

© ВИННИК Ю.С., ТЕПЛЯКОВА О.В., ЯКИМОВ С.В., САВЧЕНКО А.А.,
МЕШКОВА О.С.

ЗНАЧЕНИЕ МЕТОДА ИНДУЦИРОВАННОЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ИНФИЦИРОВАННОГО ПАНКРЕОНЕКРОЗА

Ю.С. Винник, О.В.Теплякова, С.В.Якимов, А.А.Савченко, О.С. Мешкова

Красноярская государственная медицинская академия, ректор –

д.м.н. проф. И.П.Артюхов;

Красноярский государственный университет,

ректор – д.ф.-м.н. проф. А.С. Проворов

Резюме. В статье представлены результаты исследования липопероксидации у больных панкреонекрозом. Регистрацию перекисного окисления липидов проводили методом железоиндуцированной люминолзависимой хемилюминесценции сыворотки крови. При оценке кинетики хемилюминесценции учитывали следующие показатели: интенсивность свечения ($J \text{ тх}$), светосумму (S) и коэффициент K ($J \text{ тх}/S$). Проведенные исследования свидетельствуют, что доступный и высокочувствительный метод хемилюминесценции может быть использован в дифференциальной диагностике инфицированного и стерильного панкреонекроза.

Ключевые слова: хемилюминесценция, острый панкреатит, инфицированный панкреонекроз, дифференциальная диагностика.

В последние годы в качестве высокочувствительного и специфичного маркера системной воспалительной реакции предложено определение интенсивности процесса перекисного окисления липидов методом индуцированной хемилюминесценции [1, 6, 7]. Сверхслабое свечение или собственное излучение клеток и тканей практически всегда сопровождает процессы жизнедеятельности и может быть обусловлено тремя типами

реакций: реакциями активных форм кислорода (АФК), реакциями цепного (перекисного) окисления липидов, реакциями с участием оксида азота [2, 3].

Главным источником АФК в организме человека и животных служат клетки-фагоциты. Непосредственной причиной собственной хемилюминесценции активированных фагоцитов считают образование синглетного кислорода в реакциях между кислородными радикалами, перекисью водорода и гипохлоритом [5, 8]. С этих позиций представляется перспективным использование хемилюминесцентного анализа в качестве объективного критерия диагностики инфицированного панкреонекроза.

Материалы и методы

Среди обследованных были лица обоего пола в возрасте от 20 до 75 лет (табл.1). Основным этиологическим фактором развития острого панкреатита явилась желчнокаменная болезнь (54,5%). Алкогольная этиология выявлена в 34,1%. Тупая травма живота и развитие посттравматического острого панкреатита отмечалось у двух пациентов (4,5%).

Диагноз острого деструктивного панкреатита устанавливали на основании данных анамнеза, клинической картины заболевания, лабораторного исследования, включавшего определение активности панкреатических ферментов в крови (амилаза, липаза), моче (амилаза), перитонеальном экссудате, динамики гомеостатических показателей (лейкоциты крови, лейкоцитарный индекс интоксикации, гематокрит, глюкоза, билирубин, мочевины, креатинин, общий белок, альбумин, активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы, содержание натрия, калия, кальция, хлора). А также по данным ультрасонографии органов брюшной полости и забрюшинного пространства, эзофагогастродуоденоскопии, по показаниям – экстренной диагностической лапароскопии, компьютерной томографии. Верификация формы панкреонекроза осуществлялась на основании бактериологического исследования перитонеального экссудата и содержимого сальниковой сумки, полученных интраоперационно во время лапароскопии или лапаротомии.

**Характеристика больных по возрасту, полу, этиологии
и клинической форме панкреонекроза**

Параметры	Удельная структура признаков	
	n	%
Средний возраст	46,86±3,3 (20-75)	
Пол (муж./жен.)	18	26,0
Стерильный панкреонекроз	27	61,4
Инфицированный панкреонекроз	17	38,6
Билиарный	24	54,5
Алкогольный	15	34,1
Травматический	2	4,5
Идиопатический	3	6,8

У всех больных дополнительно оценивали уровень перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности плазмы крови методом люминолзависимой железоиндуцированной хемилюминесценции на биохемилюминометре БХЛ-06М (НИЦ «Биоавтоматика», г.Нижний Новгород). В измерительную кювету вносили 0,1 мл плазмы крови, 0,4 мл фосфатного буфера, 0,4 мл сульфата железа и 0,2 мл люминола. Инициирование реакции осуществляли введением 0,2 мл 1% перекиси водорода. Время регистрации показателей ПОЛ и АОС составляло 30-60 секунд. При оценке кинетики хемилюминесценции оценивали следующие показатели: интенсивность свечения ($J_{\max}$), светосумму (S) и коэффициент К ($J_{\max}/S$), отражающий значение суммарной антиоксидантной активности [4].

Полученные количественные данные проанализированы методом вариационной статистики для несвязанных между собой выборок. Средние значения абсолютных величин представлены в виде средней арифметической

со средней квадратической ошибкой средней ($M \pm m$). Значимость различий для показателей установили с помощью критерия Стьюдента (p). Математическим инструментом для статистической обработки всех результатов послужила программа «Biostat».

Результаты и обсуждение

У всех больных диагностированы распространенные формы деструктивного панкреатита (крупноочаговый, субтотальный панкреонекроз) с поражением забрюшинной клетчатки, при этом в 61,4% случаев выявлен стерильный панкреонекроз, в 38,6% - инфицированный. Средние сроки установления диагноза по традиционным клиническим, инструментальным и лабораторным составили у больных стерильным панкреонекрозом (СПН) $25,7 \pm 4,2$ часа после госпитализации, а инфицированным панкреонекрозом (ИПН) – $31,5 \pm 5,8$ часа ($p < 0,05$). Степень обсемененности содержимого сальниковой сумки, перитонеального экссудата у больных ИПН равнялась 10^6 - 10^8 КОЕ\мл. Спектр выделенных культур представлен преимущественно ассоциациями грамотрицательных микроорганизмов: *Acinetobacter baumannii* и *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Таблица 2

Показатели кинетики хемилюминесценции у больных стерильным панкреонекрозом ($M \pm m$)

Показатель хемилюми- несценции	Контрольная группа	Величины показателей в зависимости от срока исследования, сут				
		первые	третьи	седьмые	14-е	21-е
J max, мВ	72,411 $\pm 5,118$	551,017 $\pm 30,236^*$	479,302 $\pm 28,127^*$	312,274 $\pm 43,091^*$	278,118 $\pm 21,045^*$	152,41 $\pm 19,816$
K, у.е.	0,263 $\pm 0,002$	0,134 $\pm 0,008^*$	0,141 $\pm 0,007^*$	0,137 $\pm 0,011^*$	0,152 $\pm 0,006^*$	0,189 $\pm 0,006$

Примечание: * - $p < 0,05$ при сравнении больных СПН с показателем контрольной группы.

Максимальные значения интенсивности хемилюминесценции и светосуммы регистрировались у больных стерильным панкреонекрозом при поступлении (табл.2). Уровень J max превышал показатели возрастной нормы в первые сутки в 7,6 раза, на третьи – в 6,7, на седьмые – в 4,3, на 14 – в 3,9 ($p<0,05$) и приближался к норме только к 21-м суткам. Коэффициент К у этих же больных при сравнении с контрольной группой был достоверно ниже в течение первых двух недель лечения: в первые сутки – в 2 раза, на третьи – седьмые - в 1,9 и на 14 - в 1,7 ($p<0,05$).

У больных ИПН при поступлении обращало на себя внимание крайне низкое значение интенсивности хемилюминесценции сыворотки крови, не превышавшее 30 мВ (табл.3). Уровень J max при сравнении с тем же показателем в контрольной группе был достоверно ниже в 2,5 - 5 раз в течение первой недели стационарного лечения ($p<0,05$), возвращаясь к исходному значению к 14 суткам. Коэффициент К в этой группе оставался более чем в 2 раза ниже по сравнению с контролем в течение всего времени исследования ($p<0,05$).

Таблица 3

**Показатели кинетики хемилюминесценции
у больных инфицированным панкреонекрозом ($M\pm m$)**

Показатель хемилюми- несценции	Контрольная группа	Величины показателей в зависимости от сроков исследования, сут				
		первые	третьи	седьмые	14-е	21-е
J max, мВ	72,411 $\pm 5,118$	29,731 $\pm 5,727^{**}$	26,154 $\pm 5,412^{**}$	14,081 $\pm 2,068^{**}$	31,512 $\pm 4,177^{**}$	42,815 $\pm 6,580^{**}$
К, у.е.	0,263 $\pm 0,002$	0,055 $\pm 0,005^{**}$	0,045 $\pm 0,004^{**}$	0,037 $\pm 0,003^{**}$	0,031 $\pm 0,003^{**}$	0,041 $\pm 0,003^{**}$

Примечание: * - $p<0,05$ при сравнении больных ИПН с показателями контрольной группы,

** - $p<0,05$ при сравнении больных ИПН с показателями СПН.

Сравнение динамики показателей хемилюминесценции при остром панкреатите выявило достоверно более низкие значения интенсивности свечения плазмы и коэффициента К у больных ИПН в течение всего времени исследования, что возможно связано с дефицитом продукции активных форм кислорода, расходуемых в процессе фагоцитоза и каскада липопероксидации, на фоне истощения факторов антиоксидантной защиты. Расчет операционных характеристик предлагаемого способа диагностики инфицированного панкреатита выполняли в соответствии с требованиями CONSORD (CONSORD Group, 1996). Диагностическая чувствительность и специфичность составили 94,4% и 92,6% соответственно.

Таким образом, кинетика хемилюминесценции сыворотки крови больных стерильным и инфицированным панкреонекрозом имеет достоверные отличия, что может найти применение в дифференциальной диагностике и прогнозировании деструктивных форм острого панкреатита. Простота и экспрессность методики хемилюминесцентного анализа позволяют использовать ее для динамической коррекции тактики лечения при угрозе развития гнойных осложнений.

IMPORTANCE OF INDUCED CHEMILUMINESCENCE METHOD IN THE DIAGNOSIS OF INFECTED PANCREATIC NECROSIS

Y.S.Vinnik, O.V.Tepliakova, S.V.Yakimov, A.A.Savchenko, O.S.Meshkova

Krasnoyarsk state medical academy;

Krasnoyarsk state university

The work presents the results of investigation of lipid peroxidation in patients with necrotizing pancreatitis. Registration of the values of peroxide lipid oxidation was done according to the method of ferrum induced luminol depended chemiluminescence of the blood serum. On assessment of the chemiluminescence curve kinetics the following values were considered: luminescence intensity (I max), photosum (S) and coefficient K (I max/ S). Our research showed that the simple and

available method of chemiluminescence can be widely used in the differential diagnosis of the sterile and infected forms of pancreatic necrosis.

Литература

1. Арутюнян В.М., Григорян Э.Г., Закарян А.Е. и др. // Клинич. медицина. – 1997. – №1. – С. 16-20.
2. Друх В.М., Фархутдинов Р.Р., Загидуллин Ш.З. // Клинич. лабор. диагностика. – 2004. – № 12. – С. 41-43.
3. Иванишкина Е.В., Подопригорова В.Г., Каневский А.С. и др. // Клинич. медицина. – 2000. – № 3. – С. 39-41.
4. Конторщикова К.Н. // Местное и парентеральное использование озонотерапии в медицине: матер. I межд. науч.-практ. конф. – Харьков, 2001. – С. 124-125.
5. Косолапов В.А. Свободные радикалы, антиоксиданты и болезни человека: сб. тр. Рос. национ. н-практ. конференции. – Смоленск, 2001. – С. 40-41.
6. Терехина Н.А., Ненашева О.Ю. // Клинич. лабор. диагностика. – 2004. – № 11. – С. 38-40.
7. O’Kane D.L. // J.Bioluminescence and Chemiluminescence. – 1997. – №1. – P. 30-35.
8. Olinescu R., Radu D., Pintea G. et al. // Romanian J. of Internal Medicine. – 1991. – № 3-4. – P. 199-204.