

© ВИННИК Ю.С., ДУНАЕВСКАЯ С.С., ПОРТНЯГИН Е.В.,
МАКАРСКАЯ Г.В.

ДИНАМИКА ПРОДУКЦИИ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ЛИМФОЦИТАМИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ

Ю.С. Винник, С.С. Дунаевская, Е.В. Портнягин, Г.В. Макарская
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;
Международный центр исследований экстремальных состояний организма
СО РАН, директор – д.б.н., проф. Р.Г. Хлебопрос.

***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.*

Винник Юрий Семенович – академик РАЕН, д. м. н., проф., зав. каф. общей хирургии КрасГМУ; тел. 8 (391) 2623039.

Дунаевская Светлана Сергеевна – к.м.н., доцент каф. общей хирургии КрасГМУ; тел. 8 (391) 2293090.

Портнягин Евгений Владимирович – клинический ординатор каф. общей хирургии КрасГМУ; тел 8 (391) 2293090.

Острый панкреатит является одной из наиболее актуальных проблем urgentной хирургии. 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.

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

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

Материалы и методы

Обследовано 75 больных отечной формой острого панкреатита (ОФОП), пациенты 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, основанный 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),

управляемым микроЭВМ. 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 E, рассчитанном с помощью программного обеспечения "Lgraf". Показатель E 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 хемилюминисцентной кривой входили: Squar – площадь под кривой, I max - амплитуда, Tmax - время достижения I max, Simtr - симметричность ХЛ кривой, Shape1 и Shape 2- показатели степени остроты кривой на уровне $\frac{1}{2}$ и $\frac{1}{3}$ 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 пациентов (48%) отмечалась неадекватная реакция на инфекционно-воспалительные процессы. Некоторые пациенты 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.

Исследование показателей гемограммы у больных отежной формой острого панкреатита обнаружило увеличение числа лейкоцитов до $12,60 \pm 0,20 \cdot 10^9 / \text{л}$ ($p < 0,001$), 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.

Таблица 1

***Показатели гемограммы больных с отежной
формой острого панкреатита ($M \pm m$)***

Примечание: p – достоверность различий параметров контроля от группы ОФОП.

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

- больные отежной формой острого панкреатита с дефицитом генерации АФК лимфоцитов крови, отклонение численных значений кривой в сторону снижения более 30 % - гипоксический тип;
- больные отежной формой острого панкреатита с генерацией АФК лимфоцитов крови в пределах нормы ($\pm 30\%$ от численных

значений параметров среднестатистической кривой генерации АФК) – нормоксический тип;

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

В табл. 2 и 3 представлены среднестатистические параметры спонтанной и индуцированной хемилюминесценции лимфоцитов крови.

При определении спонтанной хемилюминесценции в первой группе выявляется снижение время выхода на максимум в 6 раз ($4,06 \pm 0,96$ $p=0,01$), максимальное значение хемилюминесценции снижено в 4 раза ($31,09 \pm 1,67$ $p=0,01$), площадь кривой увеличилась 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 хемилюминесценции увеличилось в 2 раза ($219,07 \pm 3,46$ $p=0,01$), площадь кривой отмечалось 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 хемилюминесценции повышалось в 3 раза ($366,56 \pm 4,78$ $p=0,01$), площадь кривой увеличивалась в 2 раза ($5,40E+0,5 \pm 1,08$ $p=0,01$).

Таблица 2

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

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

При активации хемилюминесцентной реакции люминолом у больных с гипоксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови динамика интенсивности хемилюминесценции 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 кривой уменьшилась в 2 раза ($3,30E+0,5\pm 1,01$ $p=0,01$), по сравнению с показателями нормы. У больных с нормоксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови параметры хемилюминесценции приближались к показателям хемилуминограммы людей группы контроля. У больных с гипероксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови время выхода на максимум приближалось к норме ($25,47\pm 1,46$), максимальное значение увеличивалось в 1,5 раза ($626,17\pm 4,56$ $p=0,01$), площадь кривой уменьшалась в 2 раза ($2,40E+0,5\pm 1,23$ $p=0,01$).

Таблица 3

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

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

У больных отечной формой острого панкреатита с нормоксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови, осложнений в течении заболевания и летальных исходов не отмечалось. Средний койко-день составил $7,08\pm 0,5$ дня (табл. 4).

У больных с гипероксическим типом генерации АФК лимфоцитов крови в одном случае развилась деструктивная форма острого панкреатита, по поводу которой был оперирован, послеоперационный период протекал без осложнений. Летальности в данной группе не было. Средний койко-день составил $9,6\pm 0,5$ 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 $35,14 \pm 1,5$ дня (табл. 4).

Таблица 4

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

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.

PRODUCTION OF ACTIVE OXYGEN FORMS BY BLOOD LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH ACUTE PANCREATITIS

Yu.S.Vinnik, S.S.Dunaevskaya, E.V. Portnyagin, G.V. Makarskaya
Krasnoyarsk State Medical University named after prof. Voino-Yasenetsky

Abstract. The research is devoted to analysis of mechanisms of immune status formation production in patients with acute pancreatitis at different rate of production of active oxygen forms. It would expand the conception about the main mechanisms of immune homeostasis and the ways of its correction.

Key words: active oxygen species, hemiluminescence, acute pancreatitis.

Литература

1. Афолина Г. Б., Майданик В.Г. Клинические аспекты применения хемилюминесцентного анализа // Врач. дело. – 1990. – №9. – С. 73-78.

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. Бескосный А. А., Касумьян С.А. Критерии прогноза тяжелого течения острого панкреатита // Анналы хирург. гепатологии. – 2003. – №1. – С. 24-32.
4. Брискин Б. С., Яценко А.А., Назаров В.Н. Зависимость результатов лечения острого панкреатита от правильности диагностики стадий заболевания // Вестн. хирургии. – 1996. – №5. – С. 21-24.
5. Farcas G. Open abdomen in the treatment of necrosis in acute pancreatitis // Or. Hetil. – 1998. – Vol. 30. – P. 531-535.
6. Imrie C. Prognosis of acute pancreatitis // Ann. Ital. Chir. – 1995. – Vol. 66, №2. – P. 187-189.