінниця - 2016

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М. І. Пирогова МОЗ України

Науковий керівник: заслужений лікар України,
лауреат Державної премії України,
доктор медичних наук, професор
Усенко Олександр Юрійович,
ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології
імені О. О. Шалімова» НАМН України, директор, керівник
відділу хірургії стравоходу та реконструктивної
гастроентерології.

Офіційні опоненти:

– заслужений діяч науки і техніки України, лауреат Державної премії України, доктор медичних наук, професор **Березницький Яків Соломонович,** ДЗ «Дніпропетровська державна медична академія» МОЗ України, завідувач кафедри хірургії №1.

– доктор медичних наук, доцент **Саволюк Сергій Іванович,** Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, завідувач кафедри хірургії та судинної хірургії;

Захист відбудеться «____» _____ 2016 р. о «____» годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.01 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М. І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Автореферат розісланий « ____ » _____ 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор медичних наук, професор

С.Д. Хіміч

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Гострий панкреатит (ГП) продовжує залишатись актуальною проблемою як у хірургії, так і в інтенсивній медицині. Серед гострих хірургічних захворювань органів черевної порожнини ГП на сьогодні займає провідне місце (Усенко О. Ю. та співавт., 2013; Черноmidз А. В., 2014). В Україні захворюваність на ГП за різними даними складає 5,2–6,9 випадків на 10 тис. населення (Березницький Я. С. та співавт., 2014).

Близько 85% випадків ГП має прогностично відносно сприятливий перебіг, а у 15% хворих ГП має важкий та дуже важкий перебіг і потребує комплексного, дороговартісного та тривалого лікування. Загальна летальність при ГП складає 4–15%, при некротичному панкреатиті (НП) – від 15 до 70% в залежності від наявності та характеру ускладнень (Годлевський А. І. та співавт., 2011; Spanier В. W. M. et al., 2011; Banks P. A. et al., 2013).

Основними причинами летальності ГП залишаються «ранні токсемічні» (30–50%) та «пізні септичні» (50% і більше) ускладнення ГП (Чуклін С. М., Гранат О. Б., 2012). Рання летальність, що відповідає ранній фазі захворювання, протягом першого тижня обумовлена виникненням неконтрольованої системної запальної гіпервідповіді та поліорганною недостатністю (ПОН). Пізня летальність, що відповідає пізній фазі захворювання, може тривати тижні та місяці від початку захворювання та обумовлена, як правило, тяжкими локальними або системними інфекційними ускладненнями і ПОН, що зберігається (Криворучко І. А. та співавт., 2014; Годлевський А. І., Саволюк С. І., 2015).

За останні 20 років зростає кількість досліджень та публікацій, котрі вказують на активізацію вільнорадикального окислення та ослаблення антиоксидантної системи захисту (АОС) в крові та тканинах при різних патологіях. В теорію увійшов термін «вільнорадикальна патологія», а в практику, в якості лікарських засобів, впроваджується велика кількість антиоксидантів (Лігоненко О. В. та співавт., 2004; Хомерики С. Г. та співавт., 2004; Чуклін С. М. та співавт., 2011). Порушення вільнорадикального окислення, котре є важливою складовою метаболічних процесів в організмі, вважається раннім і універсальним неспецифічним показником наявності пошкоджень і є характерним для багатьох патологічних процесів.

На сьогодні доведено, що розвиток ГП супроводжується перекисним окисленням ліпідів (ПОЛ) та перекисним окисленням білків (ПОБ) внаслідок утворення в них активних форм кисню (АФК) (Маль С. В., 2007; Bedirli N. et al., 2011). Дисбаланс між процесами пероксидації та антиоксидантним статусом прийнято називати оксидативним стресом, який розглядається як основний фактор патогенезу при ГП. В умовах швидкого зростання кількості активних форм кисню, підвищення кількості цитокінів, прямого та опосередкованого пошкодження клітинних структур, зростання гіпоксії стає критичним та катастрофічним для клітин підшлункової залози (ПЗ).

Підвищення рівня активних форм кисню, активація ПОЛ та ПОБ супроводжується виснаженням запасів ендogenous антиоксидантів, у тому числі аскорбінової кислоти. Ці зміни корелюють з тяжкістю стану хворого (Рыбаков Г. С.

и соавт., 2008; Чуклін С. М. та співавт., 2011) і рівнем ферментів антиоксидантного захисту – глутатіонпероксидази (ГПО) та глутатіонредуктази (ГР) (Филипенко П. С. и соавт., 2008; Peng Lv. et al., 2015). Однак, до кінця не вирішеними на даний момент залишаються питання пошуку маркерів активності оксидативного стресу як на початку захворювання, так і впродовж його лікування.

Слід звернути увагу на відсутність надійних і достовірних маркерів діагностики ГП на ранніх стадіях його розвитку та прогнозування виникнення ускладнень.

На даний момент є до кінця нез'ясованими морфологічні зміни в підшлунковій залозі на субклітинному рівні в залежності від застосування антиоксидантів.

Пошук методів і шляхів корекції порушень ПОЛ та ПОБ у прицільному клініко-морфологічному і прогностичному напрямках діагностики залишається актуальним питанням, яке вимагає оптимізації з урахуванням сучасних знань.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри хірургії №1 з курсом анестезіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова «Розробка нових та удосконалення відомих методів діагностики та лікування хірургічних захворювань та пошкоджень органів черевної і грудної порожнини», № державної реєстрації 0109U003771, в реалізації якої дисертант є відповідальним співвиконавцем.

Мета дослідження – встановити та патогенетично обґрунтувати ефективність корекції оксидативного стресу у хворих на гострий панкреатит.

Завдання дослідження:

1. Дослідити патоморфологічні зміни ПЗ при використанні антиоксидантів в умовах експериментального ГП.
2. Вивчити ефективність антиоксидантної терапії в умовах експериментального панкреатиту.
3. Патогенетично обґрунтувати використання антиоксидантів в комплексній терапії ГП.
4. Обґрунтувати вибір антиоксиданту в залежності від форми ГП в комплексній терапії ранньої фази захворювання.
5. Розробити систему прогнозування вірогідності оперативних втручань у хворих із корекцією оксидативного стресу.

Об'єкт дослідження – гострий панкреатит.

Предмет дослідження – оксидативний стрес; синдром системної запальної відповіді (ССЗВ); патоморфологічні зміни у ПЗ, вплив лікування антиоксидантами на морфофункціональні зміни в ПЗ; ефективність антиоксидантів в залежності від форми ГП.

Методи дослідження – експериментальний, клінічний, лабораторний, інструментальний, статистичний.

Наукова новизна отриманих результатів. Досліджено ефективність модуляторів оксидативного стресу на морфофункціональні зміни в ПЗ при експериментальному ГП. Вперше доведена доцільність введення мексидолу, аскорбінової кислоти з метою зниження важкості гістологічного ушкодження ПЗ,

зменшення оксидативного стресу у тканині ПЗ, мінімізації пригнічення активності глутатіонзалежних ензимів – ГПО на 15,7% та ГР та 11,9% в ході розвитку патологічного процесу. Вперше встановлено, що завдяки антигіпоксантному ефекту цих препаратів реалізуються необхідні умови для оптимізації репаративних процесів у ПЗ.

Вперше уточнені закономірності змін перекисних процесів та АОС на ранніх стадіях розвитку захворювання у співставленні з тяжкістю ССЗВ та морфологічними змінами в ПЗ у хворих на ГП. З'ясовані особливості стану ПОБ, ПОЛ та антиоксидантного захисту в залежності від форми захворювання. Встановлені у 1,4 та 1,5 рази вищі рівні БКГ та МДА на тлі вираженої депресії ферментів АОС крові у хворих з НП ($p < 0,05$), в зв'язку з чим обґрунтовано можливість використання показників ПОБ і ПОЛ (БКГ, МДА) та активності ГПО, ГР, СОД для диференційної діагностики форми ГП.

Вперше обґрунтовано диференційований підхід до вибору антиоксиданту в залежності від форми ГП в комплексній терапії ранньої фази захворювання. Доведено, що при набряковій формі ГП застосування аскорбінової кислоти у поєднанні із стандартизованим лікуванням не поступається за ефектом мексидолу, а при НП перевагами застосування мексидолу є зменшення проявів ССЗВ, що корелює із зниженням інтенсивності ПОБ ($p = 0,035$) та ПОЛ ($p = 0,005$) та менш виражена депресія функціонального стану глутатіонзалежної АОС ($p < 0,05$).

Методами багатовимірного статистичного аналізу з'ясовані рівні показників оксидативного стресу ($\text{МДА} \geq 3,68$ мкмоль/л, $\text{ГПО} \leq 8,49$ мкмоль НАДФН₂/год/мг білка, $\text{ГР} \leq 5,18$ мкмоль НАДФН₂/год/мг білка), котрі асоціюються з підвищенням ризику панкреатичного інфікування та вірогідністю оперативних втручань у хворих із корекцією оксидативного стресу.

Практична значимість отриманих результатів. Обґрунтовано необхідність та доцільність динамічного визначення показників оксидативного стресу (БКГ, МДА) та активності глутатіонзалежних ензимів (ГПО, ГР еритроцитів) для диференційної діагностики форми захворювання та в якості додаткових критеріїв об'єктивізації ступеня тяжкості стану хворих з ГП.

Результати дослідження доповнили існуючі теоретичні відомості про перебіг процесу, патоморфологічні зміни в ПЗ та характер репаративних процесів в її тканинах в умовах корекції оксидативного стресу при експериментальному ГП. Проведене експериментальне дослідження доводить важливість використання антиоксидантів (мексидолу, аскорбінової кислоти) в комплексній терапії ГП, що має істотне значення для корекції оксидативного стресу та зменшення глибини морфологічних змін у ПЗ.

Проведена оцінка ефективності включення до складу комплексної терапії ГП антиоксидантів (мексидолу, аскорбінової кислоти). За результатами комплексного клініко-лабораторного дослідження та багатовимірного статистичного аналізу розроблено систему прогнозування вірогідності оперативних втручань у хворих із корекцією оксидативного стресу.

Розроблені для практичного використання рекомендації щодо диференційованого вибору антиоксиданту в залежності від форми ГП дозволили достовірно знизити частоту органних порушень до 7 доби лікування з 72% до

39,1% при застосуванні мексидолу ($p=0,022$) та до 42,1% при застосуванні аскорбінової кислоти ($p=0,031$).

Впровадження результатів дослідження. Основні наукові та практичні результати дисертаційної роботи впроваджено в діагностично-лікувальний процес Вінницької обласної клінічної лікарні імені М. І. Пирогова, міської клінічної лікарні №1 м. Вінниці, міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги м. Вінниці, в практику наукових досліджень та навчальний процес профільних кафедр ВНМУ імені М. І. Пирогова та Інституту хірургії та трансплантології ім. О. О. Шалімова АМН України.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом самостійно проведено аналіз наукової літератури, інформаційно-патентний пошук за темою дисертаційної роботи. Разом із науковим керівником сформульовані мета та завдання дослідження, обговорені отримані результати. За безпосередньою участю дисертанта проведено клінічне та експериментальне дослідження. Автором проведено збір матеріалу дослідження, формування груп хворих, їх обстеження та лікування. Особисто дисертантом виконано статистичне опрацювання й аналіз отриманих результатів. Самостійно виконано написання всіх розділів дисертації, формулювання висновків та практичних рекомендацій, їхнє відображення в періодичних виданнях та впровадження до клінічної практики.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені в доповідях на міжнародній науковій конференції «Клиническая и профилактическая медицина: опыт и новые открытия» (Москва, 2014), міжнародній науковій конференції «Современные исследования медико-биологических наук» (Москва, 2014), на науково-практичній конференції «Актуальные вопросы торакоабдоминальной хирургии» (Харків, 2015), засіданнях Асоціації анестезіологів та хірургів Вінницької області (Вінниця, 2012–2015).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 7 наукових робіт. Серед них: 5 статей у наукових виданнях, затверджених переліком ДАК МОН України, 3 – у міжнародних виданнях.

Обсяг та структура дисертації. Дисертація викладена на 158 сторінках друкованого тексту, складається із вступу, огляду літератури, матеріалу та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку літературних джерел (136 кирилицею та 98 латиною). Робота ілюстрована 22 рисунками та 31 таблицею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ

Матеріал і методи досліджень. В експериментальній частині дослідження виконані 3 серії дослідів на 13 безпородних статевозрілих самцях собак віком від 3 до 5 років (вік встановлювали за станом зубів), масою від 8 до 16 кг. 3 інтактні собаки слугували групою порівняння. У них проводився лише забір крові для визначення рівня маркерів оксидативного стресу.

Індукцію експериментального ГП проводили за методикою професора Г. Я. Костюка (1988), шляхом введення в панкреатичну протоку аутожовчі із розрахунку 0,3 мл/кг під тиском 6,6-8,0 кПа. З метою підтвердження діагнозу

експериментального ГП проводилось визначення α -амілази крові, забір крові для лабораторних обстежень через 12 та 24 години після операції. Об'єктивно фіксувалися частота серцевих скорочень (ЧСС), температура тіла, частота дихання (ЧД), поведінка, наявність блювоти.

У всіх собак вже в середньому через $8,5 \pm 3,2$ годин після моделювання експериментального ГП визначалися клінічні ознаки захворювання: спостерігалось значне зниження їхньої фізіологічної активності, виразна сонливість, погіршення/відсутність апетиту, блювання, ознаки ССЗВ – тахікардія, підвищення температури тіла, часте дихання. Наявність експериментального ГП у піддослідних тварин було підтверджено підвищенням активності α -амілази в крові в динаміці та морфологічно.

У відповідності із завданнями дослідження в I серії дослідів (контрольній) 3 собакам забезпечували знеболення без антиоксидантної терапії.

II серія дослідів (основна) була розділена на дві підгрупи. Експериментальним тваринам II-A серії дослідів ($n=5$) через 12 години від початку експерименту та потім щоденно впродовж 5 діб вводили мексидол у добовій дозі 9 мг/кг, розподілений на 3 введення, шляхом внутрішньовенного струминного введення на фізіологічному розчині на протязі 5 хвилин, відповідно до рекомендацій виробника. Тварини II-B серії ($n=5$) отримували аскорбінову кислоту у добовій дозі 7 мг/кг, розділений на 2 прийоми, внутрішньовенно струминно на розчині 5% глюкози протягом 2–3 хв. Курс лікування аскорбіновою кислотою також склав 5 діб.

Від прогресування раннього ГП з розвитком ПОН загинуло 2 собаки: одна – на 2 добу після операції (собака №3 з I серії дослідів), інша – на 4 добу (собака №10 з II-B серії дослідів). Причиною смерті було прогресування ПОН на тлі тотального панкреонекрозу. Інші 11 тварини були виведені з досліду через 5 діб від початку захворювання шляхом передозування наркозу з дотриманням основних вимог до евтаназії, викладених у додатку 4 «Правил проведення работ с использованием экспериментальных животных», затверджених наказом №755 від 12.08.1977 року МОЗ СРСР «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных». Комітетом з біомедичної етики ВНМУ імені М. І. Пирогова (протокол №8 від 07.04.2015 р.) встановлено, що дане наукове дослідження відповідає етичним та морально-правовим вимогам згідно наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р.

Всім піддослідним тваринам проведено патологоанатомічне та гістологічне дослідження некротичних ділянок ПЗ. Для кількісного визначення морфологічних змін в ПЗ використано композитну гістопатологічну оціночну шкалу – Combined histopathologic grading scale for pancreatitis (Muftuoglu M. A. T. et al., 2006), що відображає 11 гістологічних ознак ГП.

Клінічна частина роботи була виконана на кафедрі хірургії №1 Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова та на базі хірургічного відділення та відділення анестезіології та інтенсивної терапії Вінницької обласної клінічної лікарні імені М. І. Пирогова впродовж 2009–2011 років. Для вирішення сформульованих завдань було обстежено 129 (88 чоловіків, 41 жінка) пацієнтів з ГП у віці від 19 до 82 років (в середньому – $46,09 \pm 13,77$ років). Середній вік

чоловіків склав $43,34 \pm 12,3$ роки, жінок – $52 \pm 15,01$ роки. Критеріями включення були: вік від 18 років, верифікований діагноз ГП, час з моменту початку захворювання до поступлення у стаціонар не більше 48 години, згода хворого на участь у дослідженні. Всі хворі були проінформовані щодо мети проведення дослідження, препаратів, що застосовуються, та об'єму біохімічних та інструментальних досліджень з отриманням їхньої згоди.

Інтерстиціальний набряковий панкреатит був діагностований у 59 хворих (45,7%), НП – у 70 (54,3%).

З метою дослідження клінічної ефективності корекції оксидативного стресу у хворих на ГП були сформовані окремі репрезентативні групи в залежності від наявності та варіанту застосованої антиоксидантної терапії:

- 1 група (контрольна) – 47 пацієнтів, які отримували базисну інтенсивну терапію без антиоксидантів;
- 2 група (n=41) – хворі, котрі отримували базисну інтенсивну терапію з додаванням мексидолу;
- 3 група (n=41) – пацієнтів, котрі отримували базисну інтенсивну терапію з додаванням аскорбінової кислоти.

Хворі всіх 3 груп були розділені за формою ГП на 2 підгрупи:

- 1а, 2а та 3а підгрупи – пацієнти з набряковим ГП;
- 1б, 2б та 3б підгрупи – пацієнти з НП.

Групи порівняння були співставними між собою за статтю, середнім віком, оцінкою тяжкості ССЗВ та оцінками за шкалами SOFA та Marshall ($p > 0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1

Характеристика хворих на гострий панкреатит та розподіл їх на групи в залежності від варіанту антиоксидантної терапії та форми захворювання ($M \pm \sigma$)

Групи пацієнтів	Чоловіки/ жінки	Вік	Оцінка тяжкості ССЗВ	Стартова оцінка за SOFA	Стартова оцінка за Marshall
<i>Група 1 (контрольна)</i>					
1а (n=21)	15/6	$46,0 \pm 15,80$	$1,33 \pm 1,32$	$1,05 \pm 1,43$	$0,28 \pm 0,78$
1б (n=26)	20/6	$42,31 \pm 12,01$	$2,0 \pm 1,23$	$1,5 \pm 1,36^{\#}$	$1,0 \pm 1,55$
<i>Група 2 (мексидол)</i>					
2а (n=18)	12/6	$45,94 \pm 16,65$	$0,78 \pm 0,94$	$0,33 \pm 0,59$	$0,0 \pm 0,0$
2б (n=23)	14/9	$49,74 \pm 14,59$	$1,69 \pm 1,06$	$1,3 \pm 1,18$	$0,91 \pm 1,24$
<i>Група 3 (аскорбінова кислота)</i>					
3а (n=20)	13/7	$46,2 \pm 10,76$	$1,45 \pm 0,94^*$	$1,05 \pm 1,39$	$0,1 \pm 0,45$
3б (n=21)	14/7	$46,9 \pm 13,05$	$2,0 \pm 0,84$	$0,76 \pm 1,04$	$0,67 \pm 1,24$

Примітки:

1. * – різниця показників достовірна щодо підгрупи 2а ($p < 0,05$);
2. # – різниця показників достовірна щодо підгрупи 1б ($p < 0,05$).

Для проведення порівняльного аналізу хворих з ГП була обстежена група 15

здорових добровольців (група порівняння), яким було визначено показники ПОЛ (МДА), окисної модифікації білків (БКГ), АОС (ГПО, ГР, СОД).

Усім хворим проводили комплекс клініко-лабораторних (гематологічних, біохімічних, патоморфологічних, мікробіологічних) та інструментальних (рентгенологічного, сонографічного, ендоскопічного, томографічного) методів дослідження в залежності від показів та існуючих рекомендацій.

Ознаки ССЗВ встановлювались за загальноприйнятими показниками згідно критеріїв Консенсусної конференції ACCP/SCCM (1992) (Bone R. C. et al., 1992).

Для встановлення проявів органної дисфункції/недостатності використовувалась шкала SOFA (The Sepsis-related Organ Failure Assessment – сепсис-асоційована оцінка органної недостатності) (Vincent J. L. et al., 1998) та модифікована шкала Marshall (Marshall J. C. et al., 1995). Інтегральні шкали SOFA та Marshall були використані в подальшому для моніторингу стану хворих та оцінки ефективності проведеної терапії.

Визначення концентрації БКГ у сироватці крові здійснювали за методикою С. В. Шевчука та співавт. (Пат. України № 58110), МДА – за методикою Ю. А. Владимірова та співавт. (1976), ГПО та ГР – за методикою Г. А. Кругликова, У. М. Штутмана (1976), СОД – за методикою В. А. Костюка та співавт. (1990).

Лікування пацієнтів із ГП здійснювалось з урахуванням загальносвітових тенденцій і рекомендацій провідних експертів України (Березницький Я. С. та співавт., 2010; Фомін П. Д. та співавт., 2012; Мальцева Л. А. и соавт., 2014).

Згідно із запланованим дизайном дослідження хворі 2а та 2б підгруп для модуляції оксидативного стресу отримували мексидол у добовій дозі 9 мг/кг на фізіологічному розчині, розподілений на 3 введення, шляхом внутрішньовенного струминного введення впродовж 5 хвилин відповідно до рекомендацій виробника. Пацієнтам 3а та 3б підгруп була призначена аскорбінова кислота у добовій дозі 7 мг/кг на 5% глюкозі, розділений на два прийоми, внутрішньовенно струминно. Тривалість антиоксидантної терапії – 7 діб.

Дослідження проводили на момент госпіталізації хворих до відділення анестезіології та інтенсивної терапії та на 3 і 7 добу. Клінічне спостереження продовжували до дня виписки хворих із стаціонару. Кінцевими точками для оцінки ефективності проведеного лікування були тривалість лікування, наявність ознак персистоючої органної дисфункції, розвиток гнійно-септичних ускладнень, наявність показів та проведення оперативного втручання, летальність.

Отримані в процесі дослідження дані аналізувались за допомогою статистичних методів, з використанням пакету програм SPSS 20 (©SPSS Inc.).

Результати досліджень та їх обговорення. *Експериментальна частина дослідження.* У всіх тварин I серії дослідів макроскопічні ознаки ПЗ відповідали картині НП. ПЗ була збільшена в розмірах, набрякла, ущільнена, темно-червоного кольору з напруженою капсулою. На поверхні органа визначалися різнокаліберні діapedезні крововиливи. Парапанкреатична клітковина (ППК) була повнокровна, інфільтрована, у переважній більшості собак визначалися вогнища стеатонекрозу.

На аутопсії тварин II серії, котрим застосовувалась антиоксидантна терапія (мексидол або аскорбінова кислота) макроскопічно також констатована наявність змін, характерних для НП різного ступеня важкості. Проте, звертає увагу, що ПЗ в

більшості випадків мала збережену структуру, на відміну від I серії дослідів. У тварин II серії ППК була набряклою, але в ній крововиливів та некрозів виявлено не було. Важливо, що у всіх тварин II серії капсула ПЗ була збережена, діapedезних крововиливів не виявлено, у більшості тварин ознак різкого венозного повнокров'я не спостерігалось.

При мікроскопічному дослідженні зрізів ПЗ у всіх експериментальних тварин було виявлено ряд типових морфологічних змін, характерних для ГП (Ploessl I. et al., 2004; Hardman J. et al., 2005; Gulcubuk A. et al., 2005; Басов Ф. В., 2008).

Отримані дані свідчать, що на тлі пошкодження клітин ПЗ, порушення мікроциркуляції та вираженого внутрішньотканинного набряку в умовах експериментального ГП відбувається інтенсифікація процесів ПОЛ та ПОБ, про що свідчить зростання в плазмі піддослідних тварин БКГ, концентрація яких в 2 рази була вищою за показник групи порівняння (інтактні тварини) ($2,01 \pm 0,87$ проти $0,96 \pm 0,32$ мкмоль/г білка; $p=0,023$) та концентрація вторинного продукту ПОЛ – МДА в 1,8 рази вищою ($7,91 \pm 0,15$ проти $4,44 \pm 0,76$ мкмоль/л в групі порівняння; $p=0,007$). Водночас звертає увагу зниження активності глутатіонзалежних ензимів, котрі відіграють важливу роль у захисті від оксидативного стресу. Так, рівні ГПО ($9,93 \pm 0,84$ мкмоль НАДФН₂год/мг білка) та ГР ($4,01 \pm 0,91$ мкмоль НАДФН₂год/мг білка) у сироватці крові піддослідних тварин I серії дослідів були в 1,8 та 1,6 рази нижчі за показники групи інтактних тварин ($17,71 \pm 6,54$ та $6,34 \pm 1,21$ мкмоль НАДФН₂ год/мг білка, відповідно; $p=0,111$ та $p=0,028$). Проте, концентрація антиоксидантного ферменту СОД змінювалася протилежно – зростала до $41,93 \pm 10,69$ %гальм\окисл\кврцт ($p=0,23$) на відміну від показника групи інтактних тварин ($30,63 \pm 3,0$).

З'ясовано, що застосування антиоксидантів у II серії тварин дозволило істотно зменшити рівні продуктів ПОЛ та ПОБ в крові – МДА та БКГ на 12,4% та 39,8% ($p<0,05$). Відмічено й менш виражене зниження активності глутатіонзалежних ензимів крові в II серії тварин: рівень ГПО був на 15,7% нижчим за середній показник інтактних тварин ($p>0,05$), а зниження рівня ГР відбувалося на 11,9% в порівнянні з середнім показником у інтактних тварин ($p>0,05$). Слід зазначити, що між I та II серіями експериментальних тварин різниця активності глутатіонзалежних ензимів крові була достовірною ($p<0,05$). Концентрація СОД в II серії зростала в 1,3 рази до $38,52 \pm 13,0$ %гальм\окисл\кврцт ($p<0,05$) на відміну від показника серії інтактних тварин ($30,63 \pm 8,6$). Достовірні відмінності середніх концентрацій продуктів ПОЛ та ПОБ, а також активності АОС у піддослідних тваринам II-А та II-Б серії дослідів були відсутні ($p>0,05$) (табл. 2).

Морфологічне дослідження тканини ПЗ експериментальних тварин, у яких з метою лікувальної корекції застосовували антиоксиданти, показало істотне зменшення вираженості некробіотичних та некротичних змін ацинарної тканини, паренхіматозних і стромальних структур органу, розвиток ліпоматозу на місці загиблої паренхіми на момент виведення тварин з експерименту. В II-Б серії дослідів, де використовувалася аскорбінова кислота, на стадії 5 доби досліду відмічено зменшення кількості тромбованих та складжійованих судин мікроциркуляторного русла (рис. 1-А, Б).

Показники перекисного окислення ліпідів, білків та антиоксидантного захисту у піддослідних тварин з експериментальним гострим панкреатитом

Серія дослідів	Показники				
	МДА, мкмоль/л	БКГ, мкмоль/г білка	ГПО, мкмоль НАДФН ₂ год/мг білка	ГР, мкмоль НАДФН ₂ год/мг білка	СОД, % гальм\окисл\кврт
I	7,91±0,15	2,01±0,87	9,93±0,84	4,01±0,91	41,93±10,69
II-A	6,93±3,21	1,21±0,43	15,85±6,6	6,95±1,51	50,2±4,84
II-B	7,29±2,93	1,7±0,85	15,06±4,51	4,21±1,28	26,84±3,98

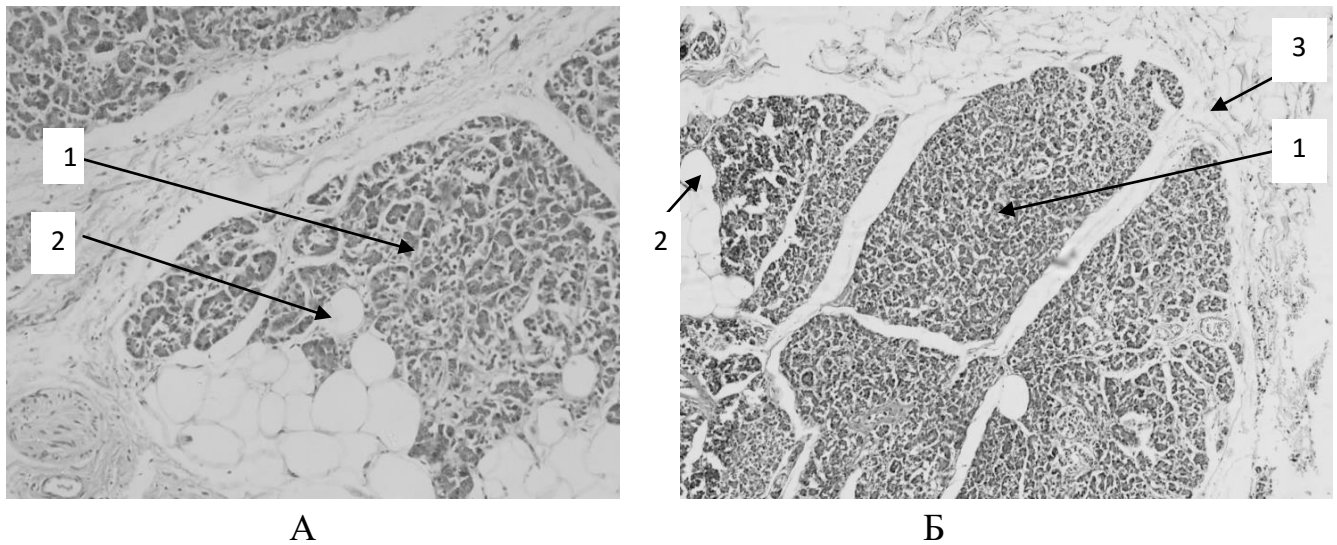


Рис. 1. (А) Структура тканини підшлункової залози собаки №5 (II-A серія дослідів). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10х. Об. 20х. 1 – збережені острівці паренхіми з запальною інфільтрацією серед вогнища фіброзу; 2 – поширене вогнище ліпоматозу на місці загиблої паренхіми. (Б) Структура тканини підшлункової залози собаки №13 (II-B серія дослідів). Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10х. Об. 10х. 1 – дистрофічні зміни паренхіми з дезорганізацією з вогнищами ліпоматозу; 2 – поширене вогнище ліпоматозу на місці загиблої паренхіми залози; 3 – набряк, запальна інфільтрація капсули підшлункової залози.

Морфометрична характеристика показала, що використання антиоксидантів для лікувальної корекції експериментального ГП забезпечує зменшення некробіотичних та некротичних змін в ацинарній тканині клітин ($p=0,005$) та паренхімі ($p=0,026$), запальної інфільтрації лейкоцитами і макрофагами ($p<0,05$), порівняно з I серією дослідів. Виявлені також достовірні відмінності у виразності фіброзу ($p=0,009$), атипової реактивної регенерації ($p<0,001$) та вакуолізації клітин ($p=0,043$) (табл. 3), з одного боку, свідчать про збереження функціональної активної тканини ПЗ на тлі антиоксидантної терапії, з іншого боку, доводять адекватну реалізацію структурами ураженої ПЗ своїх гістотипових потенцій.

Зменшення кількості тромбованих та сладжійованих судин мікроциркуляторного русла в II-B серії дослідів, де використовувалася аскорбінова

кислота, ймовірно позначилося на меншій частоті геморагій ($p=0,043$), порівняно з I серією тварин (табл. 3).

Таблиця 3

Порівняльна оцінка морфометричних характеристик в експерименті

Параметри оцінки	I серія дослідів	II серія дослідів	Значення t_{st}
	$M \pm \sigma$	$M \pm \sigma$	
Фіброз	$3,0 \pm 1,0$	$1,4 \pm 0,69^*$	3,187
Деструкція ацинарних клітин	$3,0 \pm 1,0$	$1,3 \pm 0,67^*$	3,468
Набряк	$2,83 \pm 1,04$	$2,2 \pm 1,09$	0,915
Жировий некроз	$1,0 \pm 0,0$	$0,3 \pm 0,48^*$	4,583
Некроз паренхіми	$3,17 \pm 0,76$	$0,9 \pm 0,46^*$	4,882
Запалення з інфільтрацією лейкоцитами	$3,0 \pm 0,5$	$1,55 \pm 0,64^*$	4,106
Запалення з інфільтрацією макрофагами	$3,0 \pm 0,87$	$1,55 \pm 0,64^*$	3,196
Пошкодження протоки	$1,0 \pm 0,0$	$0,6 \pm 0,52$	1,301
Атипова реактивна регенерація	$1,0 \pm 0,0$	$0,2 \pm 0,42^*$	6,0
Вакуолізація	$2,33 \pm 1,53$	$1,0 \pm 0,67^*$	2,282
Геморагії	$1,0 \pm 0,0$	$0,32 \pm 1,0^*$	2,281

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно з іншою групою.

Клінічна частина дослідження. Аналіз отриманих даних показав, що у хворих на ГП в ранній фазі ГП спостерігається виражена інтенсифікація процесів ПОЛ та ПОБ із значним нагромадженням маркерів оксидативного стресу: рівень БКГ збільшувався на 48,8% з $1,03 \pm 0,06$ мкмоль/г білка до $1,87 \pm 0,71$, а МДА – на 30,9% з $5,30 \pm 0,29$ мкмоль/л до $7,65 \pm 2,52$. Накопичення продуктів ПОЛ та ПОБ у периферичній крові відбувалося на тлі компенсаторної активації глутатіонзалежної ферментної системи та СОД. Так, рівні ГПО та ГР у сироватці крові хворих на ГП перевищували такі у здорових осіб в середньому на 24,3% та 46,9% відповідно. Відмічено й зростання концентрації СОД в середньому на 21,7% з $30,16 \pm 9,25$ гальм\окисл\кврцт (група порівняння) до $36,92 \pm 8,79$ у хворих на ГП.

Зміни показників оксидативного стресу були більш виразні у пацієнтів з НП. Зокрема, у хворих з НП мало місце більш виражена інтенсифікація процесів ПОЛ та ПОБ, про що свідчать достовірно вищий рівень БКГ – $2,34 \pm 0,71$ мкмоль/г білка, що у 1,4 рази вище ніж у групі набрякового ГП ($1,63 \pm 0,5$; $p < 0,001$) та більш висока концентрація МДА, який був вищим у групі НП та склав $9,0 \pm 1,99$ мкмоль/л, що у 1,5 рази більше за рівень при набряковому ГП ($6,1 \pm 2,19$; $p < 0,001$). Середній рівень ГПО достовірно відрізнявся порівняно з таким у пацієнтів з набряковим ГП ($25,67 \pm 6,29$ проти $19,35 \pm 8,06$ мкмоль НАДФН2 год/мг білка відповідно; $p < 0,001$), тоді як вміст ГР зростав на рівні тенденції. Нарешті, середній рівень СОД на момент поступлення був вищим у групі набрякового ГП та склав $42,71 \pm 8,75$ % гальм\окисл\кврцт, що було в 1,2 рази вище за групу НП з показником у $35,02 \pm 8,47$ ($p < 0,001$).

Виявлені відмінності між показниками ПОЛ та ПОБ та антиоксидантної

активності плазми хворих з набряковими та некротичними формами ГП зберігаються і впродовж 3 доби спостереження та лікування.

Встановлено, що у хворих на ГП зростання тяжкості ССЗВ асоціюється з підвищенням вмісту маркерів оксидативного стресу в сироватці крові. Так, вміст продуктів ПОБ (БКГ) достовірно зростав по мірі зростання тяжкості ССЗВ. Більш тісний зв'язок з тяжкістю ССЗВ мав маркер ліпопероксидації – МДА, вміст якого також зростав. Активність ГПО достовірно збільшувалася по мірі зростання тяжкості ССЗВ. Нарешті, вміст СОД у сироватці крові хворих зменшувався по мірі збільшення тяжкості ССЗВ. Остання найсильніше корелювала з рівнем МДА ($r=0,257$, $p<0,05$) та СОД ($r=-0,272$, $p<0,05$), дещо слабше – з вмістом БКГ ($r=0,217$, $p<0,05$) та ГПО ($r=0,204$, $p<0,05$) у сироватці крові.

Для визначення ефективності корекції оксидативного стресу у хворих на ГП та обґрунтування вибору антиоксиданту в залежності від форми ГП проведена порівняльна оцінка мексидолу та аскорбінової кислоти. Для цього на 1, 3 і 7 добу лікування проведено вивчення вмісту у плазмі крові БКГ, МДА та ферментів АОС (СОД та показників глутатіонзалежної ферментної системи – ГПО і ГР) в досліджуваних групах хворих з різними формами ГП.

При набряковому ГП наявні на початку захворювання явища оксидантного стресу частково купувались до 7 доби лікування, про що свідчило достовірне зниження концентрації БКГ та МДА в сироватці крові ($p<0,001$), хоча активність глутатіонзалежної ферментної системи крові все ж не мала тенденції до відновлення.

Для визначення відмінностей між 1а, 2а та 3а підгрупами хворих з набряковим ГП проведено розрахунок різниць середніх значень досліджуваних параметрів і їхнє порівняння для двох незалежних вибірок.

З'ясовано, що при набряковій формі ГП застосування аскорбінової кислоти у поєднанні із стандартизованим лікуванням в цілому не поступалось за ефектом мексидолу, зменшуючи впродовж ранньої (ферментативної) фази рівень МДА та мінімізує декомпенсаторні зміни активності глутатіонзалежної ферментної системи ($p<0,05$). Так, у процесі порівняння кінцевих і початкових рівнів показників оксидативного стресу та антиоксидантної активності плазми у хворих з підгрупи 1а, що не отримувала антиоксидантної терапії, та у 2а підгрупі, в якій призначався мексидол, отримано значущі відмінності в динаміці рівнів МДА та СОД в сироватці крові. При порівнянні аналогічних даних між 1а підгрупою та хворими 3а підгрупи, які отримували аскорбінову кислоту, виявлено значущі відмінності тільки в динаміці рівнів МДА плазми крові (табл. 4). Відмінностей між підгрупами в концентрації БКГ, ГПО та ГР сироватки крові встановлено не було ($p>0,05$). Не виявлено також достовірних відмінностей між цими підгрупами й у середніх значеннях показників та тяжкості ССЗВ, а також тяжкості органної дисфункції через 7 діб лікування.

Достовірних відмінностей між підгрупами хворих з набряковим ГП встановлено не було: в 1а підгрупі був зареєстрований 1 (4,8%) летальний випадок, в 3а підгрупі також був 1 летальний випадок, що склало 5%. Це вірогідно свідчить про відсутність впливу антиоксидантної терапії на результат лікування набрякових форм даного захворювання.

Відмінності динаміки показників оксидативного стресу та антиоксидантної активності плазми у хворих з набряковим гострим панкреатитом

Показники	1а підгрупа (n=21)	2а підгрупа (n=18)	3а підгрупа (n=20)
	М±μ різниці	М±μ різниці	М±μ різниці
БКГ, мкмоль/г білка	-0,75±0,08	-0,8±0,08	-0,64±0,1
МДА, мкмоль/л	-1,91±0,29	-3,28±0,44*	-3,04±0,43*
ГПО, мкмоль НАДФН ₂ год/мг білка	-9,06±1,83	-13,84±1,41	-13,37±1,47
ГР, мкмоль НАДФН ₂ год/мг білка	-2,52±0,17	-1,99±0,48	-3,4±0,32
СОД, % гальм\окисл\кврцт	12,25±1,11	18,16±1,77*	14,51±1,57

Примітка. * – p<0,05 порівняно з іншою підгрупою.

У процесі порівняння кінцевих і початкових рівнів маркерів оксидативного стресу у хворих з НП в 1б та 2б підгрупах отримано значущі відмінності в динаміці рівнів МДА та ГПО в сироватці крові, тоді як зміни в концентрації БКГ, ГР та СОД в сироватці крові були незначущими (p>0,05). Водночас, порівняння показників хворих з НП у 1б та 3б підгрупах виявило значущі відмінності тільки в динаміці рівнів МДА (табл. 5).

Таблиця 5

Відмінності динаміки показників оксидативного стресу та антиоксидантної активності плазми у хворих з некротиним гострим панкреатитом

Показники	Підгрупа 1б (n=26)	Підгрупа 2б (n=23)	Підгрупа 3б (n=20)
	М±μ різниці	М±μ різниці	М±μ різниці
БКГ, мкмоль/г білка	-0,79±0,14	-1,08±0,14	-0,78±0,16
МДА, мкмоль/л	-0,86±0,45	-5,24±0,48*	-4,8±0,44*
ГПО, мкмоль НАДФН ₂ год/мг білка	-8,24±1,73	-2,72±0,73*	-6,34±1,81
ГР, мкмоль НАДФН ₂ год/мг білка	-1,41±0,23	-1,4±0,54	-1,49±0,55
СОД, % гальм\окисл\кврцт	0,13±2,69	0,16±1,72	0,88±1,89

Примітка. * – p<0,05 порівняно з іншою підгрупою.

Істотні відмінності виявлені в динаміці показників ССЗВ: в 2б підгрупі на 7-му добу лікування спостерігалися достовірно нижчі показники температури тіла (37,03±0,72⁰С проти вихідного значення 37,6±0,58⁰С) та ЧСС (80,96±9,28 уд./хв. проти 93,09±14,3 уд./хв. на початку дослідження), p<0,01. Лейкоцитоз крові також швидше нормалізувався в 2б підгрупі, та до 7-ої доби лікування кількість лейкоцитів та кількість їх незрілих форм була менше на 20,1% та 47,3% відповідно, у порівнянні з 1б підгрупою: лейкоцитоз в 2б підгрупі – 9,16±3,15 Г/л проти 11,46±4,36 в 1б підгрупі (p=0,042), кількість незрілих форм лейкоцитів – 7,14±3,75% проти 13,54±11,8 відповідно (p=0,019).

Під час аналізу показників ССЗВ на етапах дослідження відмічається, що включення в інтенсивну терапію аскорбінової кислоти істотно на динаміку даних

показників не вплинуло.

Отже, можна стверджувати, що у хворих з НП мексидол має певні переваги, оскільки його включення в програму інтенсивної терапії пацієнтів з НП дозволило знизити ступінь вираженості ССЗВ, що корелювало із зниженням інтенсивності ПОБ ($r=0,441$; $p=0,035$) та ПОЛ ($r=0,564$; $p=0,005$), а також із підвищенням активності ферменту АОС – СОД ($r=-0,480$; $p=0,020$).

Протягом 1 тижня захворювання (рання летальність) було зареєстровано 2 (7,7%) летальних випадки в 1б підгрупі та 2 (9,5%) в 3б підгрупі. В більш пізні терміни захворювання (пізня летальність) в 2б підгрупі померло 5 (21,7%) пацієнтів, в підгрупі 3б – 3 (15,8%) хворих, що достовірно не відрізнялося від показників 1б підгрупи, де померло 5 (20,8%) хворих ($p>0,05$).

Відмінності оцінки результатів лікування за кінцевими пунктами, пов'язані з проведеним видом терапії представлені на рисунку 2.

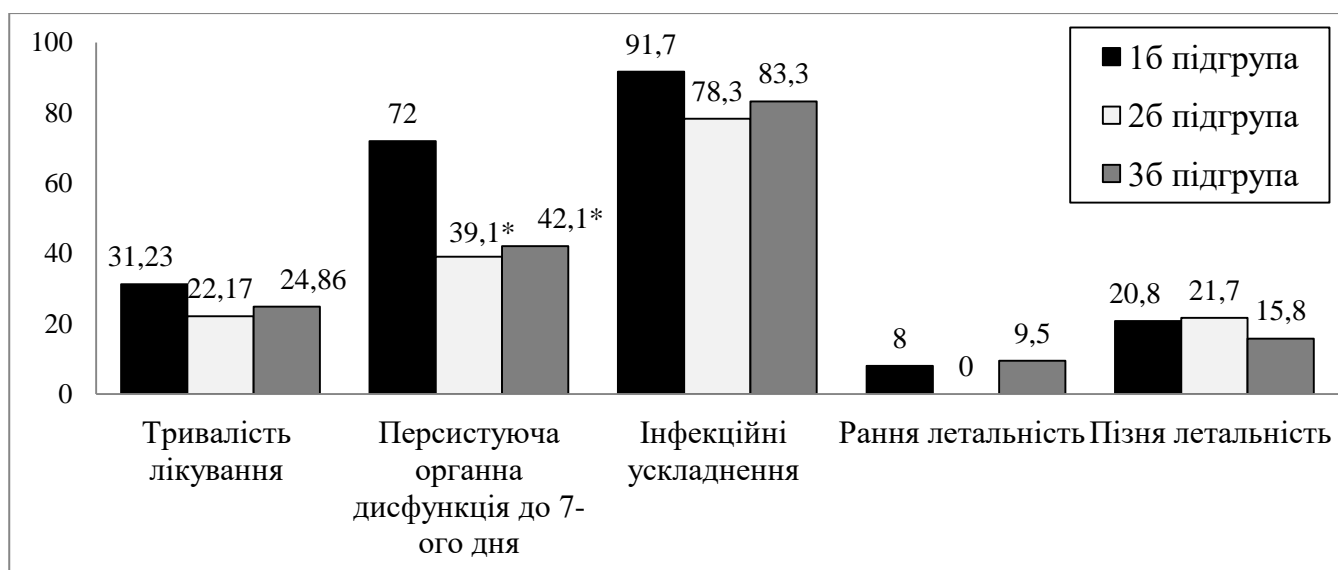


Рис. 2. Оцінка результатів лікування хворих з некротичним гострим панкреатитом за кінцевими точками.

Як видно з рисунку 2, тривалість лікування, частота інфекційних ускладнень та летальність відрізнялися, але не були достовірними. Водночас, до 7 доби лікування встановлено зниження частоти органних порушень, визначених згідно критеріїв модифікованої шкали Marshall, з 72% до 39,1% при застосуванні мексидолу ($p=0,022$) та до 42,1% при застосуванні аскорбінової кислоти ($p=0,031$).

На останньому етапі клінічної частини дослідження проведено аналіз частоти та структури хірургічних втручань у хворих з ГП, а також досліджено фактори ризику оперативних втручань у пацієнтів із корекцією оксидативного стресу.

Панкреатична інфекція була діагностована у 55 з 65 (84,6%) хворих із НП, з них: у 22 (91,7%) пацієнтів 1 групи, 18 (78,3%) та 15 (83,3%) хворих 2 та 3 групи ($p>0,05$). Асептичне крупновогнищеве ураження ПЗ спостерігалось у 2 (8,4%) хворих у 1 групи, у 5 (21,8%) – в 2 та у 3 (16,7%) – в 3 групі ($p>0,05$). Розподіл пацієнтів у залежності від форми НП у досліджуваних групах наведений на рисунку 3.

Оперативні втручання були проведені у 38 (69,1%) з 55 пацієнтів з гнійно-

інфекційними ускладненнями НП та клінічними проявами сепсису. В 1 групі хірургічне лікування отримали 17 (77,3%) з 22 хворих із інфікованим НП, в 2 – 12 (66,7%) з 18 пацієнтів, в 3 – 9 (60%) з 15 хворих ($p>0,05$). Оперативні втручання виконувались з 14 по 52 добу від початку захворювання, середній показник в 1 групі $17,6\pm 9,1$ діб, в 2 та 3 групах – $20,3\pm 10,3$ та $19,1\pm 10,7$ діб ($p>0,05$).

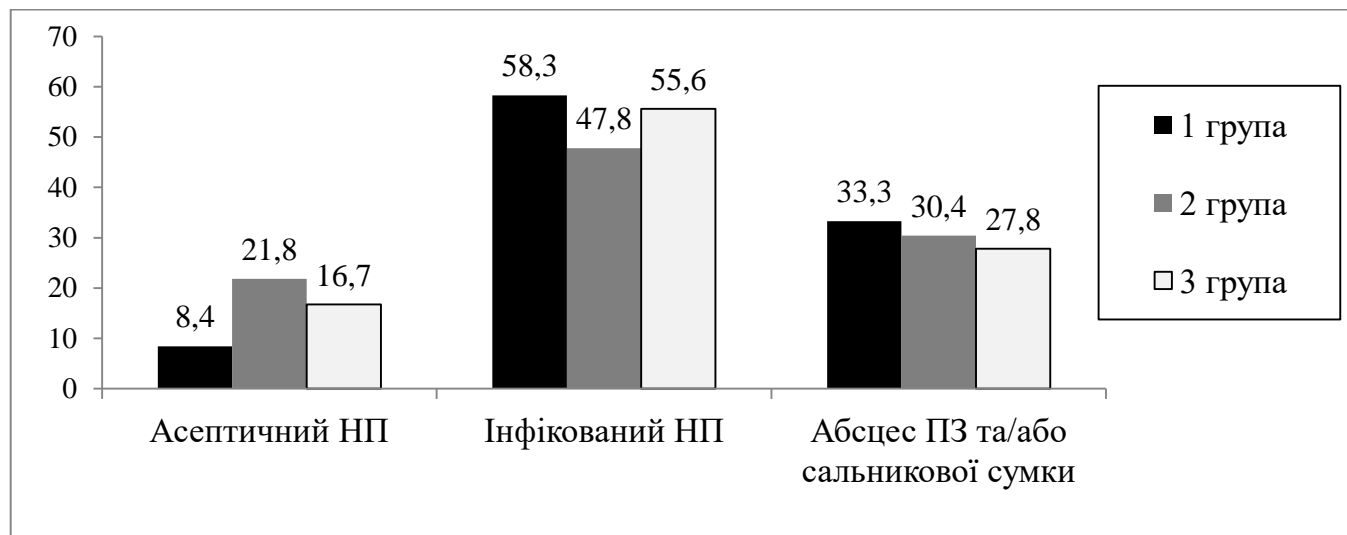


Рис. 3. Розподіл хворих у групах порівняння в залежності від форми некротичного панкреатиту.

В усіх групах порівняння у переважної більшості прооперованих хворих – 31 (81,6%) з 38 пацієнтів були проведені відкриті порожнинні операції, а у решти 7 (18,4%) – мініінвазивні втручання. Значущої різниці в структурі оперативних втручань між групами знайдено не було (табл. 6).

Таблиця 6

Характеристика виконаних оперативних втручань в групах порівняння

Вид оперативного втручання	Кількість прооперованих хворих, n (%)		
	1 група (n=17)	2 група (n=12)	3 група (n=9)
Некрсеквестрэктомія	9 (52,9%)	5 (41,7%)	4 (44,4%)
Холецистектомія (зовнішнє дронування холедоха за Піковським)	1 (5,9%)	–	1 (11,1%)
Дренування кіст та абсцесів	10 (58,8%)	8 (66,7%)	5 (55,6%)
Розкриття та дронування заочеревинного простору	5 (29,4%)	3 (25%)	3 (33,3%)
Закрите дронування сальникової сумки	11 (64,7%)	9 (75%)	6 (66,7%)
Відкрите дронування сальникової сумки	3 (17,6%)	1 (8,3%)	1 (11,1%)
Мініінвазивні втручання:			
- дронування абсцесу	3 (12,5%)	2 (8,6%)	2 (11,1%)
- дронування сальникової сумки	1 (4,2%)	1 (4,3%)	1 (5,6%)
	2 (8,3%)	1 (4,3%)	1 (5,6%)

Релапаротомії потребувало 9 хворих: 5 (29,4%) хворих на НП 1 групи, 2 (16,7%) – у 2 групі та 2 (22,2%) – в 3 групі. Потреба у виконанні першої релапаротомії у хворих з НП суттєво не відрізнялася ($p > 0,05$). Необхідність повторного оперативного втручання визначалася наявністю ознак прогресуючого гнійно-некротичного процесу в ПЗ та заочеревинному просторі, секвестрацією некротичних тканин ПЗ та ППК, при інфікуванні яких утворювались вторинні гнійники, неадекватністю дренивання або санаційних заходів.

Для вирішення завдання дослідження ми виділили 2 групи хворих. В одній з них на стадії секвестрації проводилися оперативні втручання в зв'язку з розвитком панкреатичного інфікування (основна група, $n=38$), а в іншій вони не використовувалися (контрольна група, $n=27$). Одночасно був проведений кореляційний аналіз з урахуванням ряду клініко-лабораторних даних перш за все показників оксидативного стресу, враховуючи факт проведення антиоксидантної терапії (табл. 7).

Таблиця 7

Сироваткові рівні показників оксидативного стресу та антиоксидантної активності плазми у обстежених осіб

Показники	Пацієнти без оперативного втручання ($n=27$)	Прооперовані пацієнти ($n=38$)	Значення t_{st}
	$M \pm \sigma$	$M \pm \sigma$	
БКГ, мкмоль/г білка	$0,98 \pm 0,3$	$1,45 \pm 0,67^*$	5,232
МДА, мкмоль/л	$3,55 \pm 1,5$	$4,63 \pm 1,62^*$	3,892
ГПО, мкмоль НАДФН ₂ год/мг білка	$12,52 \pm 4,55$	$8,46 \pm 3,39^*$	-5,763
ГР, мкмоль НАДФН ₂ год/мг білка	$6,12 \pm 1,46$	$5,24 \pm 1,64^*$	-3,176
СОД, % гальм\окисл\кврцт	$44,4 \pm 13,01$	$55,83 \pm 10,33^*$	5,518

Примітка. * – $p < 0,01$ порівняно з іншою групою.

Як видно з таблиці 7, у прооперованих хворих рівень БКГ був в 1,5 разів, МДА – в 1,3 разів в крові вище ($p < 0,001$), а рівні ГПО та ГР – відповідно в 1,5 та 1,2 рази нижче ($p < 0,01$), порівняно з тими пацієнтами, яким оперативне втручання не проводились. Звертає увагу той факт, що середні значення СОД у прооперованих хворих були майже в 1,3 рази вищими ($55,83 \pm 10,33\%$ гальм\окисл\кврцт), ніж у не оперованих ($44,4 \pm 13,01\%$, $p < 0,001$).

Для оцінки ефективності використання показників оксидативного стресу та антиоксидантної активності плазми в якості критерію прогнозування вірогідності оперативних втручань у хворих із корекцією оксидативного стресу проведений ROC-аналіз. На рисунку 4 представлені графічні данні ROC-аналізу, з яких видно, що визначення тільки рівнів МДА (рис. 4-А), ГПО (рис. 4-Б) та ГР (рис. 4-В) наприкінці ранньої (ферментативної) фази ГП є достатньо чутливим і специфічним методом для прогнозування вірогідності оперативних втручань у хворих з приводу інфекційних ускладнень в пізній стадії (секвестрації) (табл. 8).

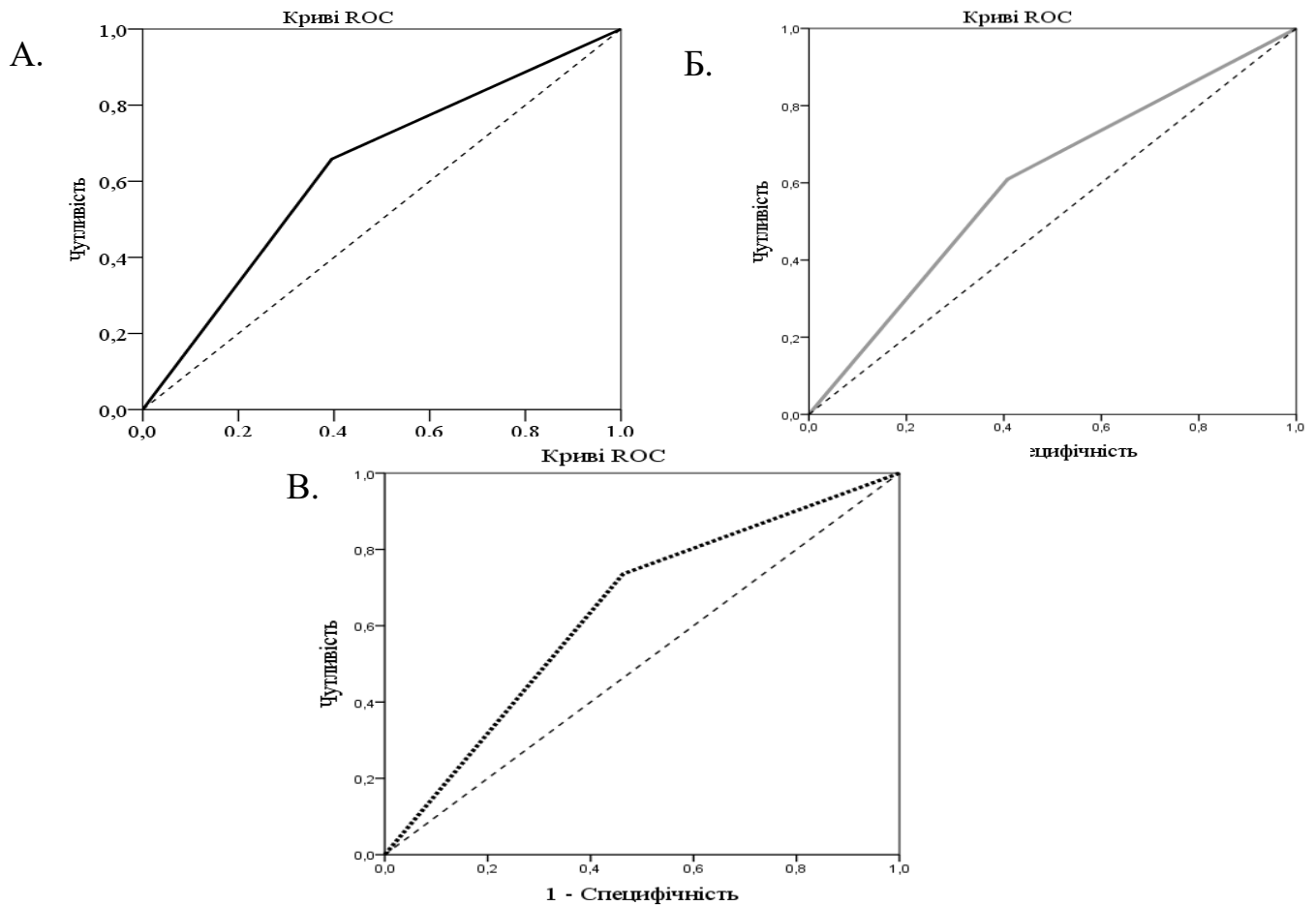


Рис. 4. ROC-криві вірогідності оперативних втручань у хворих із корекцією оксидативного стресу від рівня малонового діальдегідів крові (А), глутатіонпероксидази (Б), глутатіонредуктази (В) в крові.

Таблиця 8

Характеристики ROC-кривих показників оксидативного стресу та антиоксидантної активності плазми для прогнозування вірогідності оперативних втручань у хворих із корекцією оксидативного стресу

Показник	Площа (AUC)	p	95% довірчий інтервал
МДА	0,632	0,017	0,528-0,735
ГПО	0,601	0,049	0,504-0,697
ГР	0,636	0,007	0,540-0,732

В таблиці 9 наведені обрані діагностичні рівні (точка відсічення, cut-off) інтегральних показників оксидативного стресу та антиоксидантної активності плазми із зазначенням відповідних їм показниками діагностичної значущості. Слід зазначити, що діагностичний поріг ми обрали у відповідності з найбільш актуальними клінічними вимогами. В нашому випадку за критерій вибору порогу прийнятим був рівень показників з максимальною сумою чутливості та специфічності.

Діагностичний поріг, чутливість та специфічність показників оксидативного стресу та антиоксидантної активності плазми для прогнозування вірогідності оперативних втручань у хворих із корекцією оксидативного стресу

Показник	Величина cut-off	Чутливість	Специфічність
МДА	Вище 3,68 мкмоль/л	65,9%	60,5%
ГПО	Нижче 8,49 мкмоль НАДФН ₂ год/мг білка	70,7%	63,2%
ГР	Нижче 5,18 мкмоль НАДФН ₂ год/мг білка	85,4%	46,5%

Як видно, граничне значення (cut-off), при якому реєструється достовірне збільшення вірогідності оперативних втручань у хворих із корекцією оксидативного стресу, склало для МДА $\geq 3,68$ мкмоль/л, ГПО $\leq 8,49$ мкмоль НАДФН₂год/мг білка та ГР $\leq 5,18$ мкмоль НАДФН₂год/мг білка. Вираховані прогностичні моделі мають помірний ступінь точності (AUC = 0,632; 0,601 та 0,636 відповідно), що вимагає використання цих показників в комплексі з іншими клініко-лабораторними даними.

Таким чином, дослідження рівнів продукту ПОЛ – МДА та ферментів глутатіонзалежної системи крові (ГПО, ГР) може бути використано для прогнозування вірогідності оперативних втручань у хворих із корекцією оксидативного стресу. Отримані результати дослідження відображають участь цих агентів в прогресуванні патологічного процесу, підтриманні ССЗВ, та, ймовірно, у створенні умов для інфікування панкреатичної тканини.

З прогностичних моделей витікає, що при перевищенні сироваткової концентрації МДА $\geq 3,68$ мкмоль/л (чутливість – 65,9%, специфічність – 60,5%), а також пригніченні активності ГПО $\leq 8,49$ мкмоль НАДФН₂год/мг білка (чутливість – 70,7%, специфічність – 63,2%) та ГР $\leq 5,18$ мкмоль НАДФН₂год/мг білка (чутливість – 85,4%, специфічність – 46,5%) кумулятивний ризик розвитку панкреатичного інфікування зростає (відносний ризик збільшується у 2,09; 2,16 і 3,31 відповідно), що вимагає проведення оперативного втручання у хворих із корекцією оксидативного стресу.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення результатів клініко-лабораторного дослідження перебігу ранньої (ферментативної) фази ГП та нове вирішення актуального науково-практичного завдання – покращення результатів лікування хворих на ГП шляхом поєднання стандартизованого консервативного лікування з антиоксидантною терапією.

1. Встановлено, що антиоксидантна терапія сприяє зменшенню деструкції ацинарних клітин ($p=0,005$), некрозу паренхіми ($p=0,026$), запальної інфільтрації лейкоцитами і макрофагами ($p<0,05$), атипової реактивної регенерації ($p<0,001$) в умовах експериментального ГП; виявлено активізацію проліферації, посилення регенерації епітеліальних, сполучнотканинних структур підшлункової залози, судин мікроциркуляторного русла, асоційовані із впливом застосованих антиоксидантних препаратів (мексидол, аскорбінова кислота).

2. З'ясовано, що застосування антиоксидантів при експериментальному ГП істотно зменшує рівні продуктів ПОЛ та ПОБ в крові – МДА та БКГ на 12,4% та 39,8% ($p < 0,05$) та мінімізує пригнічення активності глутатіонзалежних ензимів – ГПО на 15,7% та ГР еритроцитів на 11,9% в ході розвитку патологічного процесу ($p < 0,05$).

3. Визначено, що у хворих на ГП в ранній фазі захворювання спостерігається виражена інтенсифікація процесів ПОЛ та ПОБ із значним нагромадженням маркерів оксидативного стресу: рівень БКГ збільшувався на 48,8% з $1,03 \pm 0,06$ мкмоль/г білка до $1,87 \pm 2,14$ мкмоль/г білка, а МДА – на 30,9% з $5,30 \pm 0,29\%$ мкмоль/л до $7,71 - 7,66$ мкмоль/л, що асоціюється з ступенем тяжкості ССЗВ та глибиною морфологічних змін у ПЗ. У хворих з некротичним ГП на тлі депресії ферментів АОС крові рівні БКГ та МДА були відповідно у 1,4 та 1,5 рази вищим, ніж при набряковій формі захворювання ($p < 0,001$).

4. Виявлено, що при набряковій формі ГП застосування аскорбінової кислоти у поєднанні із стандартизованим лікуванням не поступається за ефектом мексидолу, зменшуючи впродовж ранньої (ферментативної) фази рівень МДА та мінімізує декомпенсаторні зміни активності глутатіонзалежної ферментної системи ($p < 0,05$). У хворих з НП модуляція оксидативного стресу з використанням мексидолу сприяє зменшенню проявів ССЗВ, що корелює із зниженням інтенсивності ПОБ ($r = 0,441$; $p = 0,035$) та ПОЛ ($r = 0,564$; $p = 0,005$), та менш вираженій депресії функціонального стану глутатіонзалежної АОС ($p < 0,05$), ніж застосування аскорбінової кислоти. Встановлено, що модуляція оксидативного стресу зменшує частоту органних порушень до 7-ої доби лікування з 72% до 39,1% при застосуванні мексидолу ($p = 0,022$) та до 42,1% при застосуванні аскорбінової кислоти ($p = 0,031$).

5. Підвищення сироваткової концентрації МДА $\geq 3,68$ мкмоль/л (чутливість – 65,9%, специфічність – 60,5%), пригнічення активності ГПО $\leq 8,49$ мкмоль НАДФН₂год/мг білка (чутливість – 70,7%, специфічність – 63,2%) та ГР $\leq 5,18$ мкмоль НАДФН₂год/мг білка (чутливість – 85,4%, специфічність – 46,5%) до 7-ої доби лікування ГП, асоціюється з підвищенням ризику панкреатичного інфікування, що потребує оперативного втручання, в 2,09; 2,16 і 3,31 рази, відповідно.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. При проведенні інтенсивної терапії хворим з гострим панкреатитом, для об'єктивізації ступеня тяжкості стану необхідно застосовувати комплексне обстеження, яке включає: динамічне визначення показників оксидативного стресу (білкові карбонільні групи, малоновий діальдегід) та активності глутатіонзалежних ензимів (глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза еритроцитів).

2. Для диференційної діагностики форми ГП доцільно використовувати БКГ, МДА, ГПО, ГР та СОД.

3. Для медикаментозної корекції оксидативного стресу в ранній фазі гострого панкреатиту всім пацієнтам з набряковою формою захворювання показано включення до складу комплексної терапії антиоксидантів (аскорбінової кислоти або мексидолу), а пацієнтам з НП – мексидолу.

4. Доцільним є визначення показників оксидативного стресу та активності системи антиоксидантного захисту крові на 7 добу з моменту клінічної маніфестації гострого панкреатиту.

5. Пацієнтів з НП, у яких на 7 добу лікування виявленні сироваткові концентрації малонового діальдегіду $\geq 3,68$ мкмоль/л, глутатіонпероксидази $\leq 8,49$ мкмоль НАДФН₂год/мг білка та глутатіонредуктази $\leq 5,18$ мкмоль НАДФН₂год/мг білка, доцільно вважати такими, у яких вище ризик розвитку панкреатичного інфікування з необхідністю проведення оперативного втручання.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Столярчук О. В. Сучасні підходи при лікуванні гострого панкреатиту / О. В. Столярчук // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 538-541.

2. Столярчук О. В. Бактеріальний моніторинг як метод раціональної антибактеріальної терапії у хірургічному відділенні / О. В. Столярчук // Biomedical and biosocial anthropology. – 2012. – № 19. – С. 199-202.

3. Столярчук О. В. Показники оксидативного стресу у диференціації різних форм гострого панкреатиту / О. В. Столярчук // Харківська хірургічна школа. – 2015. – № 4 (73). – С. 54-57.

4. Петрушенко В. В. Патоморфологічні зміни тканини підшлункової залози в умовах експериментального гострого панкреатиту при використанні антиоксидантів / В. В. Петрушенко, О. В. Столярчук // Вісник морфології. – 2016 – Т. 22, № 1. – С. 64-68. *(Дисертантом проведений патентний пошук, підбір та аналіз клінічного матеріалу).*

5. Петрушенко В. В. Оксидативний стрес у хворих на гострий панкреатит: асоціації з синдромом системної запальної відповіді та органною дисфункцією // В. В. Петрушенко, О. В. Столярчук / Медицина неотложных состояний. – 2016 – № 2 (73). – С. 128-132. *(Дисертантом особисто здійснено пошук літературних джерел, аналіз сучасного стану проблеми, написання першого варіанту статті).*

6. Столярчук А. В. Динамика изменений оксидативного стресса у пациентов с панкреонекрозом при лечении антиоксидантами / А. В. Столярчук // Современные исследования медико-биологических наук. Сборник материалов международной научной конференции. Москва, 29-31 января 2014 г. [Электронный ресурс] / под ред. проф. В. В. Петрушенко. – Киров : МЦНИП, 2014. – С. 49-57.

7. Столярчук А. В. Особенности течения оксидативного стресса у пациентов с острым отечным панкреатитом / А. В. Столярчук // Клиническая и профилактическая медицина: опыт и новые открытия. Сборник материалов международной научной конференции. Москва, 26-28 июня 2014 г. [Электронный ресурс] / под ред. проф. Т. Н. Зариповой. – Киров : МЦНИП, 2014. – С. 207-213.

АНОТАЦІЯ

Столярчук О.В. Корекція оксидативного стресу у хворих на гострий панкреатит (клініко-експериментальне дослідження). – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.03 – хірургія. – Вінницький національний медичний

університет імені М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2016.

Наукова робота присвячена вивченню ефективності корекції оксидативного стресу у хворих на гострий панкреатит з метою покращення якості і результатів лікування та зменшення ускладнень цього захворювання. Досліджено ефективність антиоксидантної терапії в умовах експериментального гострого панкреатиту. Показана можливість оптимізуючого впливу антиоксидантної терапії на вираженість некробіотичних та некротичних змін, перебіг репаративних процесів при гострому експериментальному панкреатиті, а також зниження інтенсивності проявів оксидативного стресу та зменшення пригнічення антиоксидантного захисту.

Проведено комплексну оцінку показників оксидативного стресу та системної запальної реакції у 129 пацієнтів із гострим панкреатитом в ранній фазі захворювання. Проведено порівняльний аналіз вільнорадикального окислення та антиоксидантного захисту в залежності від форми гострого панкреатиту.

Обґрунтовано вибір антиоксиданту в залежності від форми гострого панкреатиту в комплексній терапії ранньої фази захворювання. Доведено, що застосування при набряковій формі гострого панкреатиту аскорбінової кислоти у поєднанні із стандартизованим лікуванням не поступається за ефектом мексидолу, зменшуючи впродовж ранньої (ферментативної) фази рівень малонового діальдегіду та мінімізуючи декомпенсаторні зміни активності глутатіонзалежної ферментної системи ($p < 0,05$). Показано, що застосування антиоксидантів при некротичному панкреатиті не усуває депресію ферментів антиоксидантної системи, але застосування мексидолу дозволяє знизити ступінь вираженості проявів синдрому системної запальної відповіді, що корелює із зниженням інтенсивності перекисного окислення білків та ліпідів.

Розроблено систему прогнозування вірогідності оперативних втручань у хворих із корекцією оксидативного стресу.

Ключові слова: гострий панкреатит, патоморфологічні зміни в підшлунковій залозі, оксидативний стрес, синдром системної запальної відповіді, антиоксидантна терапія.

АННОТАЦІЯ

Столярчук А.В. Коррекция оксидативного стресса у больных острым панкреатитом (клинико-экспериментальное исследование). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.03 – хирургия. – Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2016.

Научная работа посвящена изучению эффективности коррекции оксидативного стресса у больных острым панкреатитом с целью улучшения качества и результатов лечения и уменьшения осложнений данного заболевания. Исследована эффективность антиоксидантной терапии в условиях экспериментального острого панкреатита. Показана возможность оптимизирующего влияния антиоксидантной терапии на выраженность некробиотических и некротических изменений и течение репаративных процессов

при остром экспериментальном панкреатите. Установлено, что использование антиоксидантной терапии существенно уменьшает оксидативный стресс в ткани поджелудочной железы и минимизирует подавление активности глутатионзависимой энзимов – глутатионпероксидазы на 15,7% и глутатионредуктазы на 11,9% в ходе развития патологического процесса.

Проведена комплексная оценка показателей оксидативного стресса и системной воспалительной реакции у 129 пациентов с острым панкреатитом. Определено, что у больных с острым панкреатитом в ранней фазе заболевания наблюдается выраженная интенсификация процессов перекисного окисления белков и липидов со значительным накоплением маркеров оксидативного стресса: уровень белковых карбонильных групп увеличивается на 48,8%, малонового диальдегида – на 30,9%, что ассоциируется со степенью тяжести синдрома системного воспалительного ответа и глубиной морфологических изменений в поджелудочной железе. У больных с некротическим острым панкреатитом на фоне депрессии ферментов антиоксидантной системы крови уровни белковых карбонильных групп и малонового диальдегида соответственно в 1,4 и 1,5 раза выше, чем при отечной форме заболевания ($p < 0,001$). Полученные данные могут быть использованы для дифференциальной диагностики формы острого панкреатита.

Обосновано выбор антиоксиданта в зависимости от формы острого панкреатита в комплексной терапии ранней фазы заболевания. Доказано, что применение при отечном остром панкреатите аскорбиновой кислоты в сочетании со стандартизированным лечением не уступает по эффекту мексидолу, уменьшая в течение ранней (ферментативной) фазы уровень малонового диальдегида и минимизируя декомпенсаторные изменения активности глутатионзависимой ферментной системы ($p < 0,05$). Показано, что применение антиоксидантов при некротическом не устраняет депрессию ферментов антиоксидантной системы, но применение мексидола позволяет снизить степень выраженности проявлений синдрома системного воспалительного ответа, что коррелирует со снижением интенсивности перекисного окисления белков и липидов.

Нами разработана система прогнозирования вероятности оперативных вмешательств у больных с коррекцией оксидативного стресса. Выявлено, что повышение сывороточной концентрации малонового диальдегида $\geq 3,68$ мкмоль/л (чувствительность - 65,9%, специфичность - 60,5%), подавление активности глутатионпероксидазы $\leq 8,49$ мкмоль НАДФН₂/год/мг белка (чувствительность - 70,7%, специфичность - 63,2%) и глутатионредуктазы $\leq 5,18$ мкмоль НАДФН₂/год/мг белка (чувствительность - 85,4%, специфичность - 46,5%) до 7-му дня лечения острого панкреатита, ассоциируется с повышением риска панкреатического инфицирования, что требует оперативного вмешательства, в 2,09; 2,16 и 3,31 раза соответственно.

Ключевые слова: острый панкреатит, патоморфологические изменения в поджелудочной железе, оксидативный стресс, синдром системного воспалительного ответа, антиоксидантная терапия.

ABSTRACT

Stolyarchuk O.V. Correction of oxidative stress in patients suffering from acute pancreatitis (clinical-experimental research). - Manuscript.

Dissertation for the scientific degree of Candidate of Medical Science (speciality 14.01.03 – Surgery). – Vinnitsya National Medical M. Pirogov University, Health Ministry of Ukraine Vinnitsya, 2016.

The scientific work is devoted to the investigation of the efficiency of oxidative stress correction in patients suffering from acute pancreatitis with the object of improving the quality and results of treatment and abatement complications of this illness. The efficiency of antioxidant therapy under experimental acute pancreatitis conditions has been researched. The possibility of optimizing influence of antioxidant therapy on necrobiotic and necrotic changes were shown, reparative processes course in case of acute experimental pancreatitis and also reduction of the intensity manifestation of oxidative stress and reduction of depression of antioxidant protection system has been shown.

Complex valuation of oxidative stress signs and systemic inflammatory reaction of 129 patients during early stage of acute pancreatitis has been investigated. Comparative analysis of free radical oxidation and antioxidant defense depending on acute pancreatitis form has been made.

Choice of antioxidant depending on the form of acute pancreatitis during early stage in complex therapy has been substantiated. It was proved that ascorbinic acid in combination with standard treatment at interstitial form of acute pancreatitis doesn't yield to mexidol in effect, it was manifested in the reduction of malondialdehyde level and minimize (the) decompensation changes of glutation-depending antioxidant system ($p < 0,05$) during early phase. It has been shown that use of antioxidants at necrotic pancreatitis does not eliminate depression of enzymes antioxidant system, but use of mexidol allows to reduce the severity of systemic inflammatory response syndrome which correlates with lowering lipid and protein peroxidation intensity.

Prognosis system of probability of the surgical interference in patients with the oxidative stress correction has been elaborated.

Key words: acute pancreatitis, morphological changes in the pancreas, oxidative stress, systemic inflammatory response syndrome, antioxidant therapy.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АОС	– антиоксидантна система захисту
АФК	– активні форми кисню
БКГ	– білкові карбонільні групи
ГП	– гострий панкреатит
ГПО	– глутатіонпероксидаза
ГР	– глутатіонредуктаза
МДА	– малоновий діальдегід
НП	– некротичний панкреатит
ПЗ	– підшлункова залоза
ПОБ	– перекисне окислення білків
ПОЛ	– перекисне окислення ліпідів
ПОН	– поліорганна недостатність
ППК	– парапанкреатична клітковина
СОД	– супероксиддисмутаза
ССЗВ	– синдром системної запальної відповіді
УЗД	– ультразвукове дослідження
ЧД	– частота дихання
ЧСС	– частота серцевих скорочень

Підписано до друку 26.05.2016 р. Зам. № 142.
Формат 60x90/16. Ум. друк. арк. 0,9. Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І. Пирогова, Пирогова, 56.

