

РОЛЬ МАРКЕРІВ ПОШКОДЖЕННЯ ЕНДОТЕЛІЮ В ПРОГНОЗУВАННІ ГОСТРОГО ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО ПАНКРЕАТИТУ ПІСЛЯ ПРЯМИХ ВТРУЧАНЬ НА ПІДШЛУНКОВІЙ ЗАЛОЗІ З ПЕРЕВАЖНИМ УРАЖЕННЯМ ЇЇ ГОЛОВКИ

I. A. Криворучко, С. М. Тесленко, М. М. Тесленко, В. М. Чеверда, С. А. Андреєщев
Харківський національний медичний університет МОЗ України

ROLE OF ENDOTHELIAL DAMAGE MARKERS IN PREDICTING ACUTE POSTOPERATIVE PANCREATITIS AFTER DIRECT INTERVENTION IN THE PANCREAS WITH A PRIMARY LESION OF THE HEAD

I. A. Krivoruchko, S. N. Teslenko, N. N. Teslenko, V. M. Cheverda, S. A. Andreyeshchev

Реферат

Дослідження виконано у 18 хворих на хронічний панкреатит та 14 хворих на рак підшлункової залози. Всім хворим було виконано прямі втручання на підшлунковій залозі. Результати досліджень вказують, що хронічний панкреатит і рак підшлункової залози поєднані з розвитком ендотеліальної дисфункції, яка протікає на тлі оксичних продуктів обміну NO₂, NO₃, NH₃ і інших, які корелюють із ступенем тяжкості перебігу хвороби і наявності ускладнень захворювання. Пацієнти з наростаючим рівнем VEGF в плазмі крові мають сприятливий прогноз, так як при наявному обсязі деструктивних змін у підшлунковій залозі і рівні ендотоксикозу організм формує обмежувальний бар'єр навколо вогнищ деструкції, ендотелій зберігає регуляторну здатність. Зниження VEGF в плазмі крові при гострому післяопераційному панкреатиті говорить про недостатність функції ендотелію і може служити маркером розвитку SIRS. Це також свідчить про те, що в сформованих умовах організм хворого не здатний вибудувати повноцінний обмежувальний бар'єр навколо вогнищ деструкції в підшлунковій залозі. Надалі це призводить до прориву медіаторів і ендотоксинів з вогнища запалення в системний кровотік і викликає розширення зони ушкодження і обваження SIRS.

Ключові слова: гострий післяопераційний панкреатит, ендотеліальна дисфункція, прогноз.

Abstract

The research was conducted in 18 patients with chronic pancreatitis and 14 patients with pancreatic cancer. All patients were performed direct intervention in the pancreas. The research results indicate that chronic pancreatitis and pancreatic cancer combined with the development of endothelial dysfunction that occurs on the background of toxic metabolic products NO₂, NO₃, NH₃ and others that are correlated with the severity of the disease and the presence of complications of the disease. Patients with progressive levels of VEGF have a favorable prognosis, since the existing amount of destructive changes in the pancreas and the level of endotoxemia body forms a restrictive barrier around foci of destruction, the endothelium maintains regulatory power. Reduction of serum VEGF in acute postoperative pancreatitis implies a lack of endothelial function and may serve as a marker of SIRS. It also indicates that under the circumstances, the patient's body is not able to build a complete restrictive barrier around foci of destruction in the pancreas. Further, this leads to a break through mediators of endotoxin and inflammatory focus in the systemic circulation and cause expansion of the damage and weighting SIRS.

Key words: acute postoperative pancreatitis, endothelial dysfunction, prognosis.

Одним із завдань сучасної хірургічної гастроентерології є не тільки забезпечення хороших і відмінних безпосередніх результатів, а й створення умов для ефективної реабілітації пацієнтів в ранньому післяопераційному періоді і запобігання післяопераційних ускладнень у хворих, що перенесли радикальні операції на підшлунковій залозі з приводу хронічного панкреатиту і раку з переважним ураженням головки залози. Проблема лікування в стаціонарі хворих з гострим післяопераційним панкреатитом є однією з найбільш серйозних в хірургічній гастроентерології. Гострий післяопераційний панкреатит (ГПП) одне з найважчих і важко прогнозованих ускладнень в абдомінальній хірургії. Число хворих з даною патологією неухильно зростає, особливо після втручання на підшлунковій залозі, що викону-

ються з приводу раку та хронічного панкреатиту, а розвиток ГПП у цієї категорії хворих спостерігається в 8—30% [1]. Традиційна тактика ведення хворих з даною патологією не задовольняє вимогам хірургів. Необхідне вдосконалення не тільки методів діагностики, лікування та профілактики ГПП, а також впровадження нових методів, заснованих, насамперед, на вивченні патогенезу розвитку місцевих і системних ускладнень, які часто є причиною летальних випадків у оперованих хворих.

Ендотеліальна дисфункція є патологічним станом, що виникає на фоні порушення продукції ендотеліальних факторів. Це призводить до порушення функції органів і систем організму, які виникають на фоні дисбалансу між продукцією судинорозширюючих, ангіопротекторних, ангіопроліферативних факторів, з одного

боку, і вмістом судинозвужуючих, протромботичних, проліферативних, з іншого. Ендотелій приймає участь у регуляції судинного тону, проникності судин, адгезії тромбоцитів і лейкоцитів, ангиогенезі, тромборезистентності, імунній відповіді, синтезі медіаторів запалення та їх інгібіторів, а також здійснює бар'єрні функції. Важливою функцією ендотелію є продукція оксиду азоту (NO), що підтримує базальний тонус судин і бере участь у здійсненні вазодилатації у відповідь на дію різноманітних стимулів. В останні роки у науковій літературі появилася велика кількість робіт, які свідчать про важливу роль оксиду азоту як поліфункціонального регулятора структурно метаболічних процесів [1–3], а згідно із сучасними уявленнями, хімічний медіатор NO відіграє універсальну роль модулятора фізіологічних функцій серцево–судинної, нервової, імунної, м'язової, дихальної, травної та інших систем організму. Цей месенджер має відношення до розвитку багатьох патологічних процесів, він виступає як патогенетичний регуляторний і медіаторний фактор формування порушень гомеостатичної функції організму, як аутокринна сигнальна молекула, NO приймає участь в проведенні сигналу від мембранних рецепторів до молекул внутрішньоклітинних структур, в тому числі, і по гуанілатциклазному шляху, як паракринний фактор, NO вносить частку в злагоджену роботу оточуючих клітин, приймаючи участь в утворенні молекулярних систем міжклітинної сигналізації [3]. Оксид азоту відповідає за тонус судин, міжклітинну комунікацію, модуляцію нейротрансмісії, рівень імунної цитотоксичності, секрецію медіаторів і гормонів. Ця молекула може бути пагубною як для клітин, включаючи ракові, так і для внутрішньоклітинних патогенних мікроорганізмів. Установлено, що цитотоксичність NO є результатом утворення великої кількості цих молекул, що супроводжується ініціацією апоптозу. Подвійна дія NO проявляється в його здатності захищати клітину від апоптозних сигналів і здійснювати апоптоз. Буде або ні молекула NO володіти цитотоксичними функціями, та чи проявиться її цитотоксичність, залежить від типу клітини, фази її розвитку, біоелектричного потенціалу, локальної концентрації NO і інших активних форм кисню [3]. В останній час отримано багато нових даних про метаболізм NO в живій клітині і структурі NO–синтази. Установлено, що оксид азоту діє як важливий регулятор таких загальноклітинних процесів як експресія генів і функціональної активності мітохондрій. В організмі NO синтезується із амінокислоти L–аргініну. Цей процес представляє собою комплексну окислювальну реакцію, що каталізується ферментом NO–синтазою, який є поліфункціональною оксидоредуктазою, яка нагадує по ряду властивостей систему цитохром–P450–редуктазу [3]. На теперішній час ідентифіковано три ізофермента NOS, які названі у відповідності з типами клітин, в яких вони були вперше виявлені: нейрональна (nNOS), індукцибельна (iNOS) або макрофагальна (mNOS) і ендотеліальна (eNOS). Всі ізоформи NOS каталізують утворення NO у відповідь на рецепторну, хімічну, біологічну

або фізичну стимуляцію. Вільний радикал NO в клітині швидко взаємодіє з молекулярним киснем, супероксидним аніон–радикалом і металами, що вміщують гем, та негемових білків [4, 5].

Ангиогенез — утворення нових кровоносних судин, обумовлене ембріогенезом, загоєнням ран, регенерацією органів і жіночим репродуктивним циклом. У постнатальний період цей процес в організмі людини знаходиться під жорстким контролем, оскільки як надмірне утворення кровоносних судин, так і недостатність їх розвитку можуть привести до серйозних захворювань. У результаті великого числа досліджень, проведених в останні роки, показано, що порушення ангиогенезу характерно для різних видів злоякісних новоутворень, макулярних дистрофій, атеросклерозу, артритів, ускладнень СНДу і цукрового діабету, хвороби Альцгеймера і понад 70 хронічних захворювань. За даними Фонду ангиогенезу (США) кількість людей з такими порушеннями сягає більше одного мільярда людей [6].

Мета дослідження — вивчення ролі ендотеліальної дисфункції у механізмі формування хронічного панкреатиту і раку підшлункової залози та визначення можливості використання маркерів пошкодження ендотелію для оцінки ефективності лікування та прогнозування ГПП в ранньому післяопераційному періоді після прямих втручань на підшлунковій залозі з переважним ураженням її головки.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клінічними, лабораторно–інструментальними методами у 18 пацієнтів було діагностовано хронічний панкреатит, який в 8 випадках був ускладнений механічною жовтяницею. У 14 хворих було діагностовано і гістоморфологічно підтверджено рак підшлункової залози, який у 13 пацієнтів був ускладнений жовтяницею. Для дослідження ендотеліальної дисфункції було виділено 2 групи пацієнтів: до першої групи увійшли хворі на хронічний панкреатит, до другої — на рак підшлункової залози. До контрольної (референтної) групи було включено 17 відносно здорових пацієнтів аналогічного віку та статі. Програма дослідження стану ендотеліальної дисфункції у хворих з хронічним панкреатитом і раком підшлункової залози передбачала: визначення в сироватці крові як хворих, так і умовно–здорових пацієнтів продуктів окислення оксиду азоту — нітритів (NO₂), нітратів (NO₃), S–нітрозотіолу, ендотеліальної (eNOS) і індукцибельної (iNOS) NO–синтази, а також одного із токсичних продуктів окислювального дезамінування амінокислот (L–глутаміну і L–аспарагіну) пуринових азотистих основ — аміаку (NH₃). Вміст в сироватці крові NO₂, NO₃, S–нітрозотіолу та активність eNOS і iNOS визначався у відповідності із рекомендаціями [6]. Аміак в сироватці крові визначався методом іонообмінної хроматографії на іонітах. Після розподілу амінокислот на іонітах, реєстрація їх кількості і аміаку здійснювалась на автоматичному аналізаторі амінокислот Т–339 (Чехословакія). Для дослідження концентрації фактору росту

ендотелію судин (VEGF) кров у обстежуваних пацієнтів відбирали в ранкові години до прийому їжі з кубітальної вени для отримання плазми без добавок та протягом години після забору пробірки з кров'ю доставляли в лабораторію для наступної обробки. Концентрацію VEGF в плазмі крові визначали із застосуванням набору реактивів для твердофазного імуоферментного аналізу "VEGF—ІФА—БЕСТ" (ЗАТ "Вектор—Бест", Новосибірськ), а також набору "Human VEGF Quantikine ELISA" ("R&D Systems", США). Дослідження виконувались до операції, на 3—5 та на 10—14 добу після неї. Статистичне опрацювання отриманих результатів дослідження виконувалося з використанням методів варіаційної статистики по програмі "Біостатистика". Відмінності між вибірками вважались статистично достовірними при значенні для $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Всім хворим були виконані наступні операції: у 3 хворих на хронічний панкреатит виконано дуоденозберігаючу резекцію головки підшлункової залози, у 2 — її Бернський варіант, у 2 — панкреатодуоденальну резекцію і у 11 — резекцію вентральної частини головки за Фреєм; у всіх 14 хворих на рак голівки підшлункової залози було виконано панкреатодуоденальну резекцію з лімфодисекцією D2.

Дослідження стану ендотеліальної дисфункції на хворих на хронічний панкреатит і рак підшлункової залози виявили підвищення в плазмі крові аміаку, нітритів, нітратів, S—нітрозотіолу, ендотеліальної (eNOS) NO—синтази. Поряд з тим, перебіг хронічного панкреатиту супроводжувався підвищенням індукційної (iNOS) NO—синтази, тоді як в умовах плинину раку підшлункової

залози цей показник значно знижувався в порівнянні з групою умовно—здорових пацієнтів (табл.1). Оцінка показників ендотеліальної дисфункції при хронічному панкреатиті характеризувалась зростанням аміаку в середньому на 65,4%; нітритів на 75,5%; нітратів — на 40,7%; S—нітрозотіолу — на 65,2%; ендотеліальної NO—синтази — на 19%; індукційної NO—синтази — на 89,5% відповідно. Ці дані свідчать про накопичення у хворих на хронічний панкреатит великої кількості оксиду азоту, який здатний із сульфгідрильними групами білків, шляхом їх нітрозилування, утворювати S—нітрозотіолу. Внаслідок блокування SH—груп білків може змінюватись їх активність і порушуватись їх регуляторна функція. Аналіз отриманих даних вказує на високу вірогідність підвищення у хворих при хронічному панкреатиті, особливо ускладненого механічною жовтяницею, великих концентрацій активних форм кисню — пероксинітриту, нітрозопероксикарбонату, гідроксильного радикалу і інших реакційно здатних радикалів на тлі зростання оксиду азоту та зниження глутатіону і інших сполук в органах і тканинах, що містять тіол на тлі підвищення рівня VEGF в плазмі крові в середньому на 116,7% ($p < 0,05$).

Результати аналізу показників ендотеліальної дисфункції у хворих на рак підшлункової залози виявили в сироватці крові аміаку — на 156,7%, нітратів — на 142,9%, нітритів — на 133,3%, S—нітрозотіолу — на 286,9%, ендотеліальної NO—синтази — на 112,1% на тлі зниження активності індукційної NO—синтази — на 44,7% відповідно (табл. 1).

Дослідження виявило зростання концентрації аміаку в сироватці крові хворих на рак підшлункової залози більше ніж в 2 рази. Це може вказувати на розвиток ен-

Таблиця 1. Стан ендотеліальної дисфункції у хворих на хронічний панкреатит та рак підшлункової залози до операції

Показники	Групи спостереження, M ± m		
	умовно-здорові (n=17)	хронічний панкреатит (n=18)	рак підшлункової залози (n=14)
NH ₃ (нмоль/л)	23,1±1,6	38,2±3,4*	59,3±4,2*
NO ₂ (мкм/л)	14,7±1,2	25,8±1,7*	35,7±2,1*
NO ₃ (мкм/л)	24,6±1,5	34,6±2,3*	57,4±3,7*
S—нітрозотіол (мкм/л)	0,23±0,02	0,38±0,07*	0,89±0,07*
eNOS (пмоль/хв·мг білка)	0,58±0,04	0,69±0,08*	1,23±0,11*
iNOS (пмоль/хв·мг білка)	0,38±0,03	0,72±0,06*	0,21±0,02*
VEGF (пг/мл)	133,3±25,75	288,9±43,8*	487,6±87,9*
Примітка.	* різниця вірогідна, $p < 0,05$		

Таблиця 2. Стан ендотеліальної дисфункції у хворих на хронічний панкреатит та рак підшлункової залози після операції (3-5 доба)

Показники	Групи спостереження, M ± m		
	умовно-здорові (n=17)	хворі без розвитку ГПП (n=22)	з розвитком ГПП (n=10)
NH ₃ (нмоль/л)	23,1±1,6	27,2±4,4*	69,3±5,1*
NO ₂ (мкм/л)	14,7±1,2	19,3±2,6*	45,6±3,8*
NO ₃ (мкм/л)	24,6±1,5	30,4±3,3*	67,2±4,8*
S—нітрозотіол (мкм/л)	0,23±0,02	0,48±0,04*	0,99±0,05*
eNOS (пмоль/хв·мг білка)	0,58±0,04	0,65±0,03*	1,57±0,09*
iNOS (пмоль/хв·мг білка)	0,38±0,03	0,51±0,04*	0,16±0,01*
VEGF (пг/мл)	133,3±25,75	258,7±58,73 *	678,8±145,4*
Примітка.	* різниця вірогідна, $p < 0,05$		

догенної інтоксикації та порушення механізмів знешкодження аміаку, високі рівні якого є прогностично—значущими критеріями при оцінці ступеня важкості перебігу хвороби. В усіх випадках рак підшлункової залози супроводжувався більш високими концентраціями в сироватці крові вмісту нітритів, нітратів, S—нітрозотіолу в порівнянні з групою хворих на хронічний панкреатит ($p < 0,05$). При цьому, середній рівень VEGF у цієї категорії хворих був вище на 265,8% показників контролю ($p < 0,05$) та на 68,8% — показників у хворих на хронічний панкреатит. Аналіз змін показника індукцйбельної NO—синтази показав підвищення активності ферменту при хронічному панкреатиті та його суттєве зниження при раку підшлункової залози, що може виступати важливим критерієм в диференціальній діагностиці хронічного панкреатиту та раку підшлункової залози (табл. 1).

Результати досліджень вказують, що хронічний панкреатит і рак підшлункової залози поєднані з розвитком ендотеліальної дисфункції, яка протікає на тлі накопичення токсичних продуктів обміну: NO_2 , NO_3 , NH_3 і інших, які корелюють із ступенем тяжкості перебігу хвороби і наявності ускладнень захворювань. Прогностично—значимим показником в диференціальній діагностиці хронічного панкреатиту і раку підшлункової залози може бути індукцйбельна NO—синтаза, а прогностичним критерієм формування ускладнених форм перебігу захворювання — рівень S—нітрозотіолів та VEGF плазми крові. При дослідженні виявлено значне підвищення показників, що вивчалися, у хворих у порівнянні із контролем та значне зниження індукцйбельної NO—синтази при розвитку ГПП (табл. 2). При цьому рівень VEGF в середньому на 162,4% був вищим у хворих, у яких розвинувся ГПП ($p < 0,05$) на 3—5 добу післяопераційного періоду (табл. 2).

ЛІТЕРАТУРА

1. Панкреатит. Травмы поджелудочной железы. / И. А. Криворучко, В. В. Бойко, Н. И. Березка [и др.] // *X.*, 2006. — 444 с.
2. Гуревич К. Г. Оксид азота: биосинтез, механизмы действия, функции / К. Г. Гуревич, Н. Л. Шимановский // *Вопросы биологии, медицины и фармакологической химии.* — 2000. — № 4 — С. 16—21
3. Киселик І. О. Особливості визначення нітратів та нітритів у хворих на вірусні гепатити та жовтяниці іншої етіології / І. О. Киселик, М. Д. Луцик, Л. Ю. Шевченко // *Лабораторна діагностика* — 2001. — № 3 — С. 43—45.
4. Малышев И. Ю. Введение в биохимию оксида азота. Роль оксида азота в регуляции основных систем организма / И. Ю. Малышев // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии* — 1997. — № 1 — С. 49—56.
5. Невзорова В. А. Роль оксида азота в регуляции легочных функций / В. А. Невзорова, М. В. Зуев, Б. И. Гельцер // *Терапевтический архив* — 1997. — Т. 69, № 3 — С. 68—73.
6. Ковальова О. М., Демиденко Г. В., Горбач Т. В. Діагностика ендотеліальної функції — оцінка вазоактивного пулу оксиду азоту / *Методичні рекомендації МОЗ України.* — Київ. — 2007. — 20 с.

