

ЕНДОТЕЛІАЛЬНА ДИСФУНКЦІЯ ПРИ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ

Шідловський В. О., Черножидз А. В.

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського»

Обстежено 57 хворих на гострий панкреатит. Встановлено підвищення рівня у крові циркулюючих ендотеліоцитів, метаболітів оксиду азоту та ендотеліну-1, що є ознакою розвитку ендотеліальної дисфункції. Ступінь ушкодження ендотелію залежить від важкості захворювання. Ознаки ендотеліальної дисфункції зберігаються й при виписці хворих із стаціонару, що може призводити до хронізації патологічного процесу.

Ключові слова: гострий панкреатит, пошкодження ендотелію, ендотеліальна дисфункція.

«Коли ви думаєте, що знаєте про людину все – не радійте завчасно. Ви знаєте рівно стільки, на скільки людина вам відкрилась»

Ще років двадцять тому патогенез панкреатиту розглядався як зрозумілий аутолітичний процес у підшлунковій залозі. З кожним роком при поглибленні наших знань у галузі панкреатології ми все більше усвідомлюємо складність і полісистемність гострого панкреатиту та недовершеність наших знань. Гострий панкреатит як таємнича дама, щоразу відкриває нам нові сторони свого характеру, заставляючи нас змінювати погляди на етіологію, патогенез та лікування. Так ставалося при вивченні ролі перекисного окислення ліпідів, цитокінів, медіаторів запалення, порушень коагуляції, мікроциркуляції та інших ланок у поліфакторних механізмах розвитку гострого панкреатиту. За останнє десятиліття тактика ведення хворих гострим панкреатитом еволюціонувала від агресивної хірургічної до консервативної вичікувальної. Змінюється і консервативна тактика лікування. Незважаючи на це, немає напевно жодного науковця, який міг би сказати «Я знаю про панкреатит все!». Доказом цього є зростання захворюваності, висока смертність та інвалідність від даної патології.

На сьогодні особливу увагу приділяють ендотеліальній дисфункції та порушенню нітрооксидпродукуючої функції ендотеліоцитів у патогенезі серцево-судинної патології та інших патологічних станів [8]. В останні роки ендотеліальну дисфункцію часто розглядають як універсальний глибокий патологічний процес, що лежить в основі практично усіх захворювань [2]. Під ендотеліальною дисфункцією розуміють дисбаланс між різними системами ендотеліальних медіаторів (вазодилататорами – вазоконстрикторами, анти- та прокоагулянтами, факторами росту та їх інгібіторами та ін.) [1]. Він проявляється відсутністю адекватної реак-

ції судинної стінки у відповідь на подразники та регуляторні впливи. Дисфункція ендотелію, перш за все, характеризується погіршенням здатності судин розширюватися [12]. Це зумовлює зміну вазомоторного тону, міграцію лейкоцитів у стінку судини, ріст та проліферацію гладких м'язів, посилення впливу прокоагулянтних факторів, збільшення утворення кисеньзалежних вільних радикалів. Наслідком цих змін може бути тромбоз, вазоконстрикція, ремоделювання судин, які призводять до поглиблення запальних процесів у місці запалення, провокують розвиток локальних і системних ускладнень [1, 2, 11].

Основною ланкою дисфункції ендотелію є порушення синтезу ендотеліальних факторів у відповідь на пошкодження ендотеліоцитів різними токсичними чинниками (МСМ, цитокіни, продукти ПОЛ, токсини бактерій та ін.). Серед найважливіших ендотеліальних факторів, дисбаланс яких призводить до дисфункції ендотелію, є оксид азоту та ендотелін [2, 11].

В останні роки з'явилися публікації, де наведені дані про порушення функції ендотелію при гострих хірургічних захворюваннях [12]. Проте, недостатньо вивченим залишається рівень ендотеліальної дисфункції при гострому панкреатиті.

Метою нашої роботи було вивчити ендотеліальну дисфункцію у хворих на гострий панкреатит в динаміці захворювання, шляхом дослідження рівня у крові циркулюючих ендотеліоцитів, стабільних метаболітів оксиду азоту та ендотеліну-1.

Матеріали та методи

Обстежено 58 хворих, що перебували на стаціонарному лікуванні у Тернопільській міській комунальній лікарні швидкої допомоги з приводу гострого панкреатиту. Середній вік обстежених складав (49,7±15,8) років. Серед них 36 (62%) чо-

ловік та 22 (38%) жінки. У 32 пацієнтів діагностовано набрякову форму панкреатиту, а у 26 – деструктивні форми захворювання. Контрольну групу склали 34 практично здорових особи.

Ступінь ушкодження ендотелію оцінювався по кількості десквамованих ендотеліальних клітин за методом J. Hladovec et al. в модифікації Сівак В. В., Тимофієвої Н. В та ін. [5]

Як маркери порушення функціонального стану судинної стінки досліджували рівні стабільних метаболітів оксиду азоту (нітратів та нітритів) за К. М. Miranda et al. [10] в модифікації Метельської В. А., Гуманової Н. Г. [3] та рівень у крові ендотеліну-1 імуно-ферментним методом з використанням набору реактивів «Amercham pharmacia biotech», Велика Британія. Для визначення співвідношення між вазоконстрикторами та вазодилаторами розраховували коефіцієнт вазомоторної дисфункції: $KBMД = ET/NOx$, де $KBMД$ – коефіцієнт вазомоторної дисфункції; ET – рівень ендотеліну-1; NOx – сумарний рівень нітратів і нітритів у сироватці крові [6].

У групи обстежених відбирались лише пацієнти, тривалість захворювання у яких не перевищувала 24 години до поступлення в стаціонар. Обстеження проводили при поступленні хворих у стаціонар, на третій день лікування та при виписці із стаціонару.

Статистична обробка отриманих результатів проводилась з допомогою статистичних функцій програм «Microsoft Office Excel 2007» та «STATISTICA 8.0» на персональному комп'ютері, застосовуючи параметричні та непараметричні методи статистичної обробки. Вираховували арифметичну величину M , середню помилку середньої арифметичної m , вірогідність різниці двох середніх арифметичних p . Для оцінки залежності використовували показники множинного регресійного та мультифакторного дисперсійного (MANOVA) аналізів. З метою пошуку прогностичних тестів клінічного перебігу гострого панкреатиту використали побудову класифікаційного дерева за CART-алгоритмом. Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез у даному дослідженні приймали рівним 0,05.

Результати досліджень та їх обговорення

Проведені дослідження показали, що у хворих на набрякову форму панкреатиту в першу добу захворювання різко зростає рівень метаболітів оксиду азоту (табл. 1). На 3 добу лікування рівень NOx дещо знижується, але залишається збільшеним до виписки хворих із стаціонару. Зростання даного показника свідчить про активацію індукованої форми синтази оксиду азоту ендотеліального і імуноцитарного походження. Ці зміни пов'язані із компенсаторним викидом

оксиду азоту для збільшення кровопостачання в ділянках ураження, покращення системного кровообігу, зниження гіперкоагуляції. Поступове зниження гіперпродукції оксиду азоту свідчить про згасання запального процесу у підшлунковій залозі на фоні лікування, зростання компенсаторних механізмів та зниження в процесі лікування токсичного впливу на ендотелій.

Рівень ендотеліну-1, як антагоніста оксиду азоту, також зростає на початку захворювання і поступово знижувався до моменту виписки хворого із стаціонару. Виділення ендотеліну-1 зумовлене пошкодженням ендотеліальних клітин та гіпоксичним ураженням тканин, а також зростанням рівня вазодилаторів (NO) для забезпечення регуляторної рівноваги. При розрахунку коефіцієнта вазомоторного дисбалансу встановлено, що на початку захворювання є зсув показника в сторону переважання вазоконстрикторного впливу. Це призводить до погіршення кровопостачання, особливо в мікроциркуляторному руслі. При виписці із стаціонару показник ET/NO достовірно не відрізнявся від групи контролю ($p > 0,05$). Ці дані свідчать про відсутність дисбалансу між основними ендотеліальними вазоактивними факторами.

Не менш важливим показником для оцінки стану ендотелію судин, зокрема його пошкодження є визначення кількості у крові циркулюючих ендотеліальних клітин. При набряковій формі гострого панкреатиту на початку захворювання відмічається зростання кількості ЦЕК більш як в 2 рази в порівнянні із контрольною групою. На третю добу цей показник практично не змінювався ($p > 0,05$) і при виписці із стаціонару знижувався, хоча і залишався вище норми. Таким чином найбільше ушкоджується ендотелій в перші 3 доби захворювання. В подальшому рівень ЦЕК повільно знижується, що свідчить про відновлення структури ендотеліального шару судинної стінки.

При тяжкому перебігу гострого панкреатиту в перший день захворювання рівень метаболітів оксиду азоту зростає більш помітно ніж при набряковій формі захворювання ($p < 0,05$). На 3 добу лікування сумарний рівень нітратів та нітритів у крові продовжував зростати (табл. 2). Це свідчить про прогресування гіперпродукції оксиду азоту. Ймовірно воно пов'язане не лише із активацією $iNOS$, а й із посиленням утворення оксиду азоту через альтернативні шляхи [9]. Згідно літературних даних [7, 9] ними є нітроредуктазний шлях в умовах гіпоксії та реакція вільних радикалів з аргініном. З часом аргінін, як субстрат, для утворення NO , вичерпується. Окрім цього вільні радикали здатні його інактивувати, як і зв'язувати оксид азоту з утворенням пероксинітриду.

При деструктивному панкреатиті ці зміни призводять до дефіциту аргініну [7] при його

Таблиця 1

Рівень маркерів ендотеліальної дисфункції в процесі лікування хворих на набрякову форму гострого панкреатиту

Групи хворих	NOx, мкмоль/л			Ендотелін, пг/мл			NO/ET			Циркулюючі ендотеліоцити, x10 ⁴ /мл		
	1 доба	3 доба	Виписки	1 доба	3 доба	Виписки	1 доба	3 доба	Виписки	1 доба	3 доба	Виписки
Набрякова форма панкреатиту (n=32)	41,29 ±2,47 *	38,03 ±1,89 *	29,78 ±2,92 *°	8,47 ±0,62 *	7,03 ±0,53 *#	5,39 ±0,56 *°	0,21 ±0,02 *	0,18 ±0,02	0,17 ±0,03	10,16 ±1,38 *	9,09 ±1,24 *	6,47 ±0,96 *°
Контроль (n=34)	25,78±1,81			4,34±0,47			0,17±0,02			4,81±0,85		

Примітки: 1. * – достовірність у порівнянні із контролем P<0,05
 2. # – достовірність між показниками на 1 та 3 добу захворювання P<0,05
 3. ° – достовірність між показниками на 3 добу захворювання та в день виписки P<0,05

Таблиця 2

Рівень маркерів ендотеліальної дисфункції в процесі лікування хворих на панкреанекроз

Групи хворих	NOx, мкмоль/л			Ендотелін, пг/мл			NO/ET			Циркулюючі ендотеліоцити, x10 ⁴ /мл		
	1 доба	3 доба	Виписки	1 доба	3 доба	Виписки	1 доба	3 доба	Виписки	1 доба	3 доба	Виписки
Панкреанекроз (n=26)	44,18 ±1,9 *	54,74 ±4,37 *#	20,21 ±1,29 *°	10,15 ±1,16 *	11,31 ±1,43 *	7,11 ±0,52 *°	0,23 ±0,02 *	0,21 ±0,02 *#	0,35 ±0,04 *°	12,24 ±1,69 *	16,28 ±1,99 *#	10,68 ±1,61 *°
Контроль (n=34)	25,78±1,81			4,34±0,47			0,17±0,02			4,81±0,85		

Примітки: 1. * – достовірність у порівнянні із контролем P<0,05
 2. # – достовірність між показниками на 1 та 3 добу захворювання P<0,05
 3. ° – достовірність між показниками на 3 добу захворювання та в день виписки P<0,05

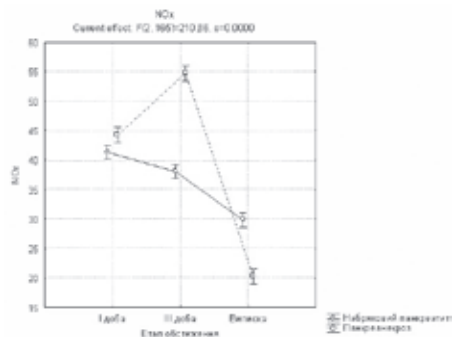


Рис. 1. Залежність рівня метаболітів оксиду азоту у крові від важкості гострого панкреатиту в динаміці захворювання (MANOVA)

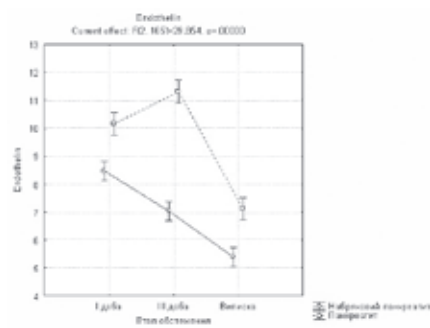


Рис. 2. Залежність рівня ендотеліну-1 у крові від важкості гострого панкреатиту в динаміці захворювання (MANOVA)

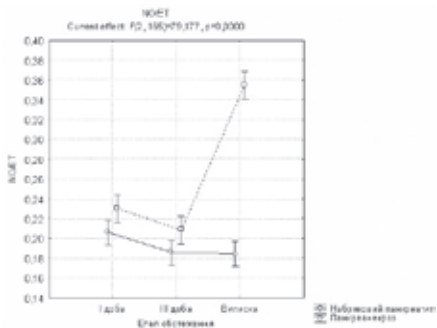


Рис. 3. Залежність значення показника ET/NO від важкості гострого панкреатиту в динаміці захворювання (MANOVA)

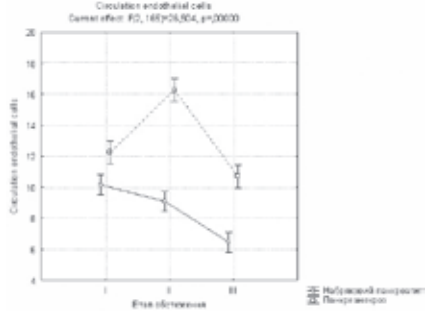


Рис. 4. Залежність кількості циркулюючих ендотеліоцитів у крові від важкості гострого панкреатиту в динаміці захворювання (MANOVA)

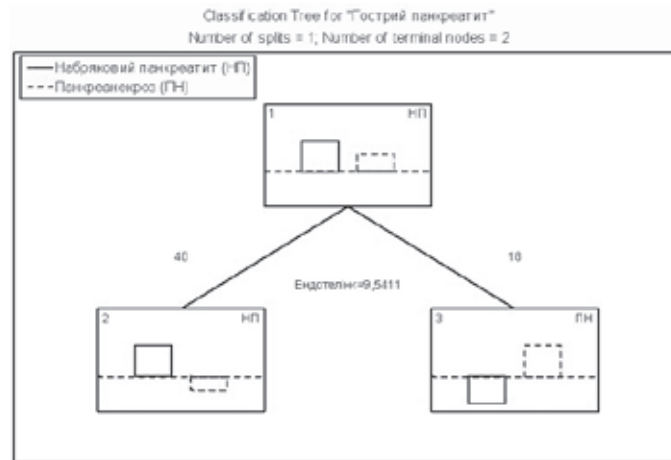


Рис. 5. Класифікаційне дерево на основі значень рівня маркерів ендотеліальної дисфункції у хворих на гострий панкреатит на початку захворювання

тривалому перебігу і, як наслідок, при виписці хворих із стаціонару до дефіциту оксиду азоту (рис.1). Рівень ендотеліну-1 в перший день захворювання зростає достовірно вище ніж при набряковій формі панкреатиту.

Далі в динаміці рівень його зростає ще більше і наприкінці захворювання залишається вище норми близько в 2 рази (рис. 2).

Відповідно і коефіцієнт вазомоторного дисбалансу при панкреанекрозі як на початку захворювання так, особливо, при виписці хворих із стаціонару різко зміщується в сторону вазоконстрикторного впливу на судинну стінку (рис. 3). Високий рівень ендотеліну, як відомо із наукових праць [4], посилює фіброзні зміни і здатен призводити до хронізації запального процесу в підшлунковій залозі. Високий рівень вазоспастичних медіаторів сприяє функціональній недостатності практично усіх органів і систем, і є основним фактором розвитку поліорганної недостатності при гострому панкреатиті [11].

Кількість у крові циркулюючих ендотеліальних клітин при панкреанекрозі зростає найбільше на 3 добу захворювання, і ці показники значно вищі у порівнянні із групою хворих на набрякову форму панкреатиту. При виписці із стаціонару у пацієнтів із панкреанекрозом рівень ЦЕК перевищує нормальні показники більш як в 2,5 рази (рис. 4). Ці дані свідчать про тривалу деструкцію ендотеліальних клітин і як наслідок порушення їх функціональної активності.

Таким чином можна стверджувати, що ендотеліальна дисфункція при набряковій формі гострого панкреатиту пов'язана передусім із гіперактивацією ендотеліоцитів, а при панкреанекрозі – із посиленням руйнуванням ендотеліальних клітин.

При розрахунку кореляційних зв'язків встановлено тісну пряму залежність кількості циркулюючих ендотеліальних клітин від рівня ендотеліну ($R=0,82$) та слабку пряму залежність

від рівня метаболітів оксиду азоту ($R=0,58$). Це передусім пов'язано із більшою специфічністю синтезу ендотеліну ендотеліоцитами та виділенням його у відповідь на пошкодження. Синтез оксиду азоту не є ендотеліспецифічним і тому він менше залежить від руйнування ендотеліоцитів.

На основі отриманих даних виділені основні показники ендотеліальної дисфункції за допомогою яких можна на початку захворювання прогнозувати перебіг гострого панкреатиту. Побудова класифікаційного дерева на основі показників проведених в перший день захворювання показала, що серед усіх показників на початку лікування гострого панкреатиту найбільш достовірним є рівень ендотеліну-1. (рис. 5).

Відповідно, при рівні даного показника менше чи рівне 9,54 пг/мл перебіг захворювання ймовірніше за все буде по типу набрякового панкреатиту, а якщо рівень ендотеліну $>9,54$ пг/мл – варто очікувати важкого перебігу гострого панкреатиту.

Висновки

1. У хворих на гострий панкреатит відмічається підвищення у крові рівня циркулюючих ендотеліоцитів, метаболітів NO та ендотеліну-1, що вказує на пошкодження ендотелію та розвиток ендотеліальної дисфункції. Встановлено зсув балансу ендотеліальних медіаторів у сторону переважання вазоконстрикторів.

2. Рівень маркерів ендотеліальної дисфункції у крові значно вищий у випадку важкого перебігу гострого панкреатиту.

3. У випадках набрякового панкреатиту найвищий рівень ендотеліальної дисфункції має місце в перший день захворювання. В процесі лікування її показники поступово знижуються. При панкреанекрозі рівень маркерів ендотеліальної дисфункції зростає в більшій мірі на

3 добу захворювання.

4. Після лікування ознаки ендотеліальної дисфункції зберігаються, особливо у хворих на панкреанекроз.

5. Визначення рівня маркерів ендотеліальної дисфункції є важливим прогностичним показником важкості перебігу гострого панкреатиту та розвитку ускладнень, дає можливість передбачати варіанти перебігу захворювання і контролювати ефективність призначеної терапії.

Перспективи подальших досліджень

Порушення функції ендотелію є важливим фактором, що впливає на важкість гострих запальних захворювань, тому значення ендотеліальної дисфункції у патогенезі гострого панкреатиту потребує більш детального вивчення. Важливим є також дослідження факторів, що негативно впливають на ендотелій судин і визначають важкість перебігу гострого панкреатиту.

Література

1. Корж А. Н. Современные представления о структуре, функции и биологической роли сосудистого эндотелия // *Международ. мед. ж.* – 2003. – № 1. – С. 130–133;
2. Марков Х. М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия / Х. М. Марков // *Кардиология.* – 2005. – № 12. – С. 62–72.
3. Метельская В. А., Гуманова Н. Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови. // *Клин. лаб. диагн.* – 2005. – № 6. – С. 15–18.
4. Патарая С. А. Биохимия и физиология семейства эндотелинов / С. А. Патарая, А. В. Преображенский, Б. А. Сидоренко // *Кардиология.* – 2000. – № 6. – С. 76–79.
5. Патент 25012 U, Україна. Спосіб визначення вільноциркулюючих ендотеліальних клітин у крові / В. В. Сівак, Н. В. Тимофієва, О. Б. Донник та ін. – № 200702080; Заявл. 27.02.07; Опубл. 25.07.07., Бюл 6.
6. Патент России № 2209587, МПК6 А61В5/02. Способ комплексной оценки вазомоторной функции сосудистого эндотелия. / Б. И. Гельцер, В. Н. Котельников, С. В. Савченко, И. В. Плотникова; заявлено 13.06.2001 г. № 2001116265, зарегистрировано 10.11.2003 г.
7. Реутов В. П. Циклические превращения оксида азота в организме млекопитающих / В. П. Реутов, Е. Г. Соколова, В. Е. Охотин. – М.: Наука, 1998. – 159 с.
8. Anderson T. J. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1999. – Vol. 34. – P. 631–638;
9. Kelm M. Nitric oxide Metabolism and breakdown / M. Kelm // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1999. – Vol. 1411. – P. 273–279.
10. Miranda K. M., Espey M. G., and Wink D. A. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite // *Biology and Chemistry.* – 2001. – Vol. 5, No. 1. – pp. 62–71
11. Nagy J. Endothelial dysfunction / J. Nagy, B. Csiky, T. Kovacs, I. Wittmann // *Orv. Hetil.* – 2001. – Vol. 142(31). – P. 1667–1672.
12. Schiffrin E. L. Vascular biology of endothelin / E. L. Schiffrin, R. M. Touyz // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1998. – Vol. 32. – P. 2–13.

ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Шидловский В. А., Черномыдз А. В.

Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского

Обследовано 57 больных острым панкреатитом. Установлено повышение уровня в крови циркулирующих эндотелиоцитов, метаболитов оксида азота и эндотелина-1, что является признаком развития эндотелиальной дисфункции. Степень повреждения эндотелия зависит от тяжести заболевания. Признаки эндотелиальной дисфункции сохраняются и при выписке больных из стационара, что может приводить к хронизации патологического процесса.

Ключевые слова: острый панкреатит, повреждение эндотелия, эндотелиальная дисфункция.

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN ACUTE PANCREATITIS

Shidlovskiy V., Chornomydz A.

I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University

Examined 57 patients with acute pancreatitis. Established enhancements levels of circulating endothelial cells, metabolites of nitric oxide and endothelin-1 in blood, which is a sign of endothelial dysfunction. The degree of endothelial damage depends on the severity of the disease. Symptoms persist endothelial dysfunction at discharge patients from hospital, which can lead to chronic disease process.

Keywords: acute pancreatitis, damage to the endothelium, endothelial dysfunction.