

Черешнюк І.Л.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ ДЛЯ СКРИНИНГОВОЙ ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ ДНК В ЯДРАХ КЛЕТОК НЕЙРОНАЛЬНОЙ СЕТЧАТКИ У КРЫС

Резюме. В работе представлены результаты проточно-цитометрического исследования содержания ДНК в клетках нейрональной сетчатки интактных крыс линии Вистар. Содержание ДНК большей части ядер клеток нейрональной сетчатки крыс составлял 2с ($94,92 \pm 0,94\%$). Также в клетках сетчатки животных обнаружено присутствие доли тетраплоидных ядер (ДНК = 4с) - $4,98 \pm 0,94\%$ и небольшого процента ядер с содержанием ДНК характерным для S-фазы - $0,10 \pm 0,02\%$, что не исключает наличие некоторой синтетической активности ДНК в ядрах клеток этой структуры глаза в норме. Фоновый показатель фрагментации ДНК (процент объектов с фрагментированной ДНК) составил - $0,43 \pm 0,11\%$. Отсутствие достоверной разницы между аналитическими показателями ДНК-гистограмм клеток сетчатки правых и левых глаз животных, приемлемые коэффициенты вариации пиков G0G1 и высокая точность, позволяют применять данный метод для объективной скрининговой оценки влияния фармакологических средств, различных факторов на содержание ДНК в клетках сетчатки: фрагментацию ДНК, синтетическую активность ДНК, а также плоидность.

Ключевые слова: нейрональная сетчатка, проточная цитометрия, содержание ДНК.

Chereshnyuk I.L.

USE FLOW CYTOMETRY FOR SCREENING CONTENT RATINGS DNA IN THE NUCLEI OF CELLS IN THE NEURONAL RETINA IN RATS

Summary. The paper presents the results of flow-cytometric study of DNA content in cells of neuronal retina intact Wistar rats. DNA content of the majority of retinal neuronal nuclei of rat retina was 2c ($94,92 \pm 0,94\%$). Also in the cells of the retina animals revealed the presence of particles tetraploid nuclei (DNA = 4c) - $4,98 \pm 0,94\%$ and the small percentage of nuclei containing DNA characteristic of S-phase - $0,10 \pm 0,02\%$, that does not exclude the presence of Some synthetic activity of the DNA in the nuclei of the structure of the eye is normal. Background DNA fragmentation index (the percentage of fragmented DNA sites) was - $0,43 \pm 0,11\%$. The absence of significant differences between the analytical performance of DNA histograms of cells in the retina of right and left eyes of animals, acceptable coefficients of variation peaks G0G1 and high accuracy in the application of this method to objectively assess the impact of screening drugs, various factors or factors on DNA content in cells of the retina: DNA fragmentation, DNA synthetic activity and ploidy.

Key words: neuronal retina, flow cytometry, DNA content.

Стаття надійшла до редакції 12.11.2014

Черешнюк Ігор Леонідович - к. мед. н., ст. наук. сп. науково-дослідного центру ВНМУ ім. М.І.Пирогова; vin19@yandex.ru

© Саволюк С.І.

УДК: 617-089:616-08:163:616.36-008.5

Саволюк С.І.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра хірургії № 2 (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

ОПТИМІЗАЦІЯ МЕТОДІВ РЕЄСТРАЦІЇ ВИХІДНИХ ТА ПОСТДЕКОМПРЕСІЙНИХ ЗМІН ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ПЕЧІНКИ ПРИ НЕПУХЛИННІЙ ОБТУРАЦІЙНІЙ ЖОВТЯНИЦІ

Резюме. В статті проаналізовані результати лабораторного моніторингу періопераційної курації 510 хворих з непухлинною обтураційною жовтяницею. Первинна база накопичених даних становила 62 метаболічних показника та 10 розрахункових традиційних індексів. При статистичній обробці отриманих даних виділено метаболічні предиктори ускладнень, які стали основою для розробки нових 22 методів та способів прямої та опосередкованої оцінки вихідних та постдекомпресійних змін функціональної активності печінки, котрі можуть бути використані для діагностики та моніторингу печінкової дисфункції не тільки в гепатобіліарній хірургії, але й в умовах планової та ургентної абдомінальної хірургії.

Ключові слова: функціональна активність печінки, вихідні та постдекомпресійні зміни, непухлинна обтураційна жовтяниця, методи діагностики та моніторингу.

Вступ

Сучасний етап розробки та прогрес хірургічний технологій в гепатобіліарній хірургії вимагають чіткості підходів щодо діагностики, реєстрації та динамічного моніторингу за функціональною активністю печінки на протязі періопераційного терміну спостереження за хворим [Русин, 2009]. Ці підходи відносяться не тільки для умов резекційних та трансплантаційних програм хірургічного лікування вогнищевої та органічної пато-

логії печінки [Вишне夫斯基, 2013], але й до окремих питань планової та ургентної абдомінальної хірургії - непухлинна обтураційна жовтяниця (НПОЖ) [Шевчук, 2006; Гальперин, 2011], гострий панкреатит [Філіп, 2008], гострий холецистит [Дробков, 2014], розповсюджені форми гострого перитоніту [Бондарев, 2009; Чурпій, 2009], коли прояви печінкової недостатності (ГПН) відіграють вирішальну роль в досягненні задов-

ільних результатів раннього післяопераційного періоду. Тому уніфікація та стандартизація методів діагностики проявів ГПН є актуальною.

Мета роботи: розробка нових діагностичних методів та способів, що прямо та опосередковано оцінюють функціональну спроможність печінки у хворих з непухлинною обтураційною жовтяницею впродовж періоду операційного періоду.

Матеріали та методи

У роботі аналізуються результати лабораторного моніторингу хірургічного лікування 510 хворих з НПОЖ, оперованих на клінічних базах кафедри хірургії №2 ВНМУ ім.М.І.Пирогова. Середній вік пацієнтів становив $61,7 \pm 0,61$ років: жінок 61,6% (314) ($62,4 \pm 0,79$), чоловіків - 38,4% (196) ($60,6 \pm 0,96$).

Серед причин НПОЖ на долю первинного та резидуального холедохолітіазу припадало 80,8% (412) та 5,8% (30) відповідно (загалом 86,6%(442)), їх поєднання з іншими ускладненнями ЖКХ - в 9,8% (50) та 3,6% (18) (загалом 13,4%(68)). Так, поєднання первинного холедохолітіазу з доброякісними стенозами протоків спостерігалось в 3% (15) (за Bismuth I - 9 (1,8%), II - 5 (1,0%), III- 1 (0,2%)), з рубцевими стриктурами протоків - в 4,2% (22) (за Bismuth I - 8 (1,5%), II - 10 (1,9%), III- 4 (0,8%)), зі стенозуючим папілітом - в 2,6% (13). Поєднання резидуального холедохолітіазу з рубцевими стриктурами протоків спостерігалось в 2% (10) (Bismuth I - 2 (0,4%), II - 6 (1,2%), III - 2 (0,4%)), зі стенозуючим папілітом - в 1% (5), стенозуванням БДА (ХДА) - в 0,6% (3).

57,6% (294) хворих госпіталізовані після 6 доби виникнення НПОЖ, з них до 14 діб 33,7% (172), 23,9% (122) після 14 діб - до 21 доби 20,4% (104), після 21 доби - 3,5%(18). В 73,4% (374) рівень загального білірубину перевищував 100мкмоль/л, з них 42,2% (215)- 101-200, 24,5% (125) - 201-300, 6,7% (34) - більше за 301мкмоль/л.

Ступінь ГПН визначався за В.А. Вишневським (2003): рівень білірубінемії (до 100, 101-200, більше 201мкмоль/л), тривалість НПОЖ (до 7, 7-14, понад 14 діб), ступінь диспротеїнемії (альбуміно-глобуліновий коефіцієнт більше 1,2, 1,2-0,9, менше 0,9) та неврологічних порушень (відсутність, незначна та значна клініка) - легкий ступінь ГПН - сума балів 4-5, середній - 6-8, тяжкий - 9-12.

Для деталізації легкого ступеня ГПН модифіковано критерії В.П. Зиневича (1986), згідно з якими група з білірубінемією менше 100мкмоль/л розподілена на: 1 група - компенсована стадія ГПН - рівень білірубину менше 50мкмоль/л, яка за В.Г. Астапенко (1985), Е.В. Родонежской (2001) визначена як латентна стадія ГПН (62 (12,2%) - контрольна 32 (6,3%), основна 30 (5,9%)); 2 група - субкомпенсована стадія ГПН (легкий ступінь) - білірубінемія 50-100мкмоль/л (74 (14,4%) - контрольна 38 (7,4%), основна 36 (7,0%)). Стадія декомпенсації (білірубінемія 101-200мкмоль/л) відповідає середньо-

му ступеню ГПН, оскільки рівень 101мкмоль/л є граничним, що засвідчує порушення всіх функцій печінки (215 (42,2%) - контрольна 110 (21,6%), основна 105 (20,6%)), термінальна стадія (білірубінемія більше 201 мкмоль/л) - важкий ГПН (159 (31,2%) - контрольна 80 (15,7%), основна 79 (15,5%)).

Матеріалом для лабораторних досліджень були венозна та капілярна кров. Зміни визначались на момент госпіталізації, після передопераційної підготовки, на 1, 3, 5, 7, 9, 12, 15, 18 післяопераційну доби в межах 9 синдромів: ССЗВ, імунореактивності, антиоксидантного дисбалансу, цитопатичної гіпоксії, ендотеліальної дисфункції, функціонального стану печінки, ендотоксемії, ліпідного та вуглеводного обмінів (62 показника, 10 індексів).

Цитокіновий профіль оцінювався за неорганічним фосфором, С-реактивним протеїном (СРП), інтерлейкінами - прозапальними (фактор некрозу пухлин (ФНП?), ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-8) та протизапальними (ІЛ-4, ІЛ-10).

Клітинний імунітет вивчали за лімфоцитами, загальною популяцією Т- (CD3) і В-лімфоцитів (CD19), субпопуляційним складом Т-клітинної ланки (Т-хелпери (CD4), Т-супресори (CD8), імунорегуляторним індексом ($IP = CD4/CD8$)), природними кілерами (NK-клітини) (CD16), активованими лімфоцитами з рецептором до ІЛ-2 (CD25), ступенем опосередкованого Т-лімфоцитами апоптозу (CD95). Гуморальний імунітет - за імунoglobулінами (Ig) G, M та A, неспецифічний захист - за циркулюючими імунними комплексами (ЦІК) та фагоцитарною активністю нейтрофілів (фагоцитарне число (ФЧ), індекс (ФІ), завершеність фагоцитозу - СЗФ).

Антиоксидантний дисбаланс оцінювався за продуктами перекисного окислення ліпідів (дієнові кон'югати (ДК), малоновий діальдегід (МДА), індекс ризику ліпопероксидації) та ферментами захисту: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КА), церулоплазмін (ЦП), трансферин.

Ступінь цитопатичної гіпоксії визначали за вмістом карбонільних груп, аргініну, аденозиндезамінази (АДА), продуктів метаболізму АТФ (ксантин, гіпоксантин) та відповідальних за їх розщеплення ферментів (ксантиноксидаза (КО), ксантиндегідрогеназа (КДГ)), ендотеліальної дисфункції - метаболіти оксиду азоту (нітрати, нітрити), гомоцистеїн.

Функціональний стан печінки оцінювався за біохімічними показниками (загальний білок, альбумін (ЗКА), трансамінази (АлАТ, АсАТ, АсАТ/АлАТ), сечовина, креатинін, загальний білірубін та його фракції), органоспецифічними ферментами (орнітинкарбамоїлтрансфераза (ОКТ), сорбітолдегідрогеназа (СДГ), холінестераза (ХЕ), аргіназа, γ -глутамілтрансфераза (ГГТФ)).

Ендотоксемию визначали за молекулами середньої маси (МСМ), сорбційною здатністю еритроцитів (СЗЕ), якісними характеристиками альбуміну - ефективна концентрація (ЕКА), зв'язуюча здатність альбуміну (ЗЗА) та плазми (ЗЗП), лейкоцитозом, лейкоцитарними

індексами інтоксикації (ЛІІ) (ЛІІ Кальф-Каліфа (ЛІІ)), модифікований ЛІІ Dellinger (МЛІІ)), інтегральними індексами (лейкоцитоз та ШОЕ - гематологічний показник інтоксикації Васильєва (ГПІ), загальний білок та ЛІІ - індекс агресії (ІА), ДК та МСМ - індекс ендогенної інтоксикації (ІЕІ)); вуглеводний обмін - за глікемією, гліколізованим гемоглобіном (HbA1c), ліпідний - холестерин, ліпопротеїнами високої (ЛПВЩ) і низької щільності (ЛПНЩ).

Результати дослідження аналізувалися методами дисперсійного, багатофакторного кореляційно-регресійного аналізу та прогнозування.

Результати. Обговорення

У ході лабораторного спостереження виявлений 21 метаболічний предиктор ускладнень у хворих з НПОЖ (ГПН): загальний білірубін, фібриноген, ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-10, МДА, холестерин, КА, ЦП, трансферин, гомоцистеїн, загальний білок, ЗКА, ЕКА, ОКТ, глюкоза, HbA1c, МСМ, СЗЕ, ЛПВЩ, ЛПНЩ, на основі яких створені оригінальні індекси та способи для діагностики органних (ГПН) та гнійно-септичних ускладнень, що підвищують точність реєстрації змін та ефективність здійснення їх цілеспрямованої превентивної корекції.

Аналіз динаміки цитокінового профілю та обумовлених ними змін в системі імунореактивності у хворих з НПОЖ з різним ступенем вихідної та постдекомпресійної ПН дозволило виокремити прогностично значимі метаболічні предиктори (інтерлейкіни - 1, 6, 10 (Іл-1, Іл-6, Іл-10), показник опосередкованого Т-лімфоцитами апоптозу (CD95), неорганічний фосфор (нФ), лімфоцити крові (Li)), математична інтеграція яких дозволила створити наступні способи для діагностики септичних ускладнень та загрози їх виникнення:

1) спосіб діагностики стану імунологічної реактивності (патент № 40500), який передбачає визначення інтерлейкінів - 1 (Іл-1), 6 (Іл-6), 10 (Іл-10): при підвищенні всіх трьох показників діагностують стадію імунodefекту; підвищення Іл-1, Іл-6 та зниження Іл-10 - стадія імунотоксикозу; підвищення Іл-6, Іл-10 та зниження Іл-1 - стадія імунопаралічу. Завдяки цьому способу в межах концепції фаз імунного дистрес-синдрому було доведено, що по мірі поглиблення ступеня ПН у хворих з НПОЖ посилюються прояви імунологічного дефекту, що вимагає обов'язкового включення в періопераційну програму методів превентивної імункорекції з метою профілактики біліарного сепсису та післяопераційних гнійно-септичних ускладнень.

2) спосіб імунної діагностики стадії печінкової дисфункції та ступеня важкості ПН (патент № 88712), що передбачає визначення рівень опосередкованого Т-лімфоцитами апоптозу (CD95): CD95 7,3-7,5±0,05% відповідають рівню загального білірубину до 50 мкмоль/л, латентній стадії ПН, стадії компенсації печінкової дисфункції; CD95 7,6-8,2±0,06% відповідають білірубінемії 51-100 мкмоль/л, легкому ступеню ПН, стадії субком-

пенсації печінкової дисфункції; CD95 8,2-8,5±0,05% відповідають білірубінемії 101-200 мкмоль/л, середньому ступеню ПН, стадії декомпенсації печінкової дисфункції; CD95 >8,6±0,06% відповідають білірубінемії більше 201 мкмоль/л, важкому ступеню ПН, термінальній стадії печінкової дисфункції. Цей спосіб довів існування негативного впливу зростання загального білірубину на показники клітинного імунітету, корелюючи з динамікою лімфоцитопенії, опосередковано діагностуючи загрозу як біліарного сепсису, так і розвиток післяопераційних гнійно-септичних ускладнень у хворих з НПОЖ, в особливості при наявності її критичних форм (рівень загального білірубину більше 201 мкмоль/л, тривалість холестазу 14 діб).

3) спосіб визначення групи ризику виникнення післяопераційних септичних ускладнень передбачає розрахунок діагностичного коефіцієнта (К), числівником якого є значення неорганічного фосфору (нФ), помноженого на 100, знаменником - значення Іл-1, та наступний розподіл оперованих хворих на групи ризику щодо розвитку гнійно-септичних ускладнень: низький ризик - $3,0 < K < 4,0$; середній - $2,0 < K < 3,0$; високий - $1,0 < K < 2,0$; надвисокий - $K < 1,0$, що є підставою для зміни програми післяопераційного спостереження за хворим та лікувальної тактики. Вибір цих критеріїв для побудови розрахункового індексу обумовлюється біологічним значенням, які Іл-1 та нФ відіграють в патогенезі септичних станів, а саме: Іл-1 - маркер мікробної транслокації, нФ - маркер запальних гнійно-септичних ускладнень, що важливо, враховуючи його прогресивне зниження по мірі росту білірубінемії та поглиблення важкості вихідної та постдекомпресійної ПН.

4) спосіб визначення груп ризику виникнення запальних біліарних ускладнень та біліарного сепсису у хворих з НПОЖ, який передбачає розрахунок коефіцієнта (К), числівником якого є абсолютне значення лімфоцитів (Li), знаменником - маркер опосередкованого Т-лімфоцитами апоптозу (CD95), та розподіл хворих на групи ризику щодо запальних біліарних ускладнень та біліарного сепсису: низький ризик - $0,22 < K < 0,24$; середній - $0,19 < K < 0,21$; високий - $0,16 < K < 0,18$; надвисокий - $K < 0,15$, що є підставою для визначення оптимальної хірургічної тактики, динамічної зміни програми періопераційного супроводу та оцінки її ефективності.

Оцінку функціонального стану печінки, ступеня печінкової недостатності та дисфункції та обумовленого комплексу системних метаболічних порушень оцінювалися на основі діагностичних індексів, в які були інтегровані наступні виокремлені предиктори - КА, ЦП, МДА, загальний та прямий білірубін, ЗКА, ЕКА, СЗЕ, HbA1c, глюкоза, Фн, ОКТ, ЛПНЩ, ЛПВЩ, Тр, загальний білок, Аргінін, аргіназа, NOx, МСМ:

1) спосіб діагностики функціонального стану печінки та оцінки ефективності методів консервативної корекції (патент № 42319): $(Ka \times Cn) / MDA$ - коливання

індексу в донорів становить 85 - 100 ум. од.; стратифікація значень індексу в балах: 80-60 - 1 бал, 59-50 - 2 бали, 49-40 - 3 бали, 39 і менше - 4 бали.

2) спосіб періопераційної оцінки системних метаболічних порушень (патент № 43766): ЦП / (Тр х 100) - коливання індексу в донорів становить 1,5 - 1,8 ум. од., стратифікація значень індексу в балах: 1,8-1,9 - 1 бал, 1,91-2,0 - 2 бали, 2,1-2,30 - 3 бали, 2,31 і більше - 4 бали.

3) спосіб оцінки антиоксидантного потенціалу (патент № 54148): (КА/МДА)/(ЛПНЦ/ЛПВЦ) - коливання індексу в донорів становить: 1,6 - 2,6 ум. од., стратифікація значень індексу в балах: 1,59-0,9 - 1 бал, 0,89-0,49 - 2 бали, 0,48-0,2 - 3 бали, 0,19 і менше - 4 бали.

4) спосіб оцінки детоксикаційної здатності печінки та ендотоксикозу (патент № 42910): (білірубін загальний / білірубін прямий) / (ЗКА / ЕКА) - коливання індексу в донорів становить 3,1-3,4 ум.од., Стратифікація значень індексу в балах: 3,0-2,5 - 1 бал, 2,4-1,8 - 2 бали, 1,7-1,2 - 3 бали, 1,1 і менше - 4 бали.

5) спосіб оцінки функції печінки (патент № 42911): (білірубін загальний / білірубін прямий) / (загальний білок / ЗКА) - коливання індексу в донорів становить 2,15-2,39 ум.од., стратифікація значень індексу в балах: 1,8-2,14 - 1 бал, 1,4-1,79 - 2 бали, 0,8-1,39 - 3 бали, 0,79 і менше - 4 бали.

6) спосіб визначення ступеню функціональної печінкової дисфункції в періопераційний період (патент № 42992): (глюкоза / НвА1с) / (альбумін / фібриноген) - коливання індексу в донорів становить 0,05-0,07 ум.од., стратифікація значень індексу в балах: 0,071-0,1 - 1 бал, 0,11-0,14 - 2 бали, 0,141-0,18 - 3 бали, 0,181 і більше - 4 бали.

7) спосіб діагностики печінкової недостатності (патент № 57013): МСМ/(білірубін загальний / прямий білірубін) - коливання індексу в донорів становить: 0,05 - 0,01, стратифікація значень індексу в балах: 0,11 - 0,19 - 1 бал, 0,2 - 0,24 - 2 бали, 0,25 - 0,3 - 3 бали, 0,31 - 0,36 - 4 бали, 0,37 і вище - 5 балів.

8) спосіб оцінки функціонального резерву печінки у хворих на гостру печінкову недостатність (патент № 53522): ((білірубін прямий / альбумін) х фібриноген) / (МДА х КА) - коливання індексу в донорів становить 0,01 - 0,06 ум. од., стратифікація значень індексу в балах: 0,07-0,19 - 1 бал, 0,20-0,59 - 2 бали, 0,60-0,89 - 3 бали, 0,90 і більше - 4 бали.

9) спосіб діагностики структурно-метаболічного стану печінки (патент № 42991): (Нв А1с х ОКТ)/(ЛПНЦ/ЛПВЦ) - коливання індексу в донорів становить 0,4 - 0,6 ум. од., стратифікація значень індексу в балах: 0,61-0,7 - 1 бал, 0,71-0,89 - 2 бали, 0,9-0,99 - 3 бали, 1,0 і більше - 4 бали.

10) спосіб оцінки ступеня ендогенної токсемії (патент № 42993): (СЗЕ/НвА1с)/білірубін прямий - коливання індексу в донорів становить 1,3 - 1,7 ум. од., стратифікація значень індексу в балах: 1,2-0,6 - 1 бал, 0,5-

0,13 - 2 бали, 0,12-0,05 - 3 бали, 0,04 і менше - 4 бали.

11) спосіб діагностики та визначення ступеня печінкової дисфункції (патент № 87888) передбачає визначення перед оперативним втручанням та в післяопераційному періоді НвА1с та ЕКА: НвА1с $5,61 \pm 0,09\%$ та ЕКА $36,4 \pm 0,43\%$ відповідають рівню загального білірубину до 50 мкмоль/л, латентній стадії та стадії компенсації печінкової дисфункції; НвА1с $6,32 \pm 0,11\%$ та ЕКА $30,4 \pm 0,37\%$ відповідають загальному білірубину 51-100 мкмоль/л, легкому ступеню, стадії субкомпенсації печінкової дисфункції; НвА1с $7,32 \pm 0,13\%$ та ЕКА $24,7 \pm 0,26\%$ відповідають загальному білірубину 101-200 мкмоль/л, середньому ступеню, стадії декомпенсації печінкової дисфункції; НвА1с $8,31 \pm 0,15\%$ та ЕКА $20,7 \pm 0,2\%$ відповідають загальному білірубину більше 201 мкмоль/л, важкому ступеню, термінальній стадії печінкової дисфункції.

12) спосіб реєстрації важкості печінкової дисфункції передбачає розрахунок діагностичного коефіцієнта після визначення концентрацій аргінази та його відповідного субстрату аргініну за формулою - (Аргіназа х 100) / аргінін: при значеннях коефіцієнта $\leq 0,4$ ум. од. реєструють латентну стадію печінкової дисфункції (компенсовану стадію ГПН), при $\leq 0,7$ - стадію субкомпенсації печінкової дисфункції (легкий ступінь ГПН), при $< 1,0$ - стадію декомпенсації печінкової дисфункції (середній ступінь ГПН), при $> 1,0$ - термінальну стадію печінкової дисфункції (важкий ступінь ГПН).

13) спосіб періопераційної оцінки ступеня та стадії ПН передбачає визначення сумарної концентрації нітратів та нітритів (NOx) під час консервативного лікування та в періопераційний період: $0,35-0,37 \pm 0,011$ ммоль/л - компенсований ступінь ГПН, латентну стадію печінкової дисфункції; $0,44-0,46 \pm 0,013$ ммоль/л - субкомпенсовану стадію печінкової дисфункції, легкий ступінь ГПН; $0,58-0,61 \pm 0,02$ ммоль/л - стадія декомпенсації печінкової функції, середній ступінь ГПН; $0,67-0,7 \pm 0,017$ ммоль/л - термінальна стадія печінкової дисфункції, важкий ступінь ГПН.

Лабораторне та біохімічне дослідження жовчі (при дуоденальному зондуванні (порція С), при зовнішньому при традиційних та лапароскопічних втручаннях чи назобілярному білярному дрениванні при ендоскопічних втручаннях включало визначення прогностично значимих показників: Іл-1, ІгА, МСМ, рН, холестерин (Хс) та сумарні жовчні кислоти, ДК, МДА, які об'єднані в діагностичні методи:

1) спосіб оцінки наслідків хірургічної корекції ускладненої доброякісної білярної патології (патент № 65157) передбачає визначення ІЛ-1, ІгА та МСМ: зростання МСМ жовчі більше за $0,362 \pm 0,02$ од. опт. щільн. свідчить про порушення детоксикаційної здатності печінки, зростання ІгА жовчі $> 1,2 \pm 0,07$ г/л та ІЛ-1 $> 6,12 \pm 0,82$ пг/мл свідчить про загрозу бактеріального запалення жовчних протоків.

2) спосіб діагностики латентного холангіту та оцінки ступеню важкості гострого холангіту (патент № 65160)

передбачає визначення рН: про відсутність запальної патології жовчних протоків свідчить рН в межах $7,93 \pm 0,05$ - $8,27 \pm 0,05$, про латентний (субклінічний) холангіт - $7,42 \pm 0,04$ - $7,72 \pm 0,04$ (навіть за відсутності макроскопічних змін жовчі та протоків), $7,1 \pm 0,03$ констатує гострий гнійний холангіт легкого ступеню, $6,7 \pm 0,04$ - середнього, а до $6,1 \pm 0,06$ - важкого ступеню.

3) спосіб визначення дисфункції печінки в ранньому та віддаленому післяопераційному періодах (патент № 65171) передбачає визначення Хс, МСМ, ДК та МДА: коливання значень, що прямо пропорційні зростанню загального білірубину до 100мкмоль/л і обернено пропорційні при подальшому зростанні загального білірубину більше 100мкмоль/л по мірі поглиблення ГПН, МСМ, ДК, МДА та Хс свідчить про порушення екскреторної та детоксикаційної функцій печінки.

4) спосіб діагностики вихідного ступеню та прогнозування ризику прогресування післяопераційної ГПН (патент № 84568) передбачає визначення Хс та ЖК з розрахунком коефіцієнту ($Хс/ЖК - 0,11 \pm 0,008$): при коефіцієнті $0,09 \pm 0,005$ діагностують компенсовану (латентну) стадію ГПН, при $0,07 \pm 0,005$ - субкомпенсовану стадію ГПН, при $0,05 \pm 0,004$ - стадія декомпенсації печінкової функції та середній ступінь ГПН, при $0,03 \pm 0,004$ - термінальна стадія печінкової функції та важкий ступінь ГПН.

5) спосіб післяопераційної діагностики ступеня ПН передбачає визначення в крові (Хк) та в жовчі (Хж) (протокова, дренажна) вмісту Хс та розрахунок коефіцієнта елімінації (Кел), за яким здійснюють стратифікацію ступеня важкості дисфункції печінки ($Кел = Хк/(Хж \times 10)$, в нормі $\leq 1,0$): при $1,0 < Кел < 1,5$ - компенсований ступінь ГПН, латентну стадію печінкової дисфункції; при

$1,5 < Кел < 2,0$ - субкомпенсовану стадію печінкової дисфункції, легкий ступінь ГПН; при $2,0 < Кел < 2,5$ - стадія декомпенсації печінкової функції та середній ступінь ГПН; при $2,5 < Кел$ - термінальна стадія печінкової функції, важкий ступінь ГПН.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Незадовільні наслідки хірургічного лікування НПОЖ в ранньому післяопераційному періоді обумовлені тактичними помилками при необґрунтованому розширенню показів до одноетапних радикальних втручань (63,84%), обсяг яких не відповідає вихідній тяжкості пацієнтів і супроводжується збільшенням післяопераційних ускладнень до 16,87% та постдекомпресійної ГПН до 10,84%.

2. Створення діагностичних алгоритмів періопераційного моніторингу НПОЖ обґрунтувало зміни підходів для диференційованого вибору хірургічної тактики, протоколів періопераційного консервативного супроводу та оцінку їх клінічної ефективності, сприяючи зменшенню післяопераційних ускладнень на 10,26% з 16,87% до 6,61%, постдекомпресійної ГПН на 9,19% з 10,84% до 1,65% та летальності на 6,4% з 7,23% до 0,83%.

Наукові розробки будуть спрямовані на доказове обґрунтування диференційованих протоколів лікувально-протективної корекції функціонального стану печінки у хворих на гострий холецистит, гострий панкреатит, перитоніт для лікування та профілактики ініціації та прогресування проявів печінкової дисфункції в періопераційний період.

Список літератури

- Бондарев Р.В. Роль ентеральної інтоксикації в розвитку синдрому печінкової недостатності у хворих гострим розлитим перитонітом /Р.В.Бондарев, В.І.Бондарев, С.С.Селіванов //Наук. вісник Ужгородського унів.- 2009.- Вип.36.- С.64-66.
- Гальперин Э.И. Механическая желтуха: состояние мнимой стабильности, последствия второго удара, принципы лечения /Э.И.Гальперин //Анналы хирургической гепатол.- 2011.- №16 (3).- С.16-26.
- Пострезекционная печеночная недостаточность: современные проблемы определения, эпидемиологии, патогенеза, оценки факторов риска, профилактики и лечения /В.А.Вишневский, Ю.А.Коваленко, О.И.Андрейцева [и др.] //Укр. журнал хірургії.- 2013.- №3 (22).- С.172-182.
- Прогностичне значення циклічних нуклеотидів в оцінці функціонального стану печінки хворих на гострий холецистит /Дробков О.Л., Давидов Д.М., Кадочников В.С. [та ін.] //Вісник Вінницького нац. мед. унів.- 2014.- Т.18, №1, Ч.2.- С.183-186.
- С-метацетиновий дихальний тест - перспективний метод діагностики функціонального стану печінки /Русин В.І., Авдеев В.В., Румянцев К.Є. [та ін.] //Укр. журнал хірургії.- 2009.- №1.- С.112-114.
- Функціональна печінкова недостатність та ендогенна інтоксикація у хворих на гострий панкреатит /Філіп С.С., Скрипинець Ю.П., Полянський П.А. [и др.] //Acta Medica Leopoldensia.- 2008.- Vol.14, №3.- С.132-135.
- Чурпій І.К. Методи корекції печінкової недостатності при перитоніті /Чурпій І.К. //Наук. вісник Ужгородського унів.- 2009.- Вип.36.- С.159-160.
- Шевчук М.Г. Постдекомпресійні дисфункції печінки у хворих на обтураційні жовтяниці /Шевчук М.Г., Ткачук О.Л., Шевчук І.М.- Івано-Франківськ: Вид-во Івано-Франківського держ. мед. унів.- 2006.- 212с.

Саволок С.И.

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ РЕГИСТРАЦИИ ИСХОДНЫХ И ПОСТДЕКОМПРЕССИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕЧЕНИ ПРИ НЕОПУХОЛЕВОЙ ОБТУРАЦИОННОЙ ЖЕЛТУХЕ

Резюме. Проанализированы результаты лабораторного мониторинга периоперационного мониторинга периоперационной курации 510 больных с неопухолевой обтурационной желтухой. Первичная база накопленных данных состояла из 62 метаболических показателей и 10 расчетных традиционных индексов. Статистическая обработка выделила метаболические предикторы осложнений, которые стали основой для разработки новых 22 методов и способов прямой и опосредованной оценки исходных и постдекомпрессионных изменений функциональной активности печени, которые могут быть использованы для диагностики и мониторинга печеночной дисфункции не только в гепатобилиарной хирургии, но и в условиях плановой и urgentной абдоминальной хирургии.

Ключевые слова: функциональная активность печени, исходные и постдекомпрессионные изменения, неопуховая обтурационная желтуха, методы диагностики и мониторинга.

Savolyuk S.I.

OPTIMIZATION OF METHOD EVALUATION REFERENCE AND POSTDECOMPRESSIVE CHANGE OF FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE LIVER IN THE PATIENTS WITH NON-NEOPLASTIC OBSTRUCTIVE JAUNDICE

Summary. The article analyzes the results of laboratory monitoring perioperative supervision 510 patients with non-neoplastic obstructive jaundice. Primary data was collected base 62 metabolic rate and 10 settlement traditional indexes. Statistical analysis allocated predictors of metabolic complications, which became the basis for the development of new 22 methods and techniques of direct and indirect evaluation of the postdecompressive changes and functional activity of the liver, which can be used for diagnosis and monitoring of hepatic dysfunction not only in hepatobiliary surgery, but in a planned and urgent abdominal surgery.

Key words: functional activity of the liver, reference and postdecompressive change, non-neoplastic obstructive jaundice, methods of diagnosis and monitoring.

Стаття надійшла до редакції 25.11.2014

Саволук Сергій Іванович - д.мед.н., доц. кафедри хірургії №2 ВНМУ ім.М.І.Пирогова; +38 0432 67-07-15; savoluk@meta.ua

© Деркач Н.М., Штриголь С.Ю., Філімонова Н.І., Лар'яновська Ю.Б., Товчига О.В.

УДК: 616.345:616-092.9:579.861.1:579.841.11

Деркач Н.М., Штриголь С.Ю., Філімонова Н.І., Лар'яновська Ю.Б., Товчига О.В.

Національний фармацевтичний університет (вул. Пушкінська, 53, м.Харків, 61002, Україна)

ХАРАКТЕРИСТИКА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ІНФЕКЦІЙНОГО КОЛОПРОКТИТУ У ЩУРІВ

Резюме. Запропоновано модель інфекційного колопроктиту, яку відтворюють у наркотизованих щурів в умовах лапаротомії шляхом введення в ободову та пряму кишку культури *Staphylococcus aureus* ATCC29213 або *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 у дозі 1×10^8 крізь гнучкий ректальний катетер під візуальним і пальпаторним контролем. Модель характеризується гарною відтворюваністю, розвитком виразного запального процесу в кишечнику, переважанням катаболічних процесів, порушенням функціонального стану печінки. Її можна рекомендувати для вивчення патогенезу експериментального інфекційного процесу та ефективності антимікробних препаратів.

Ключові слова: щури, колопроктит, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Вступ

Інфекційні захворювання кишечника мікробної етіології широко розповсюджені в сучасному світі [Лобзин и др., 2001; Guerrant, 2001]. Їх лікування часто є складним завданням завдяки розвитку резистентності збудників [Практическое руководство ..., 2002]. Вивчення особливостей патогенезу, розробка нових лікарських засобів потребують застосування адекватних експериментальних моделей. Проте, виникає питання щодо вибору відповідної моделі. Пропонуються, зокрема, моделі колопроктиту іншого ґенезу - при відтворенні сепсису, коло-ректального розтягнення, опромінення тощо [Santos et al., 2001; Yang et al., 2008; The Effects of ...].

Мета цього дослідження - розробка доступної та зручної, добре відтворюваної моделі колопроктиту мікробної етіології у щурів та її клініко-морфологічна характеристика.

Матеріали та методи

Використано 24 білі безпородні статевозрілі щури самці масою близько 130 г, яких рандомізували на 3 групи по 8 тварин. Першу групу склали контрольні щури. У тварин другої груп відтворювали колопроктит, викликаний *Staphylococcus aureus*, у щурів третьої групи - *Pseudomonas aeruginosa*, спеціально розробленим способом. За 24 год до початку дослідів тварин позбавляли їжі, залишаючи

питну воду. Під наркозом (тіопентал натрій, 70 мг/кг внутрішньочеревинно) щурам, зафіксованим на операційному століку на спині, в асептичних умовах виконували серединну лапаротомію. Крізь пряму кишку вводили з'єднаний із шприцом підключичний катетер. Під візуальним і пальпаторним контролем (щоб уникнути перфорації) просували його вільний кінець до поперечної ободової кишки, після чого у кишечник вводили 1,5 мл стерильного 0,9% розчину NaCl (контрольним тваринам) або завись патогенних мікроорганізмів у такому ж об'ємі: *S.aureus* ATCC29213 у дозі 1×10^8 і *P.aeruginosa* ATCC 27853 у дозі 1×10^8 . Катетер витягали, уникаючи витікання рідини. Операційну рану пошарово зашивали.

Про стан трофічних процесів в організмі тварин судили за динамікою маси тіла. Ступінь інфікування визначали за кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) збудників, яких отримували із зібраних безпосередньо з прямої кишки випорожнень тварин на 3 і 6 день експерименту. Для оцінки тяжкості захворювання контролювали температуру у прямій кишці, на 6 день робили клінічний аналіз крові, яку брали з кінчика хвоста.

На 7 добу тварин декапітували під тіопентал-натрієвим наркозом, збирали кров для біохімічних досліджень. Сечовину в сироватці крові визначали за реакцією з діацетилмоноксидом, креатинін - за реакцією