

Динаміка показників цитопатичної гіпоксії та цитокинового профілю залежно від стадії гнійного перитоніту

S. I. SAVOLYUK, M. A. HUDZ, V. A. KATSAL

M. Pyrohov Vinnytsia National Medical University

THE EVOLUTION OF CYTOPATHIC HYPOXIA AND CYTOKINE PROFILE DEPENDING ON THE STAGE OF PURULENT PERITONITIS

Проведено порівняльний аналіз вмісту цитокинів та показників цитопатичної гіпоксії (сполук пулу гемоглобіну – карбокси- та метгемоглобіну) в крові у хворих з гнійним перитонітом (ГП) із визначенням їх діагностичної цінності при встановленні тяжкості перитоніту і виборі періопераційної тактики. Досліджено рівні ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ТНФ- α на етапі госпіталізації у 126 хворих на ГП. Констатовано, що із прогресуванням стадій ГП (реактивна і токсична) у хворих спостерігали прогресивне зростання прозапальних цитокинів (ТНФ- α , ІЛ-1, ІЛ-6 та ІЛ-2) та протизапального цитокину ІЛ-4, у хворих з термінальною стадією спостерігали різке зменшення концентрації ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6 при термінальній стадії ГП, при продовженні зростання рівнів ІЛ-1, ТНФ- α . Дослідження рівнів СОНб та МтНб показало прогресивне збільшення обох показників при прогресуванні ГП. Визначення показників цитокинового профілю та цитопатичної гіпоксії показало високу діагностичну цінність при встановленні тяжкості ГП. Висока вартість, тривалість, технічна складність унеможливають щоденне використання показників цитокинового профілю в клінічній роботі, тоді як визначення маркерів цитопатичної гіпоксії (СОНб, МтНб) як скринінговий метод визначення тяжкості перитоніту є можливим для хірургічних стаціонарів усіх рівнів.

A comparative analysis of the contents of cytokines and indicators cytopathic hypoxia (hemoglobin compounds pool – carboxyhemoglobin and methemoglobin) in the blood of patients with purulent peritonitis (PP) of the definition of their diagnostic value in determining the severity of peritonitis and choosing perioperative tactics. Level of IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α during hospitalization in 126 patients PP was determined. It was stated that with progression stages PP (reactive and toxic) patients had a progressive increase of proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-1, IL-6 and IL-2) and anti-inflammatory cytokine IL-4, in patients with terminal stage, sharp reduce the concentration of IL-2, IL-4, IL-6 was determined, with continued growth levels of IL-1, TNF- α . Research of COHb and MtHb levels showed a progressive increase in the progression of PP. Definition of indicators cytokine profile and cytopathic hypoxia showed high diagnostic value in determining the severity of the PP. High cost, duration and technical complexity make it impossible for daily use cytokine profile indicators in clinical work, while the determination markers of cytopathic hypoxia (COHb, MtHb) as method of determining the severity of peritonitis is possible for all levels of surgical departments.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. Гнійний перитоніт (ГП), незважаючи на значні досягнення практичної медицини, залишається тяжкою, “неприємною” для хірурга і загрозливою для пацієнта патологією. Летальність при ГП різної етіології, незважаючи на використання всього арсеналу сучасних методів лікування, коливається від 16,7 до 76 % [1, 2]. Підходи до визначення стадій перитоніту, оцінки тяжкості стану та систем прогнозування перебігу і розвитку ускладнень у хворих з ГП мають бути вдосконалені на основі оцінки вихідних та динамічних змін імунологічної реактивності та цитопатичної гіпоксії, які відіграють вирішальне значення як основний фоновий та пусковий стан, на тлі якого здійснюється

реалізація всіх ініціальних механізмів системної запальної відповіді (СЗВ) з фінальною стадією у вигляді розвитку та прогресування ознак органної дисфункції. Ключову роль у розвитку СЗВ відіграють інтерлейкіни – індуктори та регулятори імунної відповіді. Посилений синтез цитокинів починається у відповідь на проникнення в організм мікроорганізмів або пошкодження тканин. Залежно від характеру впливу на запальний процес цитокини поділяють на дві великі групи: прозапальні (ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-8, ТНФ- α) і протизапальні (ІЛ-4, ІЛ-10), хоча це багато в чому умовно [3]. Поряд з порушенням імунологічної реактивності наростають прояви цитопатичної гіпоксії, яка прогресивно поглиблюється із наростанням тяжкості ГП [4].

Мета роботи: порівняти діагностичну цінність показників цитопатичної гіпоксії та цитокінового профілю при визначенні стадії гнійного перитоніту.

Матеріали і методи. В основу роботи покладено дослідження стану 126 хворих із гострими хірургічними захворюваннями, перебіг яких ускладнився розвитком ГП, що перебували на стаціонарному лікуванні в клініці кафедри хірургії № 2 Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова на базі міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги протягом 2012–2016 рр.

Всім хворим проводили визначення в сироватці крові цитокінового профілю шляхом твердофазного імуноферментного аналізу на аналізаторі StatFax 303 Plus (США): 1) прозапальних інтерлейкінів (ІЛ) – ТНФ- α ((41,2 \pm 6,32) пг/мл), ІЛ-1 ((10,6 \pm 2,52) пг/мл), ІЛ-2 ((1,46 \pm 0,04) пг/мл), ІЛ-6 ((4,2 \pm 0,72) пг/мл); 2) протизапального інтерлейкіну – ІЛ-4 ((2,3 \pm 1,42) пг/мл) стандартними патентованими наборами фірм IMMUNOTECH та Diaclone (Франція), Biosource (Бельгія), Сутimmune (США).

Також під час госпіталізації хворого з розповсюдженим гнійним перитонітом здійснювали забір венозної крові для визначення сполук пулу гемоглобіну (карбоксигемоглобіну (СОHb) та метгемоглобіну (MtHb)) за допомогою набору реактивів Felisid (Україна) на фотометрі Солар-PM2111 (Білорусія) (референтне значення MtHb – до 2 % та СОHb – 2,2 % у некурців).

На основі спостереження даних маркерів цитопатичної гіпоксії розроблено спосіб діагностики стадій ГП (Патент на корисну модель № 105282) шляхом визначення в крові хворого під час госпіталізації, на етапі підготовки до операційного втручання MtHb та СОHb: при значенні MtHb (7,69 \pm 0,77) % та СОHb (4,79 \pm 0,21) % діагностують реактивну стадію, при значенні MtHb (12,72 \pm 1,11) % та СОHb (5,51 \pm 0,45) % діагностують токсичну стадію, при значенні MtHb (19,89 \pm 1,98) % та СОHb

(7,86 \pm 1,02) % діагностують термінальну стадію розповсюдженого гнійного перитоніту.

Виконано статистичні розрахунки у програмі STATISTIKA 6.0, що містить інструменти для їхнього аналізу. Після доведення нормальності розподілу даних та рівності генеральних дисперсій у вибірках контрольної та основної груп, що порівнювалися, застосовували такі методи статистичної обробки: t-критерій Стьюдента (двовибірковий t-тест з однаковими дисперсіями), парний t-критерій Стьюдента (парний двовибірковий t-тест для середніх). Формат даних в таблиці $M \pm m$, де M – середнє арифметичне, m – стандартна похибка середнього арифметичного.

Результати досліджень та їх обговорення. Аналізуючи динаміку прозапальних цитокінів у хворих з різними стадіями ГП, виявлено особливості змін їх показників (ТНФ- α , ІЛ-1). У представлених групах хворих спостерігали прогресивне їх збільшення з наявною різницею значень вже в групі хворих з реактивною стадією ГП (ТНФ- α – (87,4 \pm 0,86) нг/л, ІЛ-1 – (34,89 \pm 0,42) нг/л, $p < 0,01$) порівняно з показниками норми (ТНФ- α (75,1 \pm 9,26) нг/л; ІЛ-1 (26,5 \pm 1,22) нг/л), причому цю різницю значень спостерігали між показниками представленого розподілу і в групі хворих з токсичною стадією ГП (ТНФ- α (138,36 \pm 3,10) нг/л, $p < 0,01$; ІЛ-1 (72,1 \pm 0,21) нг/л, $p < 0,01$), досягаючи максимального значення в групі хворих з термінальною стадією ГП (ТНФ- α (255,2 \pm 2,88) нг/л, $p < 0,01$; ІЛ-1 (120,5 \pm 0,64) нг/л, $p < 0,01$) (табл. 1).

Спостерігаючи за змінами мультифункціонального прозапального ІЛ-6, з'ясовано, що його концентрація збільшувалась в групі хворих з реактивною ((23,5 \pm 0,74) нг/л, $p < 0,001$) та токсичною стадіями перитоніту порівняно з нормальними значеннями ((4,2 \pm 0,72) нг/л, $p < 0,001$), досягаючи максимального значення в токсичній стадії перитоніту ((32,8 \pm 0,69) нг/л, $p < 0,001$), з поступовим зниженням у хворих з термінальною ста-

Таблиця 1. Показники цитокінового профілю залежно від стадії ГП, n=126, $M \pm m$

Показник	Реактивна стадія (n=49)	Токсична стадія (n=41)	Термінальна стадія (n=36)	Норма
ІЛ-1, нг/л	34,89 \pm 0,42***	72,1 \pm 0,21***	119,4 \pm 0,60***	26,5 \pm 1,22
ІЛ-2, нг/л	3,68 \pm 0,11****	7,88 \pm 0,14****	4,85 \pm 0,11***	1,46 \pm 0,04
ІЛ-4, нг/л	13,2 \pm 0,47****	39,6 \pm 0,74****	28,7 \pm 0,59***	2,3 \pm 1,42
ІЛ-6, нг/л	23,5 \pm 0,74****	32,8 \pm 0,69****	26,6 \pm 0,46***	4,2 \pm 0,72
ТНФ- α , нг/л	87,4 \pm 0,86***	138,36 \pm 3,10***	255,2 \pm 2,88***	75,1 \pm 9,26

Примітка. * – $p > 0,05$; ** – $p < 0,05$; *** – $p < 0,01$; **** – $p < 0,001$.

дією ((26,6±0,4) нг/л, $p<0,001$). Враховуючи, що на ранніх стадіях ІЛ-6 виконує функцію активації решти прозапальних цитокінів, посилюючи СЗВ, то на пізніх стадіях у міру зниження його концентрації справляє виражений імуносупресорний вплив.

Спостереження за змінами концентрації ІЛ-2, що відіграє ключову роль в інтеграції діяльності клітинної ланки імунітету, показало, що починаючи з групи хворих з реактивною стадією ГП, спостерігається зростання його кількості порівняно з нормальними значеннями ((1,46±0,04) нг/л, $p<0,001$), показник у реактивній стадії досягав ((3,68±0,11) нг/л, $p<0,001$), і в групі хворих з токсичною стадією ГП – ((7,88±0,14) нг/л, $p<0,001$), але вже у хворих з термінальним ГП спостерігали різке зменшення його концентрації порівняно з токсичною стадією ((4,85±0,11) нг/л, $p<0,001$).

Оцінюючи динаміку протизапального цитокіну ІЛ-4, констатовано, що із зростанням стадії ГП спостерігали прогресивне збільшення його концентрації в групах хворих з реактивною і токсичною стадіями перитоніту, порівнюючи його значення з нормою (ІЛ-4 (2,3±1,42) нг/л, $p<0,001$); так, при реактивній стадії перитоніту показник складав (13,2±0,47) нг/л ($p<0,001$), досягаючи своїх максимальних концентрацій у токсичній стадії ГП ((39,6±0,74) нг/л, $p<0,001$), із суттєвим падінням концентрації в групі хворих з термінальною стадією перитоніту – (28,7±0,59) нг/л, що пояснює імуносупресорний характер спрямованих змін показників клітинної ланки імунітету в хворих з ГП, на пряму пов'язаних з динамікою протизапальних маркерів.

Таким чином, аналіз лабораторної динаміки цитокінового профілю констатував, що із прогресуванням ГП у хворих спостерігали прогресивне зростання прозапальних цитокінів (ТНФ- α , ІЛ-1, ІЛ-6 та ІЛ-2) та протизапального цитокіну ІЛ-4 і різке зменшення концентрації ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6 при термінальній стадії ГП (табл. 2).

Аналізуючи зміни показників патологічних сполук ряду гемоглобіну СОНб і МтНб, виявлено, що їх рівень був підвищений у хворих з реактивною стадією перитоніту (СОНб – (4,76±0,023) %, $p<0,001$; МтНб – (7,71±0,03) %, $p<0,001$), були вищі за нормативні показники (МтНб – (2,05±0,4) % та карбоксигемоглобіну – (2,2±0,21) %). Виявлена тенденція прогресивного збільшення концентрацій була характерна і для наступних стадій розвитку перитоніту. При токсичній стадії ГП показники зростали (СОНб – (5,63±0,051) %, $p<0,001$; МтНб – (12,81±0,10) %, $p<0,001$), досягаючи максимальних значень цитопатичної гіпоксії та клітинної дисфункції в групі хворих з термінальним ГП (СОНб – (7,9±0,08) %, $p<0,001$; МтНб – (20,15±0,22) %, $p<0,001$).

Діагностична цінність змін цитокінового профілю при визначенні стадій розвитку ГП висока, але слід зауважити, що використання тільки одного з комплексу цитокінів (як це часто практикується в клінічній роботі) може призвести до хибного трактування ступеня тяжкості перитоніту. Повинен розглядатись весь комплекс змін цитокінового профілю з позицій розвитку імунного дистрес-синдрому. При підвищенні всіх показників діагностують стадію імуноініціації; при підвищенні ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6 та зниженні ІЛ-4 – імунодефекту; при підвищенні ІЛ-1 та зниженні ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6 – імунопаралічу. Крім того, визначення всього комплексу цитокінів потребує наявності високотехнологічного обладнання, коштовних реактивів та часу (від 3 діб) на виконання дослідження, що нівелює їх клінічну цінність для практичного лікаря, оскільки відповідь про реальний стан хворого необхідна одразу після госпіталізації хворого в стаціонар для вибору оптимальної періопераційної тактики лікування ГП.

Визначення патологічних сполук ряду гемоглобіну (карбоксигемоглобіну та метгемоглобіну) як показників цитопатичної гіпоксії, в ролі скринінгових маркерів тяжкості ГП, навпаки, має переваги у вигляді простоти трактування результатів (зростання показника збігається з прогресуванням стадій ГП), короткочасності дослідження (2–3 год), його технічної простоти, відсутності потреби у коштовних реактивах, що дозволяє використовувати даний метод діагностики в умовах хірургічних стаціонарів усіх рівнів.

Таблиця 2. Показники цитопатичної гіпоксії у хворих залежно від стадії ГП, n=126, M±m

Показник	Реактивна стадія (n=49)	Токсична стадія (n=41)	Термінальна стадія (n=36)	Норма
МтНб, %	7,71±0,03****	12,81±0,1****	20,15±0,22****	2,05±0,4
СОНб, %	4,76±0,023****	5,63±0,051****	7,9±0,08****	2,2±0,21

Примітка. * – $p>0,05$; ** – $p<0,05$; *** – $p<0,01$; **** – $p<0,001$.

Висновки. 1. Визначення комплексу показників цитокинового профілю (ТНФ- α , ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-4 та ІЛ-4) для оцінки ступеня тяжкості перитоніту має високу діагностичну цінність, але їх щоденне використання в умовах хірургічних стаціонарів обмежене високою вартістю і технічною складністю дослідження.

2. Використання визначення маркерів цитопатичної гіпоксії (карбоксигемоглобіну і метгемогло-

біну) як скринінгових показників тяжкості гнійного перитоніту виправдане високою діагностичною цінністю, економічною та технологічною доступністю.

Перспективи подальших досліджень. Можливе подальше дослідження динаміки змін показників цитопатичної гіпоксії як предикторів виникнення гнійно-септичних ускладнень у хворих з гнійним перитонітом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Шуркалин Б. К. Хирургические аспекты лечения распространенного перитонита / Б. К. Шуркалин, А. П. Фаллер, В. А. Горский // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2007. – № 2. – С. 24–28.

2. Польовий В. П. Імунні порушення та їх корекція при розлитому перитоніті / В. П. Польовий, Ф. Г. Кулачек, Ю. М. Соловей // Український журнал хірургії. – 2009. – № 1. – С. 108–111.

3. Гаджиев Н. Дж. Иммуный статус, цитокиновый профиль и эндогенная интоксикация у больных с распространенным перитонитом / Н. Дж. Гаджиев // Хирургія України. – 2012. – № 4. – С. 67–68.

4. Кавин В. О. Зміни еритроноу у хворих на гострий перитоніт та їх лікування / В. О. Кавин // Український журнал хірургії. – 2009. – № 5. – С. 101–102.

Отримано 11.03.16