

## КЛІНІКО-ТЕОРЕТИЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ МЕТОДИЧНИХ АСПЕКТІВ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ

В. М. Демидов, С. М. Демидов

Одеський національний медичний університет, Кафедра загальної хірургії, м. Одеса, Україна

Автори описують методи ранньої діагностики гострого панкреатиту шляхом визначення концентрації у крові пацієнтів фактора некрозу пухлини, інтерлейкінів-1 та -6, трансформуючого фактору росту-1-бета та гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулюючого фактора, активності NO-синтази, а також визначення концентрації проти-запальних цитокінів у ексудаті бурси. Ефективність цих способів неспецифічної діагностики гострого панкреатиту полягає в ранньому (доклінічному) виявленні захворювання, можливості прогнозування ускладненого перебігу захворювання та скороченні термінів лікування.

**Ключові слова:** гострий панкреатит, рання діагностика, цитокіни, фактори росту, оксид азоту.

**Вступ.** Останніми роками неухильно збільшується кількість хворих із гострими запальними захворюваннями паренхіми підшлункової залози (ПЗ) [29, 31, 37]. Сучасна терапія вказаного контингенту хворих не завжди є задовільною, про що свідчать високі показники інфікування осередків некротичної деструкції в пацієнтів із ГП, подальше прогресування хвороби із розвитком панкреонекрозу та відповідні незадовільні показники наявності значної кількості гнійно-септичних ускладнень, високої летальності [17, 22]. Серед причин подібного становища слід виділити пізню та неадекватну діагностику самого захворювання та його ускладнень, а також невірний вибір консервативної та/або хірургічної тактики лікування [8, 14]. Захворювання частіше за все розвивається у осіб працездатного віку, з чого постає соціальна обумовленість проблеми розробки нових засобів та схем комплексного лікування вказаного контингенту хворих.

Поза нашою увагою був ще один аспект даної проблеми – діагностичний. Значні зу-

силля, безумовно, повинні бути спрямовані на пошук нових, якомога ранніх засобів діагностики гострого запального процесу в паренхімі ПЗ. Усе вище зазначене й обумовило основну мету клінічних спостережень.

Відштовхуючись від клінічних даних, значимо, що відомим є способи діагностики гострого панкреатиту (ГП), які базуються на визначенні морфологічного стану ПЗ за допомогою ультрасонографічного обстеження або комп'ютерної томографії органів черевної порожнини [15]. Але, проведення вказаного дослідження не дає можливості діагностики запального процесу у тканині ПЗ на доклінічному етапі, тобто до того моменту, коли вираженість запального процесу призводить до розвитку значних морфологічних змін у паренхімі ПЗ. Це постає важливим за умов гіперреактивності організму, коли за короткий термін розвиваються запально-некротичні процеси в паренхімі ПЗ.

Істотним недоліком ультразвукового дослідження є його низька чутливість Крім того, його дозвільна здатність досить низька (0,5–1 см). Застосування методу комп'ютерної томографії на сучасному етапі є досить дорогим, що також обмежує його впровадження в повсякденну практику лікарень.

Зараз частіше за все з діагностичною метою визначають рівні панкреатичних ферментів у сироватці крові хворих на ГП, що надходять туди за умов процесів протеолізу та аутолізу тканини ПЗ [6]. Ці методики передбачають визначення рівнів амілази, трипсину, еластази в сироватці крові пацієнтів і мають достатньо високу чутливість та специфічність. Однак, визначити підвищений рівень амілази та інших панкреатичних ферментів у сироватці крові також можливо лише в випадку, коли запальний процес призвів вже до досить значущих змін у тканині ПЗ. Усе це обумовило нас до пошуку більш досконалих методів діагностики ГП вже на доклінічному етапі.

З фундаментальної точки зору патогенез ГП є достатньо складним та багатогранним. У ньому виділяють низку каскадних патобіохімічних реакцій, внаслідок чого (за умов відсутності терапії, помилок у діагностиці чи блискавичного перебігу патологічного процесу) можливий процес повної деструкції паренхіми ПЗ.

Цікаво, що при ГП до патологічного процесу залучається імунна система через модуляцію активності системи цитокінів [21, 36]. Це підтверджується тим, що за умов експериментального панкреонекрозу показано зростання рівня одного з представників сімейства цитокінів – фактора некрозу пухлин-альфа (ФНП- $\alpha$ ) [2, 27]. Відомо також, що за умов відтворення ГП в сироватці крові щурів спостерігається зростання інтерлейкіну-1-бета (ІЛ-1 $\beta$ ) – іншого представника сімейства протизапальних цитокінів [12]. Беручи до уваги все вищевказане, а також різноманітність клінічних проявів ГП від розвитку ендотоксичних реакцій до виразних метаболічних порушень, та частий розвиток екстрапанкреатичних порушень, можна припустити, що в організмі хворих на ГП відбуваються значні гуморальні зміни [8, 15, 19, 24, 29, 34]. При цьому до патологічного процесу досить активно залучається імунна система, активність котрої сприяє розвитку ланцюгових процесів, з одного боку, – активації нейтрофільних лейкоцитів, збільшенню проникливості судинної стінки та зростанню рівня представників сімейства протизапальних цитокінів та, з іншого боку, – розвитку панкреатичних і системних уражень [8, 15, 19, 21, 34].

Крім цього, відомо, що перебіг ГП супроводжується активацією системи ендогенного NO. Окрім регуляції фізіологічних функцій організму – регуляції тону судин у якості адреноблокатора, гальмування агрегації тромбоцитів та їх адhezії на стінках судин, регуляції синаптичної передачі нервового імпульсу, активації та/або пригнічення активності багатьох білків та ферментів, та ін. [26] – відомою є роль NO в опосередкуванні гострих запальних реакцій [30]. Показано продукцію NO активованими макрофагами [28]. Доведено, що цитостатичні та цитотоксичні ефекти макрофагів за умов запалення здійснюються через NO – шляхом активації NO-синтази, котра перетворює аргінін у NO [9, 30]. Синтезований окис азоту за умов гострого запалення сприяє розвитку вазодилатації (частіше всього локальної), локальне ураження паренхіми органу, який підпадає під запалення, та його наступну ішемію [35]. Зазначені ефекти NO є також тими, що сприяють розвиткові

гострого запального ураження паренхіми ПЗ.

Протягом останнього десятиріччя в роботі ми намагаємось вирішити проблему підвищення ефективності лікування хворих на ГП через переважну розробку та використання нових інформативних засобів діагностики захворювання на ранньому етапі [1, 3, 10]. Іншим питанням, яке часто постає перед фахівцями, є спроби визначення перебігу захворювання, тобто, чи можливо при надходженні хворих на ГП до стаціонару визначитися з потенційною можливістю розвитку гнійно-септичних ускладнень захворювання. Отже, метою даної роботи є підсумовування нових методів комплексної діагностики ГП на ранньому етапі, а також розробка методів діагностики розвитку гнійно-септичних ускладнень захворювання з урахуванням неспецифічних змін в організмі хворих, пов'язаних переважно з активністю імунної системи.

**Матеріал та методи дослідження.** Клінічні спостереження були проведені серіями за 180 хворими (104 чоловіками та 76 жінками) у віці від 23 до 47 років, які проходили поточне обстеження в хірургічних відділеннях міських лікарень м. Одеси.

У 102 обстежених особливих скарг на момент надходження пацієнти не мали, однак в анамнезі визначалися періодичне здуття живота, порушення травлення, незначний біль у епігастрії. Об'єктивні дані: загальний стан хворих досить задовільний, шкіра та слизові бліді, за даними ультразвукового дослідження органів черевної порожнини патології не виявлено. Загальні клінічні та біохімічні дослідження під час обстеження – у межах вікової норми. 44 хворі надійшли до стаціонару з клініко-лабораторним симптомокомплексом, який дозволяв припускати розвиток ГП.

Остаточний діагноз ГП визначали після комплексного клініко-лабораторного обстеження хворих, аналізу даних ультразвукового дослідження органів черевної порожнини, ендоскопічної ретроградної холангіопанкреатографії, оглядової рентгенограми панкреатичної ділянки, показників біохімічного та загальноклінічного дослідження крові. Загальноприйнятими засобами в сироватці крові хворих визначали активність амілази, ліпази, трипсину та інгібітору трипсину. Хворим проводили ретельне фізикальне обстеження. Визначали інтенсивність болю, його локалізацію та тривалість. Ультразвукове дослідження (УЗД) органів черевної порожнини пацієнтів проводили за допомогою ультразвукової багатоцільової скануючої системи «Echovision SSD-250» («Аloka»). УЗД ми використовували

ли при больовому синдромі в епігастральній зоні, пальпаторному визначенні больових відчуттів в проекції залози або при необхідності визначення пухлиноподібного утворення.

Виділяли такі групи хворих: у пацієнтів 1-ї групи (n=36) в сироватці крові методом ензимзв'язаного імуносорбентного аналізу (ELISA-тест) з використанням вторинних видоспецифічних моноклональних антитіл з діагностичною метою визначали рівень фактора некрозу пухлини-альфа (ФНП- $\alpha$ ).

Пацієнтам 2-ї групи (n=42) в сироватці крові за допомогою методу ензимзв'язаного імуносорбентного аналізу з використанням вторинних видоспецифічних моноклональних антитіл при довжині хвилі 405 нм на автоматичному лічильному приладі (Immunosoft Software Package, США) визначали в сироватці крові вміст ФНП- $\alpha$ , інтерлейкіну-1-бета (ІЛ-1 $\beta$ ), ІЛ-6 та факторів росту – трансформуючого фактору росту-1-бета (ТФР-1 $\beta$ ) та гранулоцитарно-макрофагального колоністимулюючого фактору (ГМ-КСФ). Вміст цитокінів визначали двічі на тиждень впродовж 2 тижнів обстеження. Після ретроспективного аналізу ми виділяли такі терміни спостереження: за 14 діб до розвитку гострого панкреатиту (-14), за 10 діб (-10), за 7 діб (-7), за 3 доби до розвитку гострого панкреатиту (-3), безпосередній початок гострого панкреатиту (0), 7 доба (+7) після початку хвороби (день випису хворих зі стаціонару) та 30 доба (+30) після початку хвороби (контрольне обстеження).

У сироватці крові обстежених 3-ї групи (n=24) визначали активність ферменту NO-синтази. Визначення проводили калориметрично після реакції з реактивом Грейса, при довжині хвилі 540 нм [16].

У 38 пацієнтів 4-ї групи ГП мав деструктивний характер. У цих хворих під час виконання лапароскопічного втручання отримували запальний ексудат, який підлягав імунологічному дослідженню, впродовж якого з використанням вторинних видоспецифічних моноклональних антитіл на автоматичному лічильному приладі (Immunosoft Software Package, США) визначали вміст ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-6. Вміст цитокінів визначали двічі: протягом лапароскопічного втручання, а також через тиждень терапії.

У всіх групах обстежених хворих виділяли також контрольні групи по 10 пацієнтів у кожній (загалом – 40 пацієнтів).

Для лікування хворих із ГП хворим застосовували звичайну загальноприйнятую тактику консервативного лікування шляхом внутрішньовенного введення цитостатичних (5-фтор-

урацил, фторафур), антибактеріальних (антибіотики широкого спектра дії), дезагрегантних (фраксипарин – по 0,3–0,6 мл) та антиферментних (контрікал, тзалол і трасилол – по 60000–100000 ОД, пантрипін – по 50–120 ОД) препаратів. Додатково до цього хворим в/в вводили інгібітор пакрреатичної секреції та протеолізу сандостатин.

Отримані данні обраховували статистично.  $p < 0,05$  обирали критерієм вірогідності.

**Результати дослідження та їх обговорення.** 1. *Визначення концентрації ФНП- $\alpha$  в сироватці крові.* У сироватці крові осіб, які становили контрольну групу, вміст ФНП- $\alpha$  становив  $2,2 \pm 0,1$  пг/мл. У крові осіб основної групи з підозрою на ГП (у 31 особи, 86 %) було визначено значне зростання досліджуваного показника, який дорівнював у середньому  $48,8 \pm 2,4$  пг/мл, що майже в 22 рази перевищувало аналогічні дані в осіб контрольної групи ( $p < 0,001$ ). Це дозволяло припускати наявність у хворих латентного запалення ПЗ. Під час подальшого спостереження, у 34 пацієнтів (94 %) розвинулася клініка ГП, яка підтверджувалася швидкою динамікою клінічних симптомів захворювання, а також зростанням активності протеолітичних ферментів сироватки крові. Це було підтвердженням результатів дослідження визначення вмісту ФНП- $\alpha$ .

Хворим проведена відповідна медикаментозна патогенетична терапія. Усі вони одужали, виписані зі стаціонару на 6–9 добу в задовільному стані. Під час контрольного обстеження через 1 місяць – скарг немає.

2. *Визначення концентрації ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, ТФР-1 $\beta$  та ГМ-КСФ у сироватці крові.* У осіб, які звернулися до хірургічних клінік з метою обстеження (-14 доба спостереження) вміст у сироватці крові ФНП- $\alpha$  становив у середньому  $2,2 \pm 0,2$  пг/мл. Упродовж першого тижня спостереження концентрація цього цитокіну не відрізнялася суттєво від початкового рівня (табл. 1). Але вже за тиждень до початку захворювання (-7 доба спостереження) концентрація в сироватці крові досліджуваного цитокіну становила  $39,6 \pm 2,3$  пг/мл, що було в 18 разів більше тієї величини, що ми її отримали на -14 добу обстеження ( $p < 0,001$ ). За три доби до початку ГП (-3 доба) відмічали зростання сироваткового вмісту ФНП- $\alpha$  в 26 разів ( $p < 0,001$ ), а на початку захворювання (0, розвиток ГП) – в 44 рази ( $p < 0,001$ , табл. 1).

У день виписки хворих зі стаціонару після проведеного лікування (+7 доба) вміст ФНП- $\alpha$  в сироватці крові становив  $2,4 \pm 0,5$  пг/мл, що значно не відрізнялося від початкового рівня, що ми його зареєстрували на початку дослід-

**Зміна вмісту цитокінів у хворих на ГП впродовж їх завчасного обстеження та подальшого лікування**

	Вміст цитокінів в % відносно 14 доби до розвитку гострого панкреатиту, що було прийнято за 100%						
	-14, n=42	-10, n=42	-7, n=42	-3, n=42	0, розвиток гострого панкреатиту n=42	+7, n=42	+30, n=42
ФНП-α	100	99	1800***/103 (n=35/7)	2600***/101 (n=35/7)	4400***/102 (n=35/7)	109*	102
ІЛ-1β	100	103	101	98	107/97 (n=35/7)	99	96
ІЛ-6	100	102	99	100	164***/102 (n=35/7)	104	100
ТФР-1β	100	104	102	106	420***/99 (n=35/7)	103	99
ГМ- КСФ	100	98	96	104	560***/106 (n=35/7)	101	98

**Примітки:** \* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників відповідно тих, що були на – 14 добу спостереження та були прийняті за 100% (критерій Крушквал-Валісу); у випадку подання даних у вигляді дробу: у чисельнику – значення для тих осіб, у котрих розвинувся гострий панкреатит, у знаменнику – значення для тих осіб, у котрих гострий панкреатит не розвинувся; n – кількість осіб у групах спостереження. У випадку подання даних у вигляді дробу: у чисельнику – кількість осіб, у котрих розвинувся гострий панкреатит, у знаменнику – кількість осіб, у котрих гострий панкреатит не розвинувся.

ження. Контрольна перевірка, зроблена через місяць після виписки зі стаціонару (+30 доба) також не виявила значних змін у концентрації ФНП-α в сироватці крові осіб, які перенесли ГП.

Під час спостереження за зміною концентрації ІЛ-1β в сироватці крові осіб, які звернулися до хірургічних клінік для обстеження не було виявлено значних змін рівня вказаного цитокіну впродовж цілого періоду клінічного спостереження ( $p > 0,05$ ). На початок захворювання ГП вміст ІЛ-1β в сироватці крові становив  $3,7 \pm 0,4$  пг/мл, що було на 7 % більше тих даних, що ми їх зареєстрували за 14 днів до початку захворювання ( $p > 0,05$ , табл. 1).

На початку захворювання концентрація ІЛ-6 в сироватці крові хворих на ГП зросла на 64 % відносно аналогічних значень за 14 днів до початку захворювання (-14 доба;  $p < 0,001$ , табл. 1). Під час подальших досліджень вміст ІЛ-6 у сироватці крові хворих на ГП на момент виписки зі стаціонару, а також під час контрольного спостереження не відрізнявся суттєво від початкового рівня.

Під час визначення концентрації факторів росту – ТФР-1β та ГМ-КСФ – було встановлено, що вміст вказаних цитокінів у сироватці

крові значно зростав, відповідно, в 4,2 та 5,6 разів ( $p < 0,001$ ) порівняно з початковими рівнями, що ми їх зареєстрували на 14 добу до початку захворювання. Протягом усіх інших вказаних термінових інтервалів концентрація ТФР-1β та ГМ-КСФ не відрізнялася суттєво від початкових даних ( $p > 0,05$ ; табл. 1).

У ретроспективному аспекті видно, що найбільш раннім за часом у діагностичному плані було зростання вмісту ФНП-α в сироватці крові в тих осіб, у котрих потім розвинувся ГП (табл. 2). Це відбулося вже за 7 днів до початку захворювання, причому відносні показники вмісту даного цитокіну було в 18 разів більшими ( $p < 0,001$ ) відносно початкових значень. Надалі вміст ФНП-α продовжував зростати, сягаючи свого максимуму на початку захворювання. Потім внаслідок проведеного патогенетичного лікування концентрація ФНП-α знижувалася та досягла початкових рівнів. Жоден з інших засобів діагностики в терміновому аспекті не виявився корисним для раннього виявлення можливості розвитку гострого запалення паренхіми ПЗ (табл. 2).

3. *Визначення концентрації NO-синтази в сироватці крові.* У сироватці крові осіб, які



**Порівняльні можливості різних видів діагностики гострого панкреатиту впродовж різних часових інтервалів**

		Можливо (+) чи неможливо (-) визначити суттєві зміни досліджуваних ознак за допомогою різних видів діагностики						
		-14	-10	-7	-3	0, розвиток ГП	+7	+30
Визначення в сироватці крові наступних представників сімейства цитокінів	ФНП- $\alpha$	-	-	+	+	+	-	-
	ІЛ-1 $\beta$	-	-	-	-	+	-	-
	ІЛ-6	-	-	-	-	+	-	-
	ТФР-1 $\beta$	-	-	-	-	+	-	-
	ГМ-КСФ	-	-	-	-	+	-	-
Визначення активності панкреатичних ензимів у сироватці крові		-	-	-	-	+	+	(2 пацієти)
Ультразвукове дослідження		-	-	-	-	+	-	-
Комп'ютерна томографія		-	-	-	-	+	-	-
Фіброгастроуденоскопія		-	-	-	-	+	-	-
Дуоденальне зондування		-	-	-	-	+	-	-
Ендоскопічна ретроградна холангіопанкреатографія		-	-	-	-	+	-	-

становили контрольну групу, активність NO-синтази становила в середньому  $2,8 \pm 0,2$  мкмоль/л. У крові осіб основної групи з підозрою на ГП (у 22 осіб, 93%) було визначено значне зростання досліджуваного показника, який дорівнював  $4,9 \pm 0,4$  мкмоль/л, що в 1,8 разів перевищувало аналогічні дані в осіб контрольної групи ( $p < 0,01$ ). Зазначене дозволяло припускати наявність у хворих латентного запалення ПЗ.

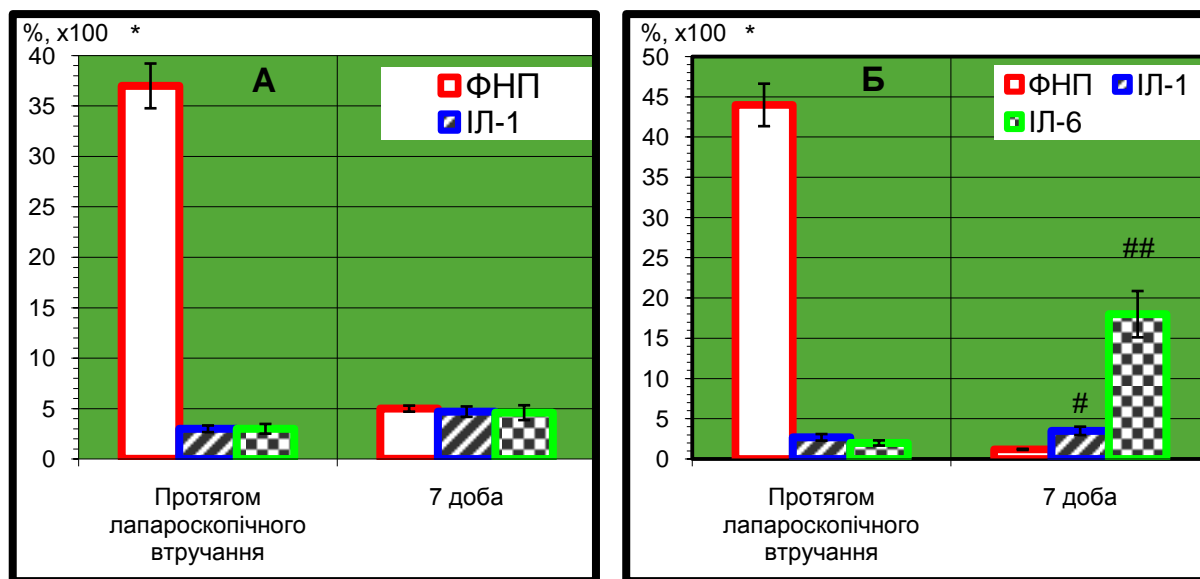
Під час подальшого спостереженні, у 19 пацієнтів з 22, в яких спостерялося зростання активності NO-синтази в крові (86%), розвинулася клініка ГП, яка підтверджувалася швидкою динамікою клінічних симптомів захворювання, а також зростанням активності протеолітичних ферментів крові.

4. *Визначення концентрації ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 та ІЛ-6 у запальному ексудаті.* Вміст ФНП- $\alpha$  в панкреатичній рідині осіб із ГП з явищами деструкції на момент виконання лапароскопічного втручання становив у середньому  $80,4 \pm 7,6$  пг/мл, що було в 37 разів більше порівняно з аналогічними даними в крові здорових людей ( $p < 0,001$ ; рис. 1А). Концентрація ІЛ-1 та ІЛ-6 відрізнялася від контрольних даних крові здорових людей на 37 % та 26 %, що не мало статистичної вірогідності. Через

тиждень лікування досліджувані показники концентрації імунцитокінів не відрізнялися суттєво від контрольних (рис. 1А). На відміну від цього за умов неефективності методів лікування спостерігали зріст концентрації прозапальних цитокінів у рідині бурси (6 пацієнтів), особливо ІЛ-6 (рис. 1Б). Концентрація ІЛ-1 та ІЛ-6 суттєво (відповідно, в 3,2 та 20 разів;  $p < 0,05$ ) перевищувала аналогічні результати в крові здорових людей та вдало лікованих пацієнтів внаслідок проведеного малоінвазивного лікування.

Таким чином, цікавою є принципова можливість ранньої діагностики ГП шляхом визначення саме гуморальних змін в організмі потенціального хворого, коли ще власне патологічний процес має латентний або прихований характер.

У цьому аспекті слід відзначити, що значну патогенетичну роль, за сучасними уявленнями, при ГП має активація цитокінового каскаду [12, 19, 24, 34]. Показано суттєве зростання концентрації ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1- $\beta$  в сироватці крові щурів із гострим експериментальним панкреатитом (ГЕП) [12, 34]. Ці результати узгоджуються та повторюють дані [2], в яких показано зростання вмісту ФНП- $\alpha$  в сироватці крові щурів із панкреонекрозом.



**Рис. 1.** Зміни концентрацій ФНП- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  та ИЛ-6 у протизапальній рідині хворих із деструктивним ГП, які видужали (фрагмент А) та в яких спостерігалось подальше прогресування захворювання (фрагмент Б).

**Позначення:** за віссю ординат досліджувані показники, які виражені в % стосовно таких даних, які зареєстровані в контрольних спостереженнях.

**Примітки:** \* –  $p < 0.001$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників порівняно з тими, які були зареєстровані в контрольних спостереженнях та прийняті за 0 (критерій Анова);

# –  $p < 0.05$ , ## -  $p < 0.01$  – вірогідні розбіжності досліджуваних показників відповідно до тих, що були зареєстровані в контрольних спостереженнях та прийняті за 0 (критерій Крушквал-Валіс)

Отже, імовірно припустити, що саме протизапальні цитокіни є тими субстанціями, котрі опосередковують подальший розвиток патологічного процесу та є відповідальними за численні системні ускладнення при ГП. Наше припущення підтверджується даними, що за умов гострих запальних процесів триває дегрануляція тучних клітин та активація макрофагів, з котрих до кровообігу звільнюються біологічно активні речовини – маркери запалення та/або нейротрофічні фактори й субстанції, котрі сприяють подальшому прогресуванню патологічного процесу [11, 34].

Слід відзначити, що серед усіх досліджуваних цитокінів та факторів росту лише концентрація ФНП- $\alpha$  зростала завчасно, що мало бути діагностичним критерієм можливості виникнення ГП у досліджуваних осіб. Відзначена тенденція була потім перевірена на 30 пацієнтах 2-ї групи, в яких відзначалося зростання рівня ФНП- $\alpha$  без наявності клінічних ознак захворювання. Потім у 93 % ( $n=28$ ) пацієнтів розвинулася клініка ГП. Отже, серед усіх випробуваних нами діагностичних засо-

бів тільки зростання концентрації ФНП- $\alpha$  можливо розглядати як найбільш вірогідний діагностичний критерій ранньої діагностики ГП. Всі інші мають безсумнівну високу діагностичну цінність на момент надходження хворих до стаціонару з метою проведення як безпосередньої діагностики ГП паренхіми підшлункової залози, так і проведення диференціальної діагностики розвинутого патологічного процесу.

Ще один важливий факт, який ми виявили, – це суттєве зростання концентрації ИЛ-6, ТФР-1 $\beta$  та ГМ-КСФ в сироватці крові хворих на ГП, що свідчить про опосередкування системою цитокінів гострого запалення в паренхімі ПЗ. У зв'язку з цим можливо рекомендувати у складних діагностичних випадках визначати вміст вказаних цитокінів (або одного з них, враховуючи значну вартість проведення цієї імунологічної реакції) для вирішення подальшої тактики лікування конкретної хворої особи.

Вартим уваги може стати один з фрагментів отриманих результатів про те, що вміст ИЛ-1 $\beta$

залишається незмінним впродовж розвитку хвороби та виписки хворих зі стаціонару. Нам здається, що це можна пояснити таким чином. Відомо, що ФНП- $\alpha$  індукує синтез деяких нейротрофічних факторів, до яких належить і ІЛ-1 $\beta$  [20, 23]. При цьому логічно припустити, що при ГП синтез ІЛ-1 $\beta$  трохи «затримується» у часовому аспекті від синтезу ФНП- $\alpha$ , який «індукує» механізм формування вказаного патологічного стану. А проведене лікування хворих та їх подальше одужання не надає можливості визначити зростання вмісту цього цитокіну, оскільки сам запальний процес у паренхімі ПЗ ліквідується.

Ще один блок результатів, які ми отримали, переконливо свідчить про те, що визначення активності NO-синтази може бути одним із неспецифічних методів діагностики ГП. Цитотоксичні ефекти NO при запаленні пояснюються збільшенням кількості пептиду, асоційованого з геном кальцитоніну, котрий є цАМФ-залежним судиннорозширюючим агентом [7]. Надмірна продукція NO в м'язах судинної оболонки можуть викликати досить важкі наслідки через падіння системного артеріального тиску та розвитку порушень кровопостачання. Важливо, що вищезазначені симптоми є патогномонічними для ГП [7, 15, 25, 33]. Цікавим та досить суперечливим є обговорення проблеми: первинною або вторинною є цитотоксична дія NO? Враховуючи дані [4, 7], а також результати спостережень [18], припустимо, що дія NO в опосередкованні запальних реакцій є вторинною, оскільки саме численні біологічні субстанції, наприклад, ІЛ-1 $\beta$ , інтерферон- $\alpha$ , ФНП- $\alpha$ , ліпополісахариди грамнегативних бактерій, тощо, прискорюють синтез та підвищують активність ключового ферменту синтезу NO. Саме через вторинність патофізіологічних та патобіохімічних ефектів NO по відношенню якнайменше до системи протизапальних цитокінів, на нашу думку, пояснюється відсутність впливу блокування синтезу окису азоту на зменшення концентрації ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$  у щурів при експериментальному панкреатиті.

Під час клінічного обстеження хворих 4-ї групи виявили, що перебіг деструктивного ГП, початкової стадії – асептичного некрозу ПЗ – характеризується вираженою активацією функціональної активності системи імунцитокінів, вміст яких у панкреатичній рідині значно зростає. Серед усіх досліджуваних імунцитокінів на момент виконання лапароскопічного втручання найбільше зростав вміст ФНП- $\alpha$ , проте вміст ІЛ-1 та ІЛ-6 не відрізнявся суттєво від нормальних показників. Цікаво, що у тих 6 пацієнтів, перебіг ГП в яких харак-

теризувався подальшим погіршенням їх клінічного стану, у панкреатичній рідині суттєво зростала активність ІЛ-6, менше – ІЛ-1 та не змінювалася активність ФНП- $\alpha$ . Отже, ці дані свідчать про те, що значне зростання в панкреатичній рідині концентрації ІЛ-6 є об'єктивним критерієм, який свідчить про прогностичну небезпеку подальшого прогресування ГП. Зазначене, на наш погляд, може стати прогностичним критерієм та надати можливість якомога раннього початку активної лікувальної тактики з метою запобігання ускладнення процесу та/або його інфікування.

Таким чином, за умов ГП підвищення функціональної активності системи імунцитокінів відбувається не лише у крові, але й у сальниковій рідині. Виникає запитання, чому саме ІЛ-6 більшою мірою є «відповідальним» за подальше прогресування ГП? На нашу думку, відповідь може полягати в тому, що ІЛ-6 як і ІЛ-1 є «відповідальними» за системні прояви гострої запальної реакції – лихоманку, лейкоцитоз і ін. Крім того, ІЛ-6 є стимулятором синтезу білків гострої фази, включаючи С-реактивний білок [13, 32]. Вказані прояви є тими, що детермінують розвиток панкреатичних та екстрапанкреатичних ускладнень у пацієнтів із панкреонекрозом, а також при інших клінічних варіантах ускладнень.

Звертаємо увагу на можливу суперечливість отриманих даних із існуючими поглядами на високу діагностичну цінність методу УЗД. Йдеться про те, що за даними УЗД можна оцінити прогностичну особливість перебігу гострого запального процесу в паренхімі ПЗ. Так, наприклад, зміни інтенсивності ехосигналу та реєстрація однорідності структури тканини ПЗ є своєрідними діагностичними критеріями подальшого перебігу патологічного процесу в залозі, що узгоджується з даними [5].

Підсумовуючи вищезазначене, ми дійшли висновку про ефективність ранньої діагностики ГП шляхом використання в якості неспецифічних способів діагностики визначення активності імунної системи та концентрації її окремих субстанцій у крові та внутрішніх рідинах організму хворих. Рання діагностика дозволяє запобігти, завдяки ранньому початку лікування, можливих тяжких ускладнень, що загалом сприяє більш ефективному лікуванню вказаної патології. Іншим висновком роботи є те, що важливу роль у перебігу ГП, враховуючи як системний характер захворювання та його ускладнень, так і обов'язкове залучення до його маніфестації імунної системи, мають протизапальні цитокіни, серед котрих відомим медіатором гострих запальних процесів є ФНП- $\alpha$ ,

визначення вмісту якого ми впровадили в якості раннього діагностичного критерію ГП.

Враховуючи дані зарубіжних авторів, сподіваємося, що позитивні результати експериментальних робіт із застосуванням специфічних блокувальних медіаторів запалення та/або блокувальних синтезу протизапальних імунітокінів сприятимуть подальшій перспективі в комплексному консервативному лікуванні значної кількості хворих на ГП.

Загальнотеоретичне значення отриманих результатів значно поширює наші уявлення про патогенез ГП.

**Висновки.** 1. Перебіг ГП супроводжується значним зростанням концентрації протизапальних цитокінів у сироватці крові, що відзначається на його початку. З діагностичною метою, починаючи з 7 доби, до розвитку гострого панкреатиту доцільним є визначення вмісту ФНП- $\alpha$  в сироватці крові пацієнтів. Вказаний засіб ми вважаємо найбільш раннім діаг-

ностичним критерієм у випадку ГП.

2. Важливу роль у перебігу ГП, враховуючи численні клінічні прояви захворювання й можливий системний характер розладнань, становить активація синтезу NO. Визначення активності ферменту NO-синтази в крові дозволяє діагностувати розвиток ураження паренхіми ПЗ на ранньому етапі.

3. Перебіг ГП супроводжується значним зростанням концентрації протизапальних імунітокінів у запальному ексудаті бурси. З прогностичною метою, починаючи з 7 доби перебігу захворювання доцільним є визначення вмісту ІІ-6 в запальному ексудаті пацієнтів. Вказаний тест ми вважаємо як найбільш ранній прогностичний критерій у випадку подальшого прогресування захворювання та формування системних розладів у пацієнтів.

4. Ефективність вказаних діагностичних заходів полягає в значному економічному ефекті завдяки скороченню строків лікування та кількості застосованих лікарських засобів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Визначення динаміки концентрації імунітокінів як прогностичний критерій стосовно подальшої тактики лікування пацієнтів із гострим панкреатитом / [Демидов В. М., Торбинський А. М., Нікішин Л. Ф., Гнатенко В. М.] // *Хірургія України.* - 2004. - № 4 (12). - С. 73-77.
2. Використання пентоксифіліну для лікування експериментального панкреонекрозу / [Лобенко А. О., Запорожченко Б. С., Шандра О. А. та ін.] // *Журн. АМН України.* - 1998. - Т. 4, № 3. - С. 530-539.
3. Демидов В. М. Дослідження змін концентрації цитокінів сироватки крові хворих на гострий панкреатит як ранній діагностичний критерій / В. М. Демидов, Б. С. Запорожченко, С. М. Демидов // *Клініч. хір.* - 2003. - № 3. - С. 29-32.
4. Демидов В. М. Роль ендогенного окислу азота в патогенезі периферичної полінейропатії при цукровому діабеті у щурів / В. М. Демидов, К. В. Лупанов, Є. М. Розумна // *Одеський медичний журнал.* - 2003. - № 1. - С. 30-33.
5. Клинико-инструментальная диагностика болезней гепатопанкреатодуоденальной зоны / [Соколов Л. К., Минушкин О. Н., Саврасов В. М., Терновой С. К.] - М. : Медицина, 1987. - 267 с.
6. Колб В. Г. Лабораторная диагностика хирургических заболеваний / В. Г. Колб, В. С. Камышников. - М. : Высшая школа, 1993. - 185 с.
7. Лобенко А. О. NO-опосередковані механізми експериментального панкреатиту / А. О. Лобенко, В. М. Демидов, С. М. Демидов // *Журн. АМН України.* - 2002. - Т. 8, № 2. - С. 385-393.
8. Миниинвазивное оперативное лечение острого панкреатита / [Е. Н. Деговцов, С. И. Возлюбленный, М. С. Возлюбленный и др.] // *Анналы хирург. гепатологии.* - 2007. - Т. 12, № 2. - С. 62.
9. Недоспаев А. А. Биогенный NO в конкурентных отношениях / А. А. Недоспаев // *Биохимия.* - 1998. - Т. 63, Вып. 7. - С. 881-894.
10. Нова методика діагностика гострого панкреатиту із застосуванням рентгенендоваскулярної хірургії / [Демидов В. М., Нікішин Л. Ф., Торбинський А. М., Демидов С. М., Гнатенко В. М.] // *Харківська хірургічна школа.* - 2005. - № 2.1 (17). - С. 50-52.
11. Переяслов А. А. Дисбаланс цитокінів як причина розвитку і прогресування гострого панкреатиту / А. А. Переяслов, С. М. Чуклін, М. М. Посівнич // *Вісник морської медицини.* - 2003. - №2 (21). - С. 262-264.
12. Сыновец О. А. Модуляция цитокинового каскада как один из патогенетических механизмов формирования острого экспериментального панкреатита / О. А. Сыновец // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* - 2000. - Т. 10, № 6. - С. 37-43.
13. Чуклін С. М. Медіатори запальної відпо-



віді, ліпаза і трипсиноген-активуючий пептид у прогнозуванні перебігу гострого біліарного панкреатиту / С. М. Чукалін, В. І. Федорів // Вісник морської медицини. – 2003. – №2 (21). – С. 339–343.

14. Шабанов В. В. Профилактика острого послеоперационного панкреатита при лапароскопической холецистэктомии / В. В. Шабанов, Б. Ю. Цветков, А. С. Бенин // Эндоскоп. хирургия. – 2006. – № 1. – С. 9–11.

15. Шалимов А. А. Острый панкреатит и его осложнения / А. А. Шалимов, А. П. Радзиховский, М. Е. Ничитайло. – К. : Наукова думка, 1990. – 272 с.

16. Analysis of nitrate, nitrite and N-nitrate in biological fluids / [Green L. C., Wagner D. A., Gladowski J. et al.] // Analytic Biochem. – 1987. – Vol. 127. – P. 1131–1138.

17. Acute chylous peritonitis due to acute pancreatitis / [Georgiou G. K., Harissis H., Mitsis M. et al.] // World J. Gastroenterol. – 2012. – Vol. 18, N 16. – P. 1987–1990.

18. Cetkovic-Cvrlje M. TNF-alpha and IFN-gamma potentiate the deleterious effects of IL-1 beta on mouse pancreatic islets mainly via generation of nitric oxide / M. Cetkovic-Cvrlje, D. L. Eizirik // Cytokine. – 1994. – Vol. 6, N 4. – P. 399–406.

19. Circulating cytokine levels in acute pancreatitis-model of SIRS/CARS can help in the clinical assessment of disease severity / [Gunjaca I, Zunic J, Gunjaca M, Kovac Z.] // Inflammation. – 2012. – Vol. 35, N 2. – P. 758–763.

20. Circulating tumor necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-6 concentrations in chronic alcoholic patients / [Blumenthal R. S., Flinn I. W., Proske O. et al.] // Hepatology. – 1991. – Vol. 13. P. 267–276.

21. Cytokines and organ failure in acute pancreatitis: inflammatory response in acute pancreatitis / [Malmström M. L., Hansen M. B., Andersen A. M. et al.] // Pancreas. – 2012. – Vol. 41, N 2. – P. 271–277.

22. Differences between diffuse and focal autoimmune pancreatitis / [Tabata T., Kamisawa T., Takuma K. et al.] // World J. Gastroenterol. – 2012. – Vol. 18, N 17. – P. 2099–2104.

23. Dinarello C. A. The role of interleukin-1 in disease / C. A. Dinarello, S. M. Wolff // N. Engl. J. Med. – 1993. – Vol. 328, N 1. – P. 106–113.

24. Delayed production of IL-18 in lungs and pancreas of rats with acute pancreatitis / [Pastor C. M., Morel D. R., Vonlaufen A. et al.] // Pancreatol. – 2010. – Vol. 10, N 6. – P. 752–757.

25. Hegyi P. The role of nitric oxide in the physiology and pathophysiology of the exocrine pancreas / P. Hegyi, Z. Jr. Rakonczay // Antiox-

id. Redox Signal. – 2011. – Vol. 15, N 10. – P. 2723–2241.

26. Immunohistochemistry in the identification of nitric oxide synthase isoenzymes in myocardial infarction / [Wildhirt S. M., Dudec R. R., Suzuki H. et al.] // Cardiovasc. Res. – 1995. – Vol. 29, N 4. P. 526–531.

27. Lack of association between TNF- $\alpha$  gene promoter polymorphisms and pancreatitis: A meta-analysis / [Yang Z., Qi X., Wu Q. et al.] // Gene. – 2012. – Vol. 503, N 2. – P. 229–234.

28. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule / [Hibbs J. B., Taintor R. R., Vavrin Z., Rachlin E. M.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1988. – Vol. 157, N 1. – P. 87–94.

29. Mitkov M. Concurrent treatment of acute pancreatitis and multiple visceral artery aneurysms using endovascular techniques / M. Mitkov, W. K. Al-Khatib, W. Zhou // Vasc. Endovascular Surg. – 2012. – Vol. 46, N 3. – P. 283–286.

30. Moncada S. The L-arginine: nitric oxide pathway / S. Moncada, A. Higgs // N. Engl. J. Med. – 1993. – Vol. 329. – P. 2002–2012.

31. Pezzilli R. How to evaluate the severity of acute pancreatitis: back to the past? / R. Pezzilli // JOP. – 2012. – Vol. 13, N 3. – P. 324–325.

32. Serum tumor necrosis factor compared with C-reactive protein in the early assessment of severity of acute pancreatitis / [Paajanen H., Laato M., Jaakkola M. et al.] // Br. J. Surg. – 1995. – Vol. 82, N 1. P. 271–273.

33. Siveen K. S. Modulation of humoral immune responses and inhibition of proinflammatory cytokines and nitric oxide production by 10-methoxycanthin-6-one / K. S. Siveen, G. Kuttan // Immunopharmacol. Immunotoxicol. – 2012. – Vol. 34, N 1. – P. 116–125.

34. The glucocorticoid-induced TNF receptor family-related protein (GITR) is critical to the development of acute pancreatitis in mice / [Galuppo M., Nocentini G., Mazzon E. et al.] // Br. J. Pharmacol. – 2011. – Vol. 162, N 5. – P. 1186–1201.

35. The role of nitric oxide in the pancreatic blood flow response to caerulein / [Satoh A., Shimosegawa T., Abe T. et al.] // Pancreas. – 1994. – Vol. 9. – P. 574–579.

36. The role of sphingosine kinase 1 in patients with severe acute pancreatitis / [Li Q., Wang C., Zhang Q. et al.] // Ann. Surg. – 2012. – Vol. 255, N 5. – P. 954–962.

37. The use of gabexate mesylate and ulinastatin for the prevention of post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis / [Yoo Y. W., Cha S. W., Kim A. et al.] // Gut Liver. – 2012. – Vol. 6, N 2. – P. 256–261.

В. М. Демидов, С. М. Демидов  
**КЛИНИКОТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОС-  
НОВАНИЕ МЕТОДИЧЕСКИХ АСПЕК-  
ТОВ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТРО-  
ГО ПАНКРЕАТИТА**

г. Одесса, Украина

**Резюме.** Авторы описывают методы ранней диагностики острого панкреатита путем определения концентрации в крови пациентов фактора некроза опухоли, интерлейкинов-1 и -6, трансформирующего фактора роста-1-бета и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, активности NO-синтазы, а также определения концентрации провоспалительных цитокинов в экссудате бursы. Эффективность предлагаемых способов неспецифической диагностики острого панкреатита заключается в раннем (доклиническом) выявлении заболевания, возможности прогнозирования осложненного течения заболевания и сокращении сроков лечения.

**Ключевые слова:** острый панкреатит, ранняя диагностика, цитокины, факторы роста, оксид азота.

V. M. Demidov, S. M. Demidov  
**CLINICAL-THEORETICAL BACK-  
GROUND OF ACUTE PANCREATITIS  
EARLY DIAGNOSIS**

Odessa, Ukraine

**Summary.** Authors described the method of acute pancreatitis early diagnosis through the plasma level of tumor necrosis factor, interleukin-1, interleukin-6, transforming growth factor and granulocyte-macrophage colonystimulating factor, NO-synthase activity determination as well as proinflammatory cytokines level determination in bursa inflammative liquid. The advantages of the acute pancreatitis nonspecific diagnostic methods proposed are the following: real early (preclinical) acute pancreatitis diagnosis, possibility of its complications prognosis together with treatment shortening.

**Key words:** acute pancreatitis, early diagnosis, cytokines, growth factors, nitric oxide.