

17. Skeda U., Shimada K. Matrix metalloproteinases and coronary artery diseases // Clin Cardiol. – 2003. – №26. – P.55-59.
18. Uichi Dceda, Shimada Kazuyuki. Matrix metalloproteinases and coronary artery diseases // Clin Cardiol. – 2003. – Vol. 26. –

P.55-59.

19. Zorina S. Galis, Khatri J. Jaikirshan. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: The good, the bad, and the ugly // Circ Res. – 2002. – Vol. 90. №3. – P.251-217.

Информация об авторах: 690950, г. Владивосток, ул. Острякова, 2, ГОУ ВПО ВГМУ, кафедра госпитальной терапии с курсом фтизиопульмонологии, Лупач Наталья Михайловна – ассистент кафедры, e-mail: sam26@pisem.net; Кулаков Юрий Вячеславович – зав. кафедрой, профессор, д.м.н., e-mail: ykul@mail.ru; Лукьянов П.А. – заведующий лабораторией, д.х.н., профессор, e-mail: paluk@mail.ru

© ДУНАЕВСКАЯ С.С., ДЯБКИН Е.В. – 2010

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

С.С. Дунаевская, Е.В. Дябкин

(Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, ректор – д.м.н., проф. И.П. Артюхов, кафедра общей хирургии, зав. – д.м.н., проф. Ю.С. Винник)

Резюме. Настоящая работа посвящена анализу зависимости формирования механизмов иммунного статуса у больных острым панкреатитом от различных уровней продукции активных форм кислорода лимфоцитами. Это значительно поможет расширить представления о ключевых механизмах нарушения иммунологического гомеостаза и путях его коррекции.

Ключевые слова: активные формы кислорода, хемилюминесценция, острый панкреатит.

THE ACTIVE OXYGEN FORMS AND CHEMOLUMINESCENCE IN ACUTE PANCREATITIS

S.S. Dunaevskaya, E.V. Dyabkin

(Krasnoyarsk State Medical University named after V.F. Vojno-Yasenetskiy)

Summary. The presented work is devoted to the analysis of dependence of the immune status forming in patients with acute pancreatitis from different levels of active oxygen forms production by lymphocytes. It will be considerably useful to expand the information about important mechanisms of the immune homeostasis disturbance and ways of its correction.

Key words: active oxygen forms, chemiluminescence, acute pancreatitis.

Острый панкреатит является одной из наиболее актуальных проблем urgentной хирургии [1,2]. Самое первое описание секционного наблюдения острого воспаления поджелудочной железы произвел S. Alberti в 1578 году. Поиски оптимальной тактики лечения острого панкреатита измеряются дорогой в 430 лет. При явном прогрессе хирургических технологий результаты лечения панкреонекроза все же не могут считаться удовлетворительными, поскольку до настоящего времени летальность остается высокой, а сроки лечения – длительными [3,4].

Одним из слагающих успешной терапии панкреатита является оценка и своевременная коррекция нарушений системы неспецифической реактивности организма [5,6]. Перспективной с этой точки зрения представляется регистрация образования лимфоцитами активных форм кислорода (АФК) [7,8].

Целью нашей работы явилась оценка продукции активных форм кислорода лимфоцитами крови у больных острым панкреатитом в зависимости от тяжести состояния.

Материалы и методы

Обследовано 75 больных отечной формой острого панкреатита (ОФОП). Больные были сопоставимы по половому, возрастному фактору и наличию сопутствующей патологии.

Стандартная схема обследования больных включала клиническую оценку состояния, анализы крови, лапароскопическое и ультразвуковое исследование органов брюшной полости. Об уровне энзимной токсемии судили по показателям амилазы крови и мочи.

Лимфоциты периферической крови выделяли из цельной гепаринизированной крови центрифугированием в градиенте плотности фиколла-верографина. Клетки разрушали путем осмотического лизиса с добавлением 2,0 мМ дитиотреитола.

АФК определяли методом люминолзависимой хемилюминесценции, основанным на фиксации потока фотонов, образующихся при окислении люминола. Для измерения генерации АФК использовали полистироловые кюветы «Clinicol», в которые помещали лимфоциты крови. Подсчет вели на автоматизированном шести-канальном хемилюминометре (Россия), управляемом микро-ЭВМ. Время инкубации клеток крови для записи кинетики хемилюминисцентной реакции составляло 104 минуты при температуре 37°C.

Интегральный уровень параметров кривой генерации АФК определяли в оценочном показателе Е, рассчитанном с помощью программного обеспечения «Lgraf». Показатель Е характеризует девиацию (отклонение в %) значений кривой генерации АФК больного от параметров среднестатистической кривой нормы, принимаемой за начало отсчета (0), значения которой в пределах 30% в сторону повышения или снижения принимались за отклонение в пределах нормы.

В число информативных анализируемых параметров хемилюминесцентной кривой входили: S_{quar} – площадь под кривой, I_{max} – амплитуда, T_{max} – время достижения I_{max} , S_{intr} – симметричность ХЛ кривой, Shapel и Shape 2 – показатели степени остроты кривой на уровне 1/2 и 1/3 величины I_{max} .

Типичная хемилюминограмма (ХЛГ) здорового человека характеризуется одним максимумом со временем его формирования на 28 ± 2 минуте. Значения в пределах 30% превышения или снижения принимаются за отклонения в пределах нормы.

В группу контроля вошли практически здоровые люди в возрасте от 18 до 50 лет (20 человек).

Данные в выборках оценивались на нормальность распределения по методу Шапиро-Уилкса. В случае нормального распределения и подтверждения равенства дисперсии определение статистической значимости различий осуществлялось с помощью критерия Стьюдента. Описательная статистика для учетных

признаков представлена в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – ошибка среднего арифметического. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При сборе анамнеза у обследованных больных можно было предположить вторичную иммунологическую недостаточность, которая проявлялась в виде очагов хронической инфекции – тонзиллита, фарингита, гайморита, цистита и др. (47%). У части больных (48%) отмечалась неадекватная реакция на инфекционно-воспалительные процессы. Некоторые больные лечились ранее по поводу дисбактериоза кишечника (15%) и частых ОРЗ (38%). Не исключено, что иммунологическая недостаточность могла явиться одной из причин более тяжелого течения острого панкреатита.

Таблица 1
Показатели гемограммы больных с отечной формой острого панкреатита ($M \pm m$)

Показатели	Группа контроля (n=20)	ОФОР (n=75)
Нб, г/л	126,52±2,81	133,00±2,81
СОЭ, мм/ч	8,56±0,56	23,00±1,56 $p < 0,001$
Лейкоциты * 10^9 /л	6,31±0,16	12,60±0,20 $p < 0,001$
Палочкоядерные, %	1,15±0,15	19,60±1,91 $p < 0,001$
Сегментоядерные, %	59,57±0,81	65,61±0,81 $p < 0,001$
Лимфоциты, %	33,15±0,71	11,30±1,05 $p < 0,001$
Эозинофилы, %	1,31±0,16	0,30±0,02
Моноциты, %	5,12±0,26	4,30±0,38

Примечание: p – значимость различий параметров контроля от группы ОФОР.

Исследование показателей гемограммы у больных отечной формой острого панкреатита обнаружило увеличение числа лейкоцитов до $12,60 \pm 0,20 \times 10^9$ /л ($p < 0,001$), по сравнению с контролем. Кроме того происходило увеличение палочкоядерных нейтрофилов до $19,60 \pm 1,91\%$ ($p < 0,001$); сегментоядерных гранулоцитов – до $65,61 \pm 0,81\%$ ($p < 0,001$) и снижение количества лимфоцитов до $11,33 \pm 1,05\%$ ($p < 0,001$) (табл. 1). Изменения в анализе крови больных острым панкреатитом свидетельствуют о выраженном воспалительном процессе в организме и о проявлении синдрома системной воспалительной реакции.

При определении уровня генерации АФК лимфоцитов крови у больных отечной формой острого панкреатита зарегистрировано 3 варианта развития хемилуминесцентной реакции:

- Больные отечной формой острого панкреатита с дефицитом генерации АФК лимфоцитов крови, отклонение численных значений кривой в сторону

Показатели спонтанной хемилуминесценции лимфоцитов крови у больных отечной формой острого панкреатита на 1-3-е сутки после поступления в хирургический стационар

Показатели	Группы обследуемых			
	контроля (n=20)	1 (n=45)	2 (n=15)	3 (n=15)
I_{max} , имп/с	133,75±2,36	31,09±1,67 $p = 0,01$	219,07±3,46 $p = 0,01$	366,56±4,78 $p = 0,01$
S_{quar} , имп	2,70E+05±0,15	7,50E+04±1,22 $p = 0,01$	5,80E+05±1,33 $p = 0,01$	5,40E+05±1,08 $p = 0,01$
T_{max} , мин	23,50±1,06	4,06±0,96 $p = 0,01$	4,67±1,73 $p = 0,01$	9,56±0,87 $p = 0,01$
Shap1	3,00E+00±0,34	1,40E+00±0,45 $p = 0,05$	2,51E+00±0,45 $p = 0,05$	4,40E+00±0,57 $p = 0,01$
Shap2	6,20E-01±0,21	7,20E-01±0,98 $p = 0,01$	7,56E-01±0,96 $p = 0,01$	6,40E-01±0,57
S_{intr}	4,30E-01±0,17	1,80E-01±0,12 $p = 0,01$	1,43E-01±0,68 $p = 0,01$	5,50E-01±0,98 $p = 0,05$

Примечание: p – значимость различий между соответствующими показателями исследуемой группы от группы контроля.

снижения более 30% – гипоксический тип.

- Больные отечной формой острого панкреатита с генерацией АФК лимфоцитов крови в пределах нормы ($\pm 30\%$ от численных значений параметров среднестатистической кривой генерации АФК) – нормоксический тип.

- Больные отечной формой острого панкреатита с генерацией АФК лимфоцитов крови, отклонение параметров в положительную сторону превышало 30% от нормы – гипероксический тип.

При определении спонтанной хемилуминесценции в первой группе выявляется снижение время выхода на максимум в 6 раз ($4,06 \pm 0,96$ $p = 0,01$), максимальное значение хемилуминесценции снижено в 4 раза ($31,09 \pm 1,67$, $p = 0,01$), площадь кривой увеличилась в 3 раза ($7,50E+0,4 \pm 1,22$, $p = 0,01$). Во второй группе обнаружено снижение времени выхода на максимум в 6 раз ($4,67 \pm 1,73$, $p = 0,01$), максимальное значение хемилуминесценции увеличилось в 2 раза ($219,07 \pm 3,46$, $p = 0,01$), площадь кривой увеличилась в 2 раза ($5,80E+0,5 \pm 1,33$ $p = 0,01$). В то время как в третьей группе снижение времени выхода на максимум в 2 раза ($9,56 \pm 0,87$, $p = 0,01$), максимальное значение хемилуминесценции повышалось в 3 раза ($366,56 \pm 4,78$, $p = 0,01$), площадь кривой увеличивалась в 2 раза ($5,40E+0,5 \pm 1,08$, $p = 0,01$) (табл. 2).

При активации хемилуминесцентной реакции люминолом у больных с гипоксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови динамика интенсивности хемилуминесценции сохранялась прежней ($104,12 \pm 2,37$, $p = 0,01$), время выхода на максимум увеличивалось в 2 раза ($9,08 \pm 0,89$ $p = 0,01$), но не достигало нормы, площадь

Таблица 3
Показатели индуцированной люминолом хемилуминесценции лимфоцитов крови у больных отечной формой острого панкреатита на 1-3-и сутки после поступления в хирургический стационар

Показатели	Группы обследуемых			
	контроля (n=20)	1 (n=45)	2 (n=15)	3 (n=15)
I_{max} , имп/с	401,65±4,32	104,12±2,37 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$	324,23±3,43 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$	626,17±4,56 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$
S_{quar} , имп	5,15E+05±0,58	3,30E+05±1,01 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$	1,20E+06±0,34 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$	2,40E+05±1,23 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$
T_{max} , мин	27,75±1,49	9,08±0,89 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$	30,12±0,98 $p1 = 0,05$ $p2 = 0,01$	25,47±1,46 $p2 = 0,01$
Shap1	3,45E+00±0,68	5,80E-01±0,67 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$	6,00E-01±0,75 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$	3,60E-01±0,85 $p2 = 0,01$
Shap2	5,78E-01±0,79	2,60E-01±0,34 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$	4,70E-01±0,83 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$	5,30E-01±0,84 $p1 = 0,05$ $p2 = 0,01$
S_{intr}	5,65E-01±1,35	2,90E-01±0,23 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$	8,70E-01±0,69 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$	6,40E-01±0,75 $p1 = 0,01$ $p2 = 0,01$

Примечание: $p1$ – значимость различий между соответствующими показателями исследуемой группы от группы контроля, $p2$ – значимость различий между показателями спонтанной и индуцированной люминолом хемилуминесценции.

кривой уменьшилась в 2 раза ($3,30E+0,5\pm1,01$ $p=0,01$), по сравнению с показателями нормы. У больных с нормоксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови параметры хемилюминесценции приближались к показателям хемилюминограммы людей группы контроля. У больных с гипероксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови время выхода на максимум приближалось к норме ($25,47\pm1,46$), максимальное значение увеличивалось в 1,5 раза ($626,17\pm4,56$, $p=0,01$), площадь кривой уменьшалась в 2 раза ($2,40E+0,5\pm1,23$, $p=0,01$) (табл. 3).

У больных отежной формой острого панкреатита с нормоксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови, осложнений в течение заболевания и летальных

форм острого панкреатита, по поводу которой больной был оперирован, послеоперационный период протекал без осложнений. Летальности в данной группе не было. Средний койко-день составил $9,6\pm0,5$ дня (табл. 4).

У больных, поступивших в хирургический стационар с гипоксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови, в 14 случаях отмечен переход в деструктивные формы. Причиной летальности в 3 случаях явилось развитие полиорганной недостаточности на фоне панкреатогенного шока, в одном случае причиной смерти стало развитие поздних гнойных осложнений. Средний койко-день для больных этой группы составил $35,14\pm1,5$ дня (табл. 4).

Осложнения и летальность у больных острым панкреатитом при различных типах генерации АФК лимфоцитов крови

Показатель	Количество больных	Осложнения (переход в деструктивные формы)	Летальность
Больные отежной формой острого панкреатита, с нормоксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови	15 (20%)	0 (0%)	0 (0%)
Больные отежной формой острого панкреатита, с гипероксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови	15 (20%)	1 (6,7%)	0 (0%)
Больные отежной формой острого панкреатита, с гипоксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови	45 (60%)	14 (31,1%)	4 (8,9%)

исходов не отмечалось. Средний койко-день составил $7,08\pm0,5$ дня (табл. 4).

У больных с гипероксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови в одном случае развилась деструк-

Таким образом, результаты проведенных исследований выявили три типа хемилюминесцентного ответа лимфоцитов периферической крови у больных острым панкреатитом. Кроме того, обнаружена связь клинического течения заболевания с типом хемилюминесцентной реакции лимфоцитов крови. При этом наибольшее количество осложнений отмечалось в группе больных с гипоксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови. В то же время только в этой группе больных наблюдались летальные исходы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдраштова Н.Ф., Романов Ю.А. Влияние антибиотиков на систему генерации нейтрофилов крови активных форм кислорода // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2001. – №12. – С.641-643.
2. Багненко С.Ф., Толстой А.Д., Гольцов В.Р. Протоколы диагностики и лечения острого панкреатита на разных стадиях заболевания // Неотложная и специализированная хирургическая помощь: Матер. I конгр. моск. хирургов. – М., 2005. – С.84-85.
3. Высоцкий Е.С., Маркова С.В., Маликова Н.П. и др. Биологические методы визуализации in vivo молекулярных процессов в клетках // Итоговая конференция по результатам выполнения проектов в 2009 году приоритетного направления «Живые системы» в рамках ФЦП: Материалы. – Красноярск, 2009. – С.13-15.
4. Герасимов И.Г., Игнатов Д.Ю. Функциональная неравнозначность нейтрофилов крови человека: генерация актив-

ных форм кислорода // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – Т. 43. № 5. – С.432-436.

5. Камилов Р.Ф., Ханов Т.В., Яппаров Р.Н. и др. Хемилюминесценция как метод оценки общей антиоксидантной активности крови, слюны, слезной жидкости и мочи // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – №2. – С.21-23.

6. Коленчукова О.А., Смирнова С.В., Савченко А.А. и др. Сравнительная характеристика люминол и люцигенин зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов у больных аллергическим риносинуситом // III международный конгресс по респираторной поддержке. Материалы – Красноярск, 2009. – С.44-47.

7. Beger H.G. Surgical management of necrotizing pancreatitis // Surg. Clin. N. Amer. – 1999. – Vol. 79. №4. – P.793-800.

8. Halonen K.I., Leppaniemi A.K., Lundin J.E., et al. Predicting fatal outcome in the early phase of severe acute pancreatitis by using novel prognostic models // Pancreatology. – 2003. – Vol. 3. – P.309-315.

Информация об авторах: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1, Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, кафедра общей хирургии, e-mail: dyabkyn@mail.ru, Дунаевская Светлана Сергеевна – к.м.н., доцент, Дябкин Евгений Владимирович – аспирант

© РУСТАМОВА Л.И., МАХМУДОВА У.А., КУЛИЕВА З.М., ХАЛИЛОВ Н.Х., АГВЕРДИЕВ И.Г., МЕХДИЕВ Х.Ш., ГУСЕЙНЗАДЕ В.М. – 2010

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ МЕТОДОВ ДЕТЕКЦИИ И НЕПОЛИОЭНТЕРОВИРУСОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ СРЕДИ ДЕТЕЙ В Г. БАКУ

Л.И. Рустамова, У.А. Махмудова, З.М. Кулиева, Н.Х. Халилов, И.Г. Агвердиев, Х.Ш. Мехдиев, В.М. Гусейнзаде (Национальный Научно-Исследовательский Институт Медицинской Профилактики им. В.Ахундова, Баку, Азербайджан, директор – член-корр. НАНА, академик РАМН, д.м.н., проф. Н.Н. Алиев; лаборатория энтеровирусных инфекций, зав. – к.м.н., доц. Л.И. Рустамова)

Резюме. Представлены результаты сравнительного изучения некоторых методов детекции некоторых энтеровирусов, циркулирующих среди детей г. Баку. Доказано, что для экспресс-диагностики энтеровирусной инфекции необходимо проводить индикацию РНК энтеровирусов в различных биопробах параллельно, и это повышает уровень выявляемости энтеровирусов.