

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Результати проведеного дослідження підтверджують можливість і доцільність виконання лапароскопічних втручань з приводу холецистохоледохолітіазу з допомогою запропонованого методу дозованого ліфт-асистованого карбоксиперитонеуму (4-6 мм рт. ст.).

2. Створена нова модель пристрою для лапароліфтингу забезпечує герметичність черевної порожнини і в комбінації з дозованим введенням вуглекислого газу

може бути використана у клінічній практиці, зокрема у пацієнтів з наявністю протипоказів до оперативних втручань в умовах напруженого карбоксиперитонеуму, а також при тривалих оперативних втручаннях (1,5-3 години) з метою мінімізації негативних ефектів НКП та забезпечення щадної дії по відношенню до м'яких тканин передньої черевної стінки.

Актуальними є подальші дослідження щодо можливостей розширення переліку лапароскопічних хірургічних втручань з використанням запропонованого методу.

Список літератури

- Видеоэндоскопическая диагностика и минимально инвазивная хирургия холелитиаза: монография / [Ничитайло М. Е., Грубник В. В., Лурия И. А. и др.]. - К.: Медицина, 2013. - 295 с.
- Четвериков С. Г. Травматичність лапароскопічного доступу в хірургії жовчнокам'яної хвороби / С. Г. Четвериков, М. Р. Баязитов, О. О. Олійник / Шпитальна хірургія. - 2010. - № 3. - С. 51-52.
- Эндоскопическая хирургия желчекаменной болезни / [Гарелик П. В., Жандаров К. Н., Мармыш Г. Г., Данилов М. В.]. - М.: Бином, 2010. - 472 с.
- Abdominal wall-lifting versus CO₂ pneumoperitoneum in laparoscopy: a review and meta-analysis / H. Ren, Y. Tong, X.B. Ding [et al.] // International J. of Clinical and Experimental Medicine. - 2014. - № 7. - P. 1558-1568.
- Laparoscopic splenectomy using pneumoperitoneum or gasless abdominal wall lifting: a 15-year single institution experience / M. Hyodo, N. Sata, M. Koizumi [et al.] // Asian J. Endosc. Surg. - 2012. - № 5 (2). - P. 63-68.

Ярмак О.А.

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИХ ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МЕТОДОВ СОЗДАНИЯ РАБОЧЕГО ПРОСТРАНСТВА

Резюме. В исследовании проведена оценка стрессорного и травмирующего воздействия предложенного способа создания рабочего пространства при лапароскопических оперативных вмешательствах на организм больного по сравнению с действием стандартного напряженного карбоксиперитонеума (10-12 мм рт. ст.). Периперационные уровни кортизола, IL-6 и TNF-α в группе сравнения были достоверно выше, чем в основной группе, что указывает на невысокую степень стрессорного ответа в группе применения дозированного (4-6 мм рт. ст.) лифт-асистированного карбоксиперитонеума. Использование предложенного метода уменьшает степень послеоперационного болевого синдрома, в частности плече-лопаточного синдрома, характерного для лапароскопических вмешательств с созданием напряженного карбоксиперитонеума.

Ключевые слова: напряженный карбоксиперитонеум, внутрибрюшное давление, лапароліфтинг, болевой синдром.

Iarmak O.A.

THE PATHOPHYSIOLOGICAL EFFECTS OF LAPAROSCOPIC SURGERY DEPENDING ON THE METHOD OF CREATING THE WORKSPACE

Summary. The study evaluated the stress and traumatic impact of the proposed method of creating the workspace on the patient's organism in laparoscopic surgeries as compared with the action of the standard tensed carboxyperitoneum (10-12 mm. Hg). Perioperative levels of plasma cortisol, IL-6 and TNF-α in the control group were significantly higher than in the main group, this indicates a low degree of stress response in the group of dosed (4-6 mm. Hg) lift-assisted carboxyperitoneum. Usage of the proposed method reduces the degree of postoperative pain, especially shoulder-bladebone syndrome, typical for the laparoscopic procedures with the establishment of a tensed carboxyperitoneum.

Key words: tensed carboxyperitoneum, intraabdominal pressure, laparolifting, pain syndrom.

Рецензент - К.М.Н., доц. Превар А.П.

Стаття надійшла до редакції 03.06.2015 р.

Ярмак Олег Анатолійович - аспірант кафедри хірургії № 2 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 063 460-45-38; ole_jik@i.ua

© Саволук С.І., Гудзь М.А., Вовчук І.М.

УДК: 616.155:616.346.2 - 002

Саволук С.І., Гудзь М.А., Вовчук І.М.

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

СТАДІЇ ІМУННОГО ДИСТРЕС-СИНДРОМУ ПРИ ВИБОРІ ТАКТИКИ ХІРУРГІЧНОГО ЛІКУВАННЯ РОЗПОВСЮДЖЕНОГО ГНІЙНОГО ПЕРИТОНІТУ

Резюме. Проведено вивчення стадій імунного дистрес-синдрому на основі дослідження динаміки цитокінового профілю у 102 хворих на розповсюджений гнійний перитоніт. Під час дослідження виявлено зв'язок між фазами розвитку перитоніту

та стадіями імунного дистрес-синдрому. Визначено фактори ризику при виборі режиму повторних санацій черевної порожнини та предиктори ускладнень у післяопераційному періоді.

Ключові слова: розповсюджений гнійний перитоніт, імунний дистрес-синдром, релапаротомія.

Вступ

Діагностика та оперативне лікування розповсюдженого гнійного перитоніту (РГП) в абдомінальній хірургії є одним з найбільш складних та далеких від остаточного вирішення завдань.

В основі механізму розвитку РГП лежить неконтрольований викид медіаторів з подальшим розвитком запалення і системних порушень в органах, віддалених від первинного вогнища [Андрющенко, 2013].

Ключові фактори, які відіграють істотну роль у цих ускладненнях - внутрішньоклітинна і тканинна гіпоксія, внутрішньоклітинний гіперметаболізм, гіперактивація імунної системи, адгезія нейтрофілів до ендотелію, дисфункція ендотелію, реперфузійні ушкодження з подальшим розвитком каскадних реакцій гострої фази запалення.

Поліорганна недостатність (ПОН) при сепсисі розвивається у 40-70% хворих із 100% летальністю при не ефективному лікуванні. Це визначає високу актуальність даної проблеми і концентрацію зусиль дослідників при вивченні патофізіологічних механізмів розвитку РГП та ПОН у післяопераційному періоді з розробкою патогенетично обґрунтованих методів їх комплексної профілактики та лікування.

Важливими ланками імунорегуляції є зміни цитокінового профілю. Дезорганізація лімфоцитарно-макрофагальної ланки гомеостазу у хворих з РГП характеризується не тільки лейкоцитозом з активацією нейтрофілів і макрофагів, але і призводить до розвитку імунопатологічних реакцій внаслідок стимуляції фагоцитозу, системи комплементу, гіперпродукції імунних комплексів, ендотоксинів з наступним розвитком органних ушкоджень. У розвитку ПОН виділяють три основні фази: 1) індукційну, результатом якої є синтез ряду гуморальних факторів, що запускають реакцію системної запальної відповіді; 2) каскадну, яка супроводжується розвитком гострого легеневого ушкодження, активізацією калікреїн-кінінової системи, системи арахідонової кислоти, системи згортання крові та ін.; 3) фазу вторинної аутоагресії з гранично вираженою органною дисфункцією і стабільним гіперметаболізмом, коли організм втрачає здатність до самостійної регуляції гомеостазу [Pierrakos, 2010; Ruttinger, 2012].

Гострофазова реакція у хворих з гнійно-септичними процесами черевної порожнини обумовлена прозапальними медіаторами (цитокіни, ейкозаноїди, оксид азоту, фактор активуючий тромбоцити, фібрoneктин, кисневі радикали) і контролюється їх ендогенними антагоністами (ІЛ-4, ІЛ-10 та ін.), за рахунок балансу між цитокінами (фактор некрозу пухлини α , ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-8 та ін.).

У випадках, коли регулюючі системи нездатні підтримувати гомеостаз, починають переважати деструктивні ефекти цитокінів та інших медіаторів запалення, що веде до порушення проникності і дисфункції ендоте-

лію, формування віддалених вогнищ системного запалення, розвитку шоку і ПОН.

Проведені в останні роки дослідження свідчать про те, що розвиток шоку у хворих з РГП пов'язаний з системними ефектами прозапальних цитокінів, які виробляються активованими лейкоцитами й ендотеліальними клітинами (ендотоксин, фактор некрозу пухлини- α , ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6) та наступними механізмами: зниженням периферичного судинного тону; розвитком ранньої міокардіальної дисфункції і зниженням об'єму циркулюючої крові внаслідок підвищення судинної проникності і секвстрації рідини в мікроциркуляторному руслі.

У системних проявах РГП задіяна значна кількість медіаторних систем, які можуть бути використані в якості діагностичних предикторів на етапі передопераційної підготовки для визначення її тривалості та вибору методів хірургічного впливу та технологій післяопераційного супроводу та методів еферентної детоксикації, встановлення показів до вимушених та планових санацій черевної порожнини з оцінкою ефективності всіх періопераційних заходів [Дикий, 2007; Бойко, 2011; Ruttinger, 2012].

Мета дослідження - визначення стадій імунного дистрес-синдрому у хворих на розповсюджений гнійний перитоніт шляхом оцінки динаміки змін цитокінового профілю.

Матеріали та методи

Проаналізовано результати лікування 102 хворих з гострими хірургічними захворюваннями, перебіг яких ускладнився розвитком розповсюдженого гнійного перитоніту, що знаходилися на лікуванні в ургентній клініці кафедри хірургії № 2 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова протягом 2012 - 2014 рр.

Найчастіше РГП зустрічався як ускладнення гострого деструктивного апендициту - 21 хворих (17,6%), перфоративної виразки шлунку та дванадцятипалої кишки - 17 хворих (16,7%), гострої кишкової непрохідності - 14 хворих (13,7%), деструктивного холециститу - 14 хворих (11,7%), інфікованого некротичного панкреатиту - 7 хворих (6,8%), гінекологічних захворювань - 7 хворих (6,8%), травматичних пошкоджень порожнистих органів - 7 хворих (6,8%), перфорації пухлин товстої кишки - 6 хворих (5,8%), защемлених гриж - 5 хворих (4,9%), неспроможності міжкишкових анастомозів - 5 хворих (4,9%), перфорації тонкої і товстої кишки - 4 хворих (3,9%).

Середній вік хворих становив $49,65 \pm 3,99$ років, серед яких чоловіків - 54 (52,9%), жінок - 48 (47,1%) ($p > 0,05$) осіб.

Розподіл хворих залежно від терміну госпіталізації та фази перитоніту продемонстрував, що до 24 годин

(реактивна фаза РГП) було госпіталізовано 21 (20,6%) хворого; у термін від 24 до 48 годин (токсична фаза РГП) - 46 (42,1%) хворих, від 48 до 72 годин (термінальна фаза РГП) госпіталізовано 26 (25,5%) хворих, з терміном більше ніж 72 години - 9 (12,8%) хворих.

Важкість стану хворих була оцінена за Мангеймським індексом перитоніту, при цьому I ступінь важкості встановлена 21 (20,6%) хворому, середній бал склав $10,94 \pm 0,74$; II ступінь важкості встановлена 72 (70,6%) хворим, середній бал - $25,13 \pm 0,58$; III ступінь важкості встановлений 9 (8,8%) хворим, середній бал склав $34,8 \pm 0,87$.

Комплекс обстеження включав: динамічну оцінку тяжкості фізичного стану за шкалою APACHE II перед операцією і на 3-5 добу після операції; контроль загально-клінічних та біохімічних показників ендогенної інтоксикації (визначали лейкоцитоз, ЛП, вміст загального білку сироватки крові, креатиніну та сечовини, ШОЕ, МСМ) та клініко-функціональних параметрів, необхідних для спостереження за хворими з тяжкою інтраабдомінальною інфекцією; мікробіологічне дослідження. Цитокіновий профіль оцінювався за концентрацією ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-4 і ІЛ-6 у сироватці крові пацієнтів, що визначалась методом імуноферментного аналізу із застосуванням імуноферментних тест-систем на 1-3, 5 і 9 добу післяопераційного періоду.

Інструментальні методи дослідження: рентгенологічний метод, ультрасонографічний метод; метод комп'ютерної томографії посиленої контрастування; ендоскопічні методи (фіброгастроудоденоскопія, колоноскопія). Комплекс лікувальних заходів включав у себе інтенсивну передопераційну підготовку, проведення первинного оперативного втручання з ліквідацією причини перитоніту, санацію черевної порожнини розчинами антисептиків та дренування черевної порожнини за прийнятною схемою розташування дренажів. У післяопераційному періоді хворим проводилась раціональна антибактеріальна терапія комплексом антибіотиків широкого спектру дії за деескалаційним та ескалаційним режимами, корекція водно-електролітного обміну, ліквідація синдромів інтраабдомінальної гіпертензії та ентєральної недостатності, системного запалення, ендогенної інтоксикації та органної дисфункції. У всіх хворих оцінювали розвиток гнійно-септичних ускладнень, наявність і стадію імунного дистрес-синдрому. Стадію імунного дистрес-синдрому у хворих з РГП визначали шляхом імуноферментного аналізу стандартними наборами патентованих реактивів концентрації інтерлейкінів (ІЛ) ІЛ-1 (за норму приймають $28,7 \pm 1,38$ пг/мл), ІЛ-2 (за норму приймають $1,46 \pm 0,04$ пг/мл), ІЛ-4 (за норму приймають $2,3 \pm 1,42$ пг/мл), ІЛ-6 (за норму приймають $5,4 \pm 0,75$ пг/мл): при статистично достовірній зміні ($p < 0,05$) всіх чотирьох маркерів діагностують стадію імунної ініціації; при підвищенні ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6 та зниженні ІЛ-4 діагностують стадію імунного токсикозу; при підвищенні ІЛ-1, ІЛ-2 та зниженні ІЛ-4, ІЛ-6 діагностують стадію імунного дефекту; при підвищенні ІЛ-1 та зниженні ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6 діагностують стадію імунного паралічу.

Аналіз отриманих даних проводили з використанням пакету програм статистичного аналізу SPSS 13. Порівняння середніх величин проводили з використанням параметричних і непараметричних методів.

Результати. Обговорення

Незважаючи на проведення лікування у 41 хворого виконано повторні санаційні оперативні втручання. Показами до проведення повторних втручань стали: відсутність ліквідації причини перитоніту, прогресування перитоніту, абсцеси черевної порожнини різних локалізацій, рання спайкова кишкова непрохідність. Повторні оперативні втручання проводились у 2 режимах: "за вимогою" - при прогресуванні ЗГП, та в "програмованому" режимі - через 48-72 години від виконання первинного оперативного втручання. В першому випадку було виконано 28 релапаротомій (9 - у хворих з токсичною стадією перитоніту, 19 - з термінальною), у програмованому режимі - 13 релапаротомій (5 хворих мали токсичну стадію перитоніту, 8 - термінальну).

Нами досліджувався стан імунно-цитокінового профілю до і після проведення повторного оперативного втручання. Аналіз дослідження показав, що до операції у 6 хворих з токсичною стадією перитоніту спостерігалась стадія імунного паралічу (спостерігалось підвищення ІЛ-1 та зниження ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6), у 8 стадія імунного токсикозу (підвищення ІЛ-1, ІЛ-2, ІЛ-6 та зниження ІЛ-4). При дослідженні лабораторно-імунологічних показників після проведення релапаротомії у досліджуваних хворих з токсичною стадією перитонітом виявлено посилення імунodefіцитного стану. У пацієнтів відзначалися: відносна і абсолютна лімфоцитопенія, зниження відносної і абсолютної кількості Т-лімфоцитів, спостерігалось підвищення ІЛ-1 та зниження ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6 (табл. 1). Дані особливості можливо пов'язані з тривалістю оперативного втручання та важкістю операційної

Таблиця 1. Зміни імунного статусу при токсичній стадії перитоніту.

Цитокіни	До релапаротомії	1 доба	3 доба	5 доба
ІЛ-1	$49,5 \pm 3,7$	$69,8 \pm 4,05$	$77,2 \pm 5,5$	$83,6 \pm 5,9$
ІЛ-2	$13,1 \pm 0,61$	$5,9 \pm 0,22$	$3,6 \pm 0,25$	$10,4 \pm 0,49$
ІЛ-4	$6,2 \pm 1,19$	$4,7 \pm 0,68$	$4,1 \pm 0,65$	$2,4 \pm 0,98$
ІЛ-6	$8,4 \pm 0,82$	$4,3 \pm 0,70$	$6,7 \pm 0,79$	$9,5 \pm 0,71$

Примітка. $p < 0,05$.

Таблиця 2. Зміни імунного статусу при термінальній стадії перитоніту.

Цитокіни	До релапаротомії	1 доба	Здоба	5 доба
ІЛ-1	$67,5 \pm 4,7$	$89,2 \pm 5,8$	$101,5 \pm 6,2$	$111,7 \pm 6,36$
ІЛ-2	$17,3 \pm 1,23$	$13,1 \pm 1,17$	$11,3 \pm 0,92$	$19,7 \pm 1,5$
ІЛ-4	$9,1 \pm 1,03$	$7,7 \pm 0,82$	$6,2 \pm 0,78$	$5,2 \pm 0,55$
ІЛ-6	$5,1 \pm 0,6$	$4,2 \pm 0,71$	$3,5 \pm 0,52$	$6,1 \pm 0,87$

Примітка. $p < 0,05$.

травми. Зворотний розвиток імунних змін настав чез в середньому 1,78 діб.

У хворих з термінальною фазою перитоніту у всіх хворих діагностовано стадію імунопаралічу в передопераційному періоді (спостерігалось підвищення ІЛ-1, та зниження ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6) (табл. 2). У хворих цієї групи показники ендоегенної інтоксикації та імунodefіциту були високими до початку лікування і поступово погіршувались з прогресуванням хвороби та збільшенням кількості санацій, незалежно від обраного режиму проведення оперативних втручань. Зворотний розвиток імунних змін починався в середньому через 3,81 діб.

Летальність серед хворих з токсичною фазою перитоніту становила 3 хворих (6,52%), у групі хворих з термінальною стадією перитоніту летальність становила 13 хворих (35,1%), всі померлі хворі відносились до II-III групи за Мангеймським індексом та мали важку супутню патологію. Загальна летальність становила 15,6%.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Визначення стадій імунного дистрес-синдрому є важливим у визначенні лікувальної тактики у хворих із

розповсюдженим гнійним перитонітом.

2. Виконання релапаротомії у хворих на розповсюджений гнійний перитоніт тимчасово посилює стан імуносупресії внаслідок операційної травми.

3. Враховуючи посилення імуносупресії внаслідок повторної санації черевної порожнини у хворих з токсичною стадією перитоніту рекомендованим режимом є "за вимогою" при наявних абсолютних показках до релапаротомії.

4. Термінальна стадія перитоніту характеризується парезом імунної відповіді; проведення повторних оперативних втручань не спричиняє зворотного розвитку імунного дистрес-синдрому.

Подальші дослідження будуть спрямовані на оцінку ступеня підпорядкованості змін функціональної активності перитонеальних макрофагів залежно від стадії імунного дистрес-синдрому, стадії перитоніту, наявності ступеня гіпоксії та на розробку методів її медикamentозної корекції на основі внутрішньоочеревинного способу введення збагачених ліпосом та визначення оптимальних схем використання закритих та відкритих технологій ведення із зазначенням термінів здійснення повторної очеревиної санації.

Список літератури

- Андрющенко В. П. Релапаротомія у невідкладній абдомінальній хірургії / В. П. Андрющенко, С. Т. Федоренко, О. М. Дворчин // Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2013. - Т. 13, Вип. 1 (41). - С. 38-40.
- Бойко В. В., Логачов В.К., Тимченко М.Є. Проблема прогнозу ускладнень в лікуванні хворих на розповсюджений перитоніт / В. В. Бойко, В. К. Логачов, М. Є. Тимченко // Сучасні медичні технології. - 2011. - № 3-4. - С. 44-47.
- Вимушені та етапні втручання в абдо- мінальній хірургії / О. Г. Дикий, В. Т. Поліщук, П. В. Приор [та ін.] // Клінічна хірургія. - 2007. - № 5-6. - С. 68-69.
- Оцінка та прогнозування ступеня тяжкості перебігу раннього післяопераційного періоду у хворих на гострі хірургічні захворювання черевної порожнини, ускладнені перитонітом / В. П. Польовий, Р. І. Сидорчук, С. М. Вознюк, А. С. Паляниця // Український Журнал Хірургії. - 2013. - № 2 (21). - С. 80-84.
- secondary peritonitis: the impact of the number of surgical revisions and of the duration of surgical therapy / D. Ruttinger, D. Kuppinger, M. Holzhammer [et al.] // Am. J. Surg. - 2012. - № 204 (1). - P. 28-36.
- Pierrakos C. Sepsis biomarkers: a review / C. Pierrakos, J. L. Vincent // Crit. Care. - 2010. - № 14 (1). - P. 15.
- Regner J. L. Surgical strategies for management of the open abdomen / J. L. Regner, L. Kobayashi, R. Coimbra // World J. Surg. - 2012. - № 36 (3). - P. 497-510.
- Acute prognosis of critically ill patients with

Саволук С.І., Гудзь М.А., Вовчук І.Н.

СТАДИИ ИММУННОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА ПРИ ВЫБОРЕ ТАКТИКИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕННОГО ГНОЙНОГО ПЕРИТОНИТА

Резюме. Проведено изучение стадий иммунного дистресс-синдрома на основе исследования динамики цитокинового профиля у 102 больных распространенным гнойным перитонитом. В ходе исследования выявлена связь между фазами развития перитонита и стадиями иммунного дистресс-синдрома. Определены факторы риска при выборе режима повторных санаций брюшной полости, и предикторы осложнений в послеоперационном периоде.

Ключевые слова: распространенный гнойный перитонит, иммунный дистресс-синдром, релапаротомия.

Savolyuk S.I., Gudzy M.A., Vovchuk I.M.

STAGE OF IMMUNE-DISTRESS SYNDROME IN CHOOSING SURGICAL TREATMENT OF GENERAL PURULENT PERITONITIS

Summary. The study of stages immune-distress syndrome done based on investigation of the dynamics of cytokine profile in 102 patients with general purulent peritonitis. During the investigation was found an association between the phases of peritonitis and stages of immune-distress syndrome. Risk factors in choose of mode of relaparotomy, and predictors of complications in the postoperative period were found.

Key words: general purulent peritonitis, immune-distress syndrome, relaparotomy.

Рецензент - д.мед.н., проф. Годлевський А.І.

Стаття надійшла до редакції 18.05.2015 р.

Саволук Сергій Іванович - д.мед.н., доц. кафедри хірургії № 2 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 0432 67-07-15, +38 067 989-42-83; savoluk@meta.ua

Гудзь Максим Анатолійович - асистент кафедри хірургії № 2 Вінницького національного медичного університету імені М.І.

Пирогова; +38 0432 67-07-15, +38 067 430-53-94; doc-gudz@inbox.ru

Вовчук Ігор Миколайович - к.мед.н., асистент кафедри хірургії № 2 Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 0432 67-07-15, +38 097 251-75-60; vovchukigor81@gmail.com

© Burlaka lev.A.

UDC: 616-01/-099:616-002.-616.6

Burlaka lev.A.

National O.O. Bogomolets Medical University, Department of Pediatrics № 4 (10, Tolstogo str., Kyiv, Ukraine, 01004)

APOPTOSIS-DEPENDENT DAMAGES IN CHILDREN WITH DIABETIC NEPHROPATHY

Summary. *Diabetic nephropathy is the leading cause of death in patients with diabetes mellitus type I (T1D). Formation of diabetic nephropathy depends on the quality of blood glucose level control an indicator of which is a level of glycosylated hemoglobin (HbA1c). The aim of the study was to investigate the level of metabolic-hypoxic disorders and the condition of apoptosis controlling system in diabetic nephropathy children. The study involved 34 children with type I diabetes and diabetic nephropathy (aged 6 to 17 years). The affinity of hemoglobin to oxygen determined by spectrophotometric method. The levels of the marker of cellular hypoxia HIF-1alfa, levels of the apoptotic factor caspase-3 have been studied by Western Blotting. In the group of children with newly diagnosed T1D an increased rate of dissociation of oxygen and hemoglobin compared to the control group was detected. Children with DN the levels of this index were significantly lower than the control group. We show stage-dependent manner in increase of the cellular hypoxia and apoptotic effector caspase-3 levels. Both markers were detected at significantly higher rate in DN patients as compared to T1D. Thus, the development of DN in children is associated with violation of Hb/oxygen dissociation, a sign of the high degree of the Hb glycosylation resulting to the formation of cellular hypoxia and activation of apoptosis, as one of the basic mechanisms of cell damage kidneys in DN.*

Key words: *diabetes mellitus, diabetic nephropathy, metabolic, cellular hypoxia, apoptosis.*

Introduction

Diabetes mellitus type I (T1D) nowadays is a major public health problem in the world. According to recent data, about 140 million people worldwide suffer from diabetes. The main complication of the T1D is a diabetis nephropathy (DN). The main biochemical disorder in diabetes and DN is hyperglycemia, causing a toxic effect of activating a chain of different intracellular enzymatic reactions, apoptosis, inflammation, oxidative stress. All these violations trigger activation of cytokines and growth factors that actively participate in the emergence and development of damage to target organs in diabetes [Atkins, Zimmet, 2010; Ready et al., 2011; American Diabetes Association Standarts, 2015].

Adequate control of blood glucose in patients with diabetes is a critical aspect of therapy. Glucose present in the blood in excessive concentrations can enzymatically bind to proteins such as hemoglobin in the glycosylation. The level of glycosylated hemoglobin formation depends on the concentration of glucose in the environment. People with high blood glucose levels will have higher levels of glycated hemoglobin. Non-enzymatic glycation that occurs as a result of spontaneous interaction between glucose and amino groups of proteins, leading to the formation of products of advanced glycation (AGA) [Rojas, Morales, 2004; Shapiro et al., 2004].

The classic view of diabetic nephropathy (DN) has focused on events leading to glomerular dysfunction, the gradual decline of renal function in later stages of DN is invariably associated with tubulointerstitial fibrosis and tubular atrophy. Indeed, tubulointerstitial fibrosis and tubular atrophy appear to be better predictors of late-stage renal disease progression than glomerular pathology. Nephrons from proteinuric

diabetic patients show that 71% of glomeruli display glomerulotubular junction abnormalities and 8-17% of glomeruli are atubular glomeruli [Vinod, 2012].

The mechanisms underlying tubular atrophy are incompletely understand. In vitro and in vivo studies have shown that high glucose (HG) concentrations are associated with increased reactive oxygen species (ROS) production, inflammation which inhibits proximal tubular function and induces apoptosis. Apoptosis has been detected in renal proximal tubular cells (RPTCs) of diabetic mice and rats [Reidy et al., 2011]. These processes in pediatric patients with T1D and DN are not fully studied.

Aim of the study - to study the levels of metabolic disorders which arise as a result of persistent HG and subsequent disorders in apoptosis controlling system in children with T1D and DN.

Materials and methods

A survey of 34 patients children with T1Ds (aged 6 to 17 years) who were hospitalized in the Endocrinology unit on Children's Clinical Hospital (Kyiv in 2014-2015) was done. Complex examination including conventional methods (inspection, monitoring blood pressure, blood tests, study of urinary sediment, renal ultrasound, etc.) were done to all patients. Other than conventional methods i.e. spectral analysis of the forms of hemoglobin, plasma levels of HIF-1alfa, Bax were done. The control group included 13 healthy children.

The affinity of hemoglobin for oxygen was determined using spectrophotometric metod. Hemolysis of red blood cells was performed by freezing/melting of blood samples. Electronic hemoglobin spectra were recorded using a