

УДК 616-071+616-099+616.381-002

© А. Я. ПАВЛЯК

Івано-Франківський національний медичний університет

Прогностичне значення ЛАЛ-тесту в діагностиці ендогенної інтоксикації при розповсюдженому гнійному перитоніті

A. YA. PAVLYAK

Ivano-Frankivsk National Medical University

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF LAL-TEST FOR THE DIAGNOSTICS OF ENDOGENOUS INTOXICATION AT EXTENDED PURULENT PERITONITIS

Метою даного дослідження було встановити діагностичну значимість ЛАЛ-тесту для оцінки тяжкості стану хворих на розповсюджений гнійний перитоніт і прогнозу госпітальної летальності. Всім хворим на першу добу післяопераційного періоду визначався кількісний вміст ендотоксину в сироватці крові за допомогою ЛАЛ-тесту. Для порівняння тяжкості стану хворих на першу добу післяопераційного періоду визначали за допомогою бальної оцінки за шкалою APACHE II, в модифікації А. П. Радзиховського, на основі комплексу клінічних і лабораторних даних. Крім того, хворим вираховувався лейкоцитарний індекс інтоксикації за формулою Я. Я. Кальф-Каліфа. У всіх хворих були симптоми, які відповідають критеріям ендогенної абдомінальної інтоксикації і синдрому системної запальної реакції (ССЗР). Наслідок захворювання оцінювали за госпітальною летальністю. Проведене дослідження свідчить, що кількісний специфічний ЛАЛ-тест добре корелює з тяжкістю стану хворих за критеріями ССЗР і з бальною оцінкою тяжкості стану хворих за шкалою APACHE II, має високу прогностичну значимість в діагностиці ендогенної інтоксикації і може бути використаний як кількісний діагностичний маркер в оцінці тяжкості стану і прогнозі госпітальної летальності у хворих із розповсюдженим гнійним перитонітом.

The article aimed at establishing the diagnostic significance of the LAL-test for the evaluation of seriousness of the state of patients with purulent peritonitis and for the prognosis of hospital lethality. On the first postoperative day all the patients had their quantitative level of endotoxemia in blood serum calculated by the LAL-test. To make a comparison, the seriousness of the patients' state on the first postoperative day was determined with the help of APACHE II scale, modified by A. P. Radzykhovskiy on the basis of the complex clinical and laboratory data. In addition, the patients had their leukocytic index of intoxication calculated by means of Ya. Ya. Kalf-Kalif's formula. All the patients had the symptoms of endogenous abdominal intoxication and the syndrome of systemic inflammation. The result of the disease was evaluated by hospital lethality. Our research proves that the quantitative specific LAL-test correlates with the seriousness of the patients' state, which was determined by SIRS criteria and by the evaluation of the seriousness of the patients' state with the help of APACHE II scale. The LAL-test has high prognostic value in the diagnostics of endogenous intoxication and can serve as a quantitative diagnostic marker for the evaluation of the seriousness of patients' state for the prognosis of hospital lethality of patients with extended purulent peritonitis.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. Висока летальність при розповсюдженому гнійному перитоніті (РГП), від 20 до 83,7 %, є наслідком ендогенної інтоксикації (ЕІ), яка сприяє розвитку ряду неспецифічних реакцій організму і призводить до поліорганної недостатності (ПОН) [1, 2, 3].

На сьогодні тривають пошуки методів діагностики ендотоксикозу при РГП [9]. Не втратили актуальності і широко використовуються в клінічній практиці лейкоцитарні індекси інтоксикації (ЛІІ) за Я. Я. Кальф-Каліфом (1941), В. К. Островським (1983), А. Я. Фіщенком, С. Д. Хімічем, Хіміч-Ко-

соченком, Б. А. Рейсом, які є неспецифічними лабораторними методами діагностики ЕІ і дозволяють опосередковано оцінювати цитокінову реакцію і стан імункомпетентної системи організму [4, 5, 6]. Широко користуються ядерним індексом інтоксикації (ЯІІ) за Г. А. Даштаянцом (1978). Цінним лабораторним критерієм в діагностиці ЕІ є гематологічний показник інтоксикації (ГПІ) за В. С. Васильєвим і В. І. Комаром. Також користуються індексом зсуву лейкоцитів, індексом співвідношення нейтрофіли/моноцити, індексом співвідношення лімфоцити/еозинофіли, індексом імунореактивності за Д. О. Івановим, лімфоцитарним індексом, індек-

сом співвідношення еозинофільних гранулоцитів і лімфоцитів і показником інтоксикації за В. А. Сипливим, нейтрофільно-лімфоцитарним коефіцієнтом, лабораторним показником інтоксикації за Г. І. Марчуком (1979). Широко визначають вміст пептидів середньомолекулярної маси, що вважається класичним маркером ендотоксикозу. Всі ці методи мають ряд недоліків, оскільки вони є неспецифічними лабораторними маркерами і, за даними літератури, не завжди достатньо інформативними для оцінки тяжкості стану хворого з РГП [1, 2, 6].

До специфічних тестів визначення ЕІ відносять метод біологічного тестування на лабораторних тваринах, а також парамедійний тест, який ґрунтується на здатності ендотоксину пригнічувати діяльність організмів класу найпростіших. Цей тест має ряд недоліків, оскільки дає лише напівкількісний характер інтерпретації результату, має недостатню чутливість і специфічність [5].

Отже, актуальним є впровадження в клінічну практику специфічних кількісних лабораторних методів діагностики ЕІ, які б слугували надійним діагностичним критерієм в оцінці тяжкості і прогнозі летальності при РГП.

Мета роботи: встановити діагностичну значимість ЛАЛ-тесту для оцінки тяжкості стану хворих на гнійний перитоніт і прогнозу госпітальної летальності.

Матеріали і методи. Проведено обстеження 52 пацієнтів, які лікувалися з приводу вторинного гнійного розлитого перитоніту в хірургічних відділеннях ЦМКЛ і ОКЛ м. Івано-Франківська (грудень 2009 – червень 2011 рр.). У всіх хворих мали місце симптоми, які відповідають критеріям ендогенної абдомінальної інтоксикації і синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ) (Чикаго, 1991). Серед 52 хворих було 29 чоловіків і 23 жінки. Вік хворих від 18 до 84 років. Критеріями виключення були наявність у хворих супутньої патології, що впливає на тяжкість стану пацієнта.

Причинами РГП у хворих були: перфоративні гастродуоденальні виразки – 10 пацієнтів (19,23 %), гнійно-деструктивні ускладнення гострого панкреатиту – 15 хворих (28,84 %), гостра кишкова непрохідність – 9 пацієнтів (17,30 %), мезентеріальний тромбоз – 6 хворих (11,53 %), гострий деструктивний апендицит – 5 пацієнтів (9,61 %), перфорація товстого кишечника – 4 хворих (7,69 %), травматичні ушкодження органів черевної порожнини – 3 пацієнти (5,76 %).

Всі хворі були прооперовані в день госпіталізації в ургентному порядку після відповідної необхідної передопераційної підготовки. Пацієнтам проведені

лапаротомія, ліквідація джерела перитоніту, назоінтестинальна інтубація, санація і дренивання черевної порожнини.

Хворі відповідно до класифікації ССЗР поділені на 3 групи. До 1-ї групи увійшли 26 (50 %) хворих із проявами “абдомінального сепсису”, до 2-ї – 16 (30,76 %) пацієнтів із проявами “тяжкого” абдомінального сепсису і до 3-ї групи віднесено 10 (19,23 %) хворих із явищами септичного шоку і поліорганної недостатності.

Всім хворим на 1-шу добу після оперативного втручання кількісний вміст ендотоксину в сироватці крові визначали за допомогою Hbt LAL-тесту (Лізат амебоцитів *Limulus*) хромогенного методу визначення ендотоксину по кінцевій точці компанії Hycult Biotech (Нідерланди). Метод призначений для кількісного визначення ендотоксину в плазмі, сироватці та інших розчинах. Поріг чутливості становить 0,01 МЕО/мл. Щоб запобігти інгібуванню ендотоксину різними компонентами сироватки, її розводили з наступним підігріванням до 75 °С впродовж 5 хв.

Метод базується на тому, що ендотоксин викликає помутніння і загущення LAL, бактерії викликають внутрішньосудинну коагуляцію в американського рачка-мечохвоста (*Limulus polyphemus*). Цей процес базується на ензиматичній реакції. Речовина, яка відповідає за згортання, постійно присутня в амебоцитах мечохвоста або в циркулюючих клітинах крові. Бактеріальний ендотоксин ензиматично викликає помутніння і гелеутворення. В присутності безбарвного субстрату ензиматична реакція приводить до жовтого забарвлення у міру розщеплення хромофора, р-нітроаніліну (pNA). Інтенсивність забарвлення вимірювали при довжині хвилі 405 нм, яка прямо пропорційна кількості ендотоксину в зразку. Концентрацію ендотоксину в зразку з невідомою концентрацією, який тестується одночасно зі стандартами, визначали з калібрувальної кривої. Дослідження проводили за допомогою напівавтоматичного імуоферментного аналізатора Stat Fax 303 (серійний номер 10470572, США) в клінічній лабораторії ЦМКЛ м. Івано-Франківська. Результат виражався в ендотоксинових одиницях (ЕО/мл). Від 0 до 1 ЕО/мл вважають фізіологічною нормою [7, 9].

Тяжкість стану хворих на 1-шу добу післяопераційного періоду визначали за допомогою бальної оцінки за шкалою APACHE II, в модифікації А. П. Радзиховського (1997) на основі комплексу клінічних і лабораторних даних, в якій враховані залежно від ступеня порушення виражені в балах такі критерії: температура тіла, середній артеріальний тиск, частота серцевих скорочень за хвилину, частота дихання за хвилину, гематокрит, лейкоцитоз і шкала

ком Глазго [8, 10]. Також хворим вираховувався лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) за формулою Я. Я. Кальф-Каліфа [4, 5, 6].

Наслідок перебігу гнійного розлитого перитоніту оцінювався за госпітальною летальністю. З 52 досліджуваних хворих 34 виписані з одужанням, а 18 хворих померли.

Визначення чутливості і специфічності вихідного рівня показників ЛАЛ-тесту, ЛІІ і шкали АРАСНЕ II в оцінці ризику госпітальної летальності проводилося за допомогою ROC-аналізу (Receiver Operating Characteristic analysis).

Порівняння середніх показників у хворих, які одужали, і які померли, та між групами хворих проводилося з використанням U-тесту Манна-Уїтні, оскільки розподіл показників у вибірках не був наближений до нормального.

Крім того, підраховували коефіцієнти рангової кореляції Спірмена (r) між показниками ЛАЛ-тесту, ЛІІ і шкали АРАСНЕ II, а також кореляційні зв'язки між цими показниками і наслідком захворювання.

У виділених групах хворих було визначено середнє значення показників з 95 % довірчим інтервалом. Статистична значимість відмінностей між

порівнюваними величинами оцінювалась зі значенням $p \leq 0,05$. Статистична обробка отриманих даних проводилася за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel (Windows XP) і програми MedCalc for Windows (версія 11.4.2).

Результати досліджень та їх обговорення.

Результати діагностичної значимості щодо госпітальної летальності вихідного рівня показників ЛАЛ-тесту, за даними ROC-аналізу, представлені у вигляді ROC-кривої на рисунку 1.

Результати діагностичної значимості щодо госпітальної летальності вихідного рівня ЛІІ порівняно з бальною оцінкою за шкалою АРАСНЕ II за допомогою ROC-аналізу представлені у вигляді ROC-кривих на рисунку 2.

Для порівняння середні значення показників ЛАЛ-тесту, ЛІІ і шкали АРАСНЕ II в пацієнтів, які одужали, і які померли, показники U-тесту Манна-Уїтні між хворими, які одужали, і які померли, коефіцієнти рангової кореляції Спірмена (r) між показниками ЛАЛ-тесту, ЛІІ, шкали АРАСНЕ II і наслідком захворювання на 1-шу добу післяопераційного періоду подано в таблиці 1.

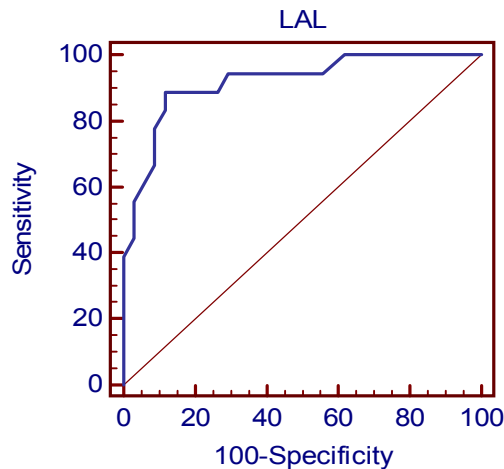


Рис. 1. ROC-аналіз показників ЛАЛ-тесту ($n=52$). Площа під ROC-кривою становить 0,91. 95 % довірчий інтервал – 0,809–0,977.

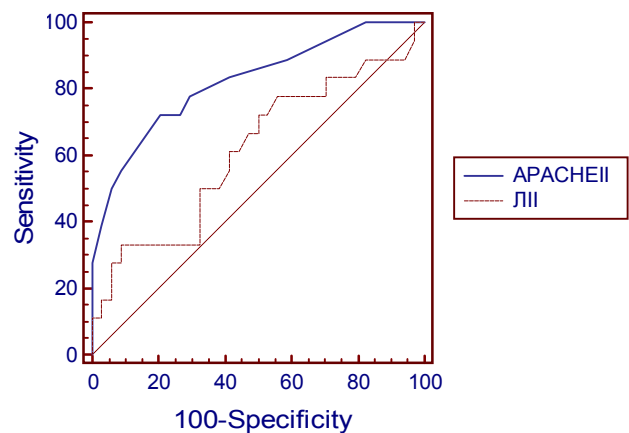


Рис. 2. ROC-аналіз показників ЛІІ і шкали АРАСНЕ II ($n=52$). Площа під ROC-кривою для ЛІІ 0,614, для шкали АРАСНЕ II 0,824. 95 % довірчий інтервал – 0,46–0,74 і 0,69–0,91 відповідно.

Таблиця 1. Середні значення ЛАЛ-тесту, ЛІІ і шкали АРАСНЕ II в пацієнтів, які одужали, і які померли, показники U-тесту Манна-Уїтні, коефіцієнти рангової кореляції Спірмена (R) на 1-шу добу післяопераційного періоду ($n=52$)

Показники	Одужали ($n=34$) $M \pm m$	Померли ($n=18$) $M \pm m$	U-тест Манна-Уїтні	R – Спірмена ($n=52$)
ЛАЛ-тест	$4,25 \pm 0,55$	$13,85 \pm 1,72$	($p < 0,0001$)	$r = 0,69$ ($p < 0,0001$)
ЛІІ	$4,06 \pm 0,37$	$5,11 \pm 0,64$	($p > 0,05$)	$r = 0,19$ ($p = 0,1838$)
АРАСНЕ II	$3,76 \pm 0,43$	$8,27 \pm 0,95$	($p = 0,0001$)	$r = 0,54$ ($p < 0,0001$)

Примітка. * – середнє значення.

Рівень показників ЛАЛ-тесту і ЛПІ залежно від тяжкості стану хворих за шкалою АРАСНЕ II на 1-шу добу післяопераційного періоду подано в таблиці 2.

Середні показники ендogenous інтоксикації і тяжкості стану хворих за даними ЛАЛ-тесту, ЛПІ і баль-

ної оцінки тяжкості хворих за шкалою АРАСНЕ II у групах хворих на 1-шу добу післяопераційного періоду подано в таблиці 3.

Результати діагностичної значимості вихідного рівня показників ЛАЛ-тесту на 1-шу добу післяопераційного періоду, за даними ROC-аналізу, пока-

Таблиця 2. Рівень показників ЛАЛ-тесту і ЛПІ залежно від тяжкості стану хворих за шкалою АРАСНЕ II (n=52)

№ групи	Бал	Госпітальна летальність		ЛАЛ-тест (ЕО/мл)	ЛПІ (ум.од.)	Кількість пацієнтів
		абс.	%	М*±m	М*±m	
1	0 – 3	3	13,04	3,20±0,61	3,15±0,33	23
2	4 – 6	2	22,22	6,85±1,10	5,70±0,80	9
3	7 – 9	6	50	8,95±1,18	5,61±0,76	12
4	10 – 12	4	80	15,03±2,08	5,07±1,49	5
5	13 і більше	3	100	25,4±4,0	4,55±0,48	3

Примітка. * – середнє значення.

Таблиця 3. Показники ЛАЛ-тесту і шкали АРАСНЕ II у групах хворих

Групи хворих	Показники ЛАЛ-тесту (ЕО/мл) (М*±m)	Показники ЛПІ (ум.од.) М±m	Показники АРАСНЕ II (бали) М±m	Летальність	
				абс.	%
1-ша група (n=26)	3,68±0,72	4,01±0,47	2,84±0,48	5	19,23
2-га група (n=16)	8,36±0,78	4,74±0,53	6,25±0,55	7	43,75
3-тя група (n=10)	16,45±2,71	5,0±0,89	10,30±0,96	6	60

Примітка. * – середнє значення.

зують високі значення його чутливості і специфічності для прогнозу госпітальної летальності у хворих із розлитим гнійним перитонітом. Площа під ROC-кривою становить 0,91 (див. рис. 1). Інтегральна система оцінки АРАСНЕ II вихідного стану хворих на 1-шу добу післяопераційного періоду, за даними ROC-аналізу, показує її високу чутливість і специфічність в прогнозі госпітальної летальності. Площа під ROC-кривою становить 0,824 (див. рис. 2). Різниця між ROC-кривими статистично не значима ($p>0,05$). Порівняння середніх показників ЛАЛ-тесту, середніх балів за шкалою АРАСНЕ II у хворих, які одужали, і які померли, згідно з U-тестом Манна-Уїтні показують достовірну статистичну різницю: $U_{ЛАЛ} = 49,50$ ($p<0,0001$), $U_{АРАСНЕII} = 108$ ($p=0,0001$) (див. табл. 1).

Коефіцієнти рангової кореляції Спірмена (r) між показниками ЛАЛ-тесту, балами за шкалою АРАСНЕ II і наслідком захворювання вказують на сильний кореляційний зв'язок між цими показниками $R_{ЛАЛ} = 0,69$ ($p<0,0001$), $R_{АРАСНЕII} = 0,54$ ($p<0,0001$) (див. табл. 1). Також виявлені сильні кореляційні зв'язки $r=0,86$ ($p<0,0001$) між показниками ЛАЛ-тесту і бальною оцінкою за шкалою АРАСНЕ II (див. табл. 2).

Разом з тим, результати діагностичної значимості вихідного рівня ЛПІ на 1-шу добу післяопераційного

періоду, за даними ROC-аналізу, показують низькі значення їх чутливості і специфічності для прогнозу госпітальної летальності у хворих із розлитим гнійним перитонітом. Площа під ROC-кривою становить 0,614 (див. рис. 2). Порівняння показників ЛПІ у хворих, які одужали, і які померли, згідно з U-тестом Манна-Уїтні не показують статистично достовірної різниці: $U_{ЛПІ} = 236,5$ ($p>0,05$) (див. табл. 1).

Коефіцієнти рангової кореляції Спірмена (R) між показниками ЛПІ і наслідком захворювання вказують на слабкий кореляційний зв'язок між цими показниками: $R_{ЛПІ} = 0,187$ ($p>0,05$) (див. табл. 1).

За даними таблиці 2, бачимо чітке зростання госпітальної летальності при збільшенні кількості балів за шкалою АРАСНЕ II у пацієнтів із розповсюдженим гнійним перитонітом. Також зі збільшенням кількості балів за шкалою АРАСНЕ II, з високою статистичною достовірністю зростають показники ЛАЛ-тесту, що свідчить про його високу діагностичну цінність у прогнозі перебігу РГП та в оцінці тяжкості стану хворого. Разом з тим ЛПІ не є достатньо інформативним у діагностиці синдрому ендogenous інтоксикації у хворих із РГП.

Також виявлена статистично достовірна різниця ($p<0,005$) між показниками ЛАЛ-тесту і показниками шкали АРАСНЕ II між 1-ю, 2-ю і 3-ю група-

ми хворих. Летальність в 1-й групі склала 19,23 %, в 2-й – 43,75 %, в 3-й – 60 %. Між показниками ЛШ у групах хворих не виявлено статистично достовірної різниці ($p > 0,05$).

Висновки. Підсумовуючи результати дослідження, можна стверджувати, що дані вихідного рівня специфічного кількісного ЛАЛ-тесту мають високу прогностичну значимість і можуть слугу-

вати надійним діагностичним маркером в оцінці тяжкості та прогнозі госпітальної летальності у хворих із розповсюдженим гнійним перитонітом.

Перспективи подальших досліджень. Проводячи моніторинг ЕІ шляхом ЛАЛ-тесту в перспективі планується дослідити ефективність різних методик оперативного і консервативного лікування хворих із РГП.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Борисов Д. Б. Диагностическая значимость неспецифических маркеров эндотоксикоза при распространенном гнойном перитоните / Д. Б. Борисов, Э. В. Надашковский // Экология человека. – 2005. – № 6. – С. 30–32.
2. Борисов Д. Б. Оценка тяжести и интенсивная терапия распространенного перитонита / Д. Б. Борисов, Э. В. Надашковский // Вестник интенсивной терапии. – 2005. – № 1. – С. 5–10.
3. Василюк М. Д. Эндотоксикоз у хворих з перитонітом і прогнозування його перебігу / М. Д. Василюк, В. О. Кавин // Галицький лікарський вісник. – 2004. – Т. 11, № 4. – С. 104–107.
4. Сипливый В. А. Использование лейкоцитарных индексов для прогнозирования исхода перитонита / В. А. Сипливый, Е. В. Конь, Д. В. Евтушенко // Клінічна хірургія. – 2009. – № 9. – С. 21–26.
5. Лабораторная диагностика эндогенной интоксикации в клинической практике : учебное пособие / [Иванов В. Г., Васильева Т. Н., Шараев П. Н. и др.] ; под ред. В. В. Поздеева. – Ижевск : Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию ГОУ ВПО, 2006. – 36 с.
6. Некоторые данные о показателях нормы лейкоцитарного индекса интоксикации / В. К. Островский, Р. Р. Алимов, А. В. Мищенко [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – № 1. – С. 45–46.
7. Римаренко Н. В. Рівень ендотоксину кишкового походження в сироватці крові при бактеріальних ангінах, скарлатині і гнійних менінгітах у дітей / Н. В. Римаренко // Клінічна педіатрія. – 2011. – № 1 (29). – С. 90–93.
8. Хирургический сепсис. Критерии диагностики / С. Д. Шаповал, Б. М. Даценко, В. Б. Мартынюк [и др.] // Клінічна хірургія. – 2007. – № 7. – С. 34–37.
9. Яковлев М. Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека / М. Ю. Яковлев // Физиология человека. – 2003. – Т. 29, № 4. – С. 154–165.
10. Beck D. H. The impact of low-risk intensive care unit admissions on mortality probabilities by SAPS II, APACHE II and APACHE III / D. H. Beck, G. B. Smith, B. L. Taylor // Anaesthesia. – 2002. – № 57(1). – P. 21–26.

Отримано 30.06.11