

УДК 616.37-002-008.9-092

*С.М. Чуклін, І.Ю. Бігальський, А.А. Переяслов***МАРКЕРИ ОКСИДАЦІЙНОГО СТРЕСУ ЯК ПОКАЗНИКИ ТЯЖКОСТІ ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ***Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького*

Недостатньо вивченою ланкою гострого панкреатиту є оцінка значущості активації процесів пероксидного окиснення ліпідів і недостатності антиоксидативної системи. Мета дослідження – оцінка можливості використання продукту пероксидного окиснення ліпідів (МДА) для прогнозування тяжкості перебігу гострого панкреатиту. Рівень МДА визначався в динаміці у 49 хворих на гострий панкреатит різного ступеня тяжкості. Концентрацію МДА у плазмі крові визначали за допомогою кольорової реакції з тіобарбітуровою кислотою. У хворих на ГП, незалежно від тяжкості захворювання значно підвищений МДА. Чутливість визначення МДА для прогнозування некротизуючого панкреатиту у першу добу склала 96%, специфічність – 58%. Малоновий діальдегід може бути потенційним маркером тяжкості перебігу гострого панкреатиту, особливо в перші 24 години після госпіталізації.

Ключові слова: гострий панкреатит, оксидативний стрес, малоновий діальдегід

Гострий панкреатит (ГП) сьогодні є однією з основних проблем абдомінальної хірургії. Захворюваність на ГП має неухильну тенденцію до зростання. Відзначається також постійне збільшення частоти деструкційних форм, які є основною причиною смерті. Летальність при ГП, незважаючи на розпрацювання і впровадження нових методів лікування, залишається стабільно високою і сягає при тяжких ускладнених формах 25-85%. Найбільше число фатальних випадків пов'язано з пізніми гнійно-септичними ускладненнями і асоційованою з ними поліорганною дисфункцією (ПОД), яка приблизно в 80% випадків є безпосередньою причиною летальних вислідів при гострому панкреатиті. Незадовільні результати лікування та високий рівень летальності при тяжких формах гострого панкреатиту багато в чому визначаються складним і недостатньо вивченим патогенезом, несвоєчасним прогнозуванням перебігу.

Одна з особливостей ГП – здатність швидко переходити від легкої форми до тяжкої, яка загрожує життю за рахунок викиду великої кількості прозапальних медіаторів та розвитку синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ), що значною мірою визначає тяжкість ГП.

Тісно пов'язані із ССЗВ процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) [3]. Підшлункова залоза має в організмі найнижчий рівень вмісту антиоксидантів. В умовах запалення та ішемії порушується баланс пероксидних ре-

акцій, запускається анаеробний шлях гліколізу, зростає кількість недоокиснених метаболітів, концентрація вільних радикалів кисню (ВРК) значно збільшується, а антиоксидативні системи швидко виснажуються. У відповідь на окиснювальний стрес активізується глутатіоновий окисно-відновний цикл, маркером ефективності якого є відновлений глутатіон [4]. При недостатності антиоксидативних систем відбувається пероксидація мембранних ліпідів, що веде до зростання пасивної проникності мембран за рахунок утворення наскрізних полярних каналів, зміни плинності і заряду ліпідного шару, і в кінцевому результаті – пошкодження ациноцитів і порушення міжклітинних контактів [7]. Пошкоджені ацинарні клітини вивільнюють ВРК і продукти ПОЛ, які здатні активувати нейтрофіли з подальшим потенціюванням ССЗВ і мікроциркуляторних розладів [6].

Недостатньо вивченою ланкою гострого панкреатиту є оцінка значущості активації процесів пероксидного окиснення ліпідів і недостатності антиоксидативної системи, а також органів природної детоксикації організму в патогенезі цього захворювання, що багато в чому визначає прогноз.

Вільнорадикальне (пероксидне) окиснення ліпідів – невід'ємна частина багатьох життєвоважливих процесів, таких, як постійне оновлення ліпідного складу клітинних мембран і підтримка активності ліпідозалежних і пов'язаних із мембраною рецепторів, синтез

попередників простагландинів, окисне фосфорилування в мітохондріях, фагоцитоз та ін. Проте, надмірне утворення продуктів ПОЛ веде до накопичення перекисів ліпідів. Пероксидні радикали вступають у взаємодію з молекулами жирних кислот, утворюючи високотоксичні гідропероксиди і нові вільні радикали. Цей процес, перебігаючи лавиноподібно, може призвести до швидкого руйнування клітинних структур.

Надмірне утворення продуктів пероксидного окиснення ліпідів призводить до цитотоксичної дії, що проявляється пошкодженням фосфоліпідів клітинних мембран. При цьому змінюється структура мембран клітин, аж до їх розриву, пригнічується активність цитохромоксидази, вивільнюються стабільні токсичні продукти розпаду, такі як малоновий діальдегід (МДА), які можуть підвищити клітинне пошкодження або які можуть виступати в якості хемоатрактантів при синдромі системної запальної відповіді за участю каскаду комплементу, різних цитокінів та інших речовин гострої фази [2]. Водночас МДА пригнічує простагландин, сприяючи агрегації тромбоцитів і тромбоутворенню. Тому інтенсивність процесів ПОЛ можна визначити за рівнем МДА.

Мета роботи – оцінка можливості використання продукту пероксидного окиснення ліпідів (МДА) для прогнозування тяжкості перебігу гострого панкреатиту.

Матеріал і методи

Рівень МДА визначався в динаміці у 49 хворих на гострий панкреатит різного ступеня тяжкості. Згідно із сучасною класифікацією ГП у 24 хворих діагностовано інтерстиційний панкреатит (легкий перебіг) і у 25 – некротизуючий (тяжкий перебіг). Обидві групи були співставимі за віком і статтю. Термін виникнення больового синдрому у хворих не перевищував 48 год. до надходження в клініку. У дослідження не включали пацієнтів з рецидивами захворювання. Усі хворі отримували стандартну консервативну терапію, яка не включала специфічне антиоксидативне лікування. Дослідження проводили на 1, 3 і 7 добу для того, щоб визначити особливості ПОЛ на початку захворювання – у ферментативну стадію. Контрольну групу склав 21 здоровий волонтер.

Концентрацію МДА у плазмі крові визначали за допомогою кольорової реакції з тіобарбітуровою кислотою (ТБК). В основі методу лежить реакція між МДА і ТБК, яка в умовах високої температури і низького рН проходить з утворенням триметинового комплексу, що містить одну молекулу МДА і дві молекули ТБК [1].

Дослідження виконані неінвазивними методами з інформованої згоди пацієнтів і відповідали етичним нормам Гельсінської декларації.

Статистичне вичислення показників проводили з допомогою стандартних комп'ютерних програм (Statistica Version 6, StatSoft, Inc., SPSS Statistics 17.0) з визначенням середнього арифметичного (М), стандартного відхилення середнього арифметичного (SD). Різницю між показниками обчислювали за Student, Mann-Whitney і вважали істотною при $p < 0,05$. Прогностичне значення показників оцінювали за наступними критеріями: специфічність, чутливість, позитивна прогностична цінність (ППЦ), від'ємна прогностична цінність (ВПЦ), ефективність (загальна точність), рівень помилковості (РП), коефіцієнт імовірності (КІ) (likelihood ratio – LR).

Результати та обговорення

Відзначено, що вже при госпіталізації у хворих на ГП, незалежно від тяжкості захворювання значно підвищений МДА, особливо при некротизуючому панкреатиті. У першу добу його концентрація у плазмі крові перевищувала середні показники донорів у 2,28 рази при легкому ГП і у 2,89 рази при тяжкому ГП (табл. 1).

До третьої доби рівень МДА у хворих на ГП поступово підвищувався і істотно перевищував показники норми в середньому у 2,87 рази при інтерстиційному панкреатиті і у 3,4 рази при некротизуючому панкреатиті. До кінця першого тижня у хворих на легкий ГП концентрація МДА поверталась до показників при госпіталізації, тоді як при некротизуючому панкреатиті зменшилася значніше і на 7-у добу не відрізнялася від показників легкого перебігу.

Таким чином у перший тиждень захворювання при гострому панкреатиті інтенсифікуються процеси пероксидного окиснення ліпідів, особливо при тяжкому перебігу захворю-

Таблиця 1.

Рівень малонового діальдегіду (мкмоль/л) (M ± SD) у плазмі крові хворих на гострий панкреатит

Термін обстеження	Групи обстежених		
	донори (n=21)	легкий ГП (n=24)	тяжкий ГП (n=25)
1 доба	1,42 ± 0,20	3,25 ± 0,43*	4,10 ± 0,50*•
3 доба	1,42 ± 0,20	4,08 ± 0,53*#	4,82 ± 0,61**•
7 доба	1,42 ± 0,20	3,13 ± 0,41*Δ	3,07 ± 0,40**#Δ

Примітка: * – істотність різниці порівняно з донорами ($p < 0,001$), # – істотність різниці порівняно з 1-ою добою ($p < 0,001$), Δ – істотність різниці порівняно з 3-ою добою ($p < 0,001$), • – істотність різниці порівняно з легким ГП ($p < 0,001$)

вання, що значно виражено у перші три доби (рис. 1.).

Крива ROC показала хорошу точність рівнів МДА у плазмі крові на 24 години у диференціації між легким та тяжким гострим панкреатитом (рис. 2.) і найкращий пороговий рівень в 3,25 мкмоль/л.

ROC-крива показує залежність кількості вірно класифікованих позитивних прикладів від кількості невірно класифікованих негативних прикладів.

Після визначення факторів, за допомогою яких можна спрогнозувати розвиток важкого перебігу у хворих на гострий панкреатит, важливим є надати діагностичну характеристику цих параметрів за чутливістю і специфічністю показників. Для оцінки важливості тесту у прогнозуванні перебігу гострого панкреатиту введено також коефіцієнти імовірності (КІ) (likelihood ratio – LR), які визначаються

для позитивного тесту:

$$КІ_{поз} = \text{чутливість} / (100 - \text{специфічність}),$$

для від'ємного тесту:

$$КІ_{нег} = (100 - \text{чутливість}) / \text{специфічність}.$$

Для невідкладного застосування найкращими є тести, коли КІ_{поз} більше від 10 чи КІ_{нег} менше від 0,1.

Чутливість визначення МДА для прогнозування некротизуючого панкреатиту у першу добу склала 96%, а специфічність – 58%.

Вичислення показало, що для МДА КІ_{поз} = 2,30, а КІ_{нег} = 0,07.

Аналіз прогностичної цінності систем Ranson і Glasgow виявив, що вони мають дещо більшу чутливість щодо прогнозування важких форм захворювання (табл. 2) порівняно з клінічними ознаками, але все ж таки їх прогностичне значення недостатнє.

Окрім того, критерії Ranson і Glasgow виявляють найбільшу ефективність при своїх крайніх значеннях. Прогноз захворювання є незначним у 34,3-40,9% пацієнтів, в яких сума балів коливається від 3 до 5. Ці хворі мають вірогідність розвитку як легких набрякових

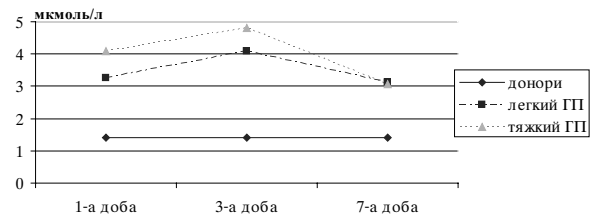


Рис. 1. Динаміка концентрації малонового діальдегіду у хворих на гострий панкреатит у перший тиждень захворювання

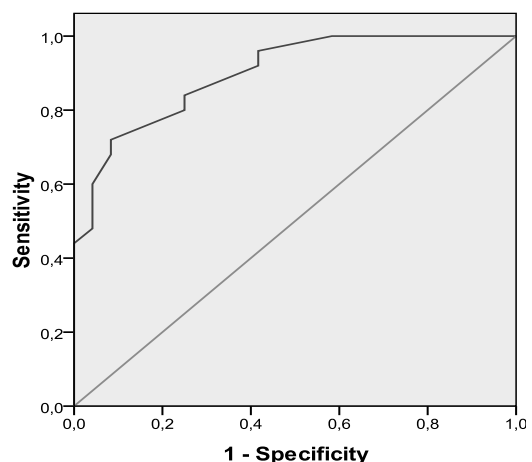


Рис. 2. ROC-крива (Receiver Operator Characteristic) у перші 24 години для прогнозування перебігу гострого панкреатиту за концентрацією МДА

Таблиця 2.

Прогностична цінність критеріїв Ranson і Glasgow

Прогностичні критерії	Критерії Ranson	Критерії Glasgow
Чутливість (%)	46,9	42,7
ППЦ (%)	82,9	83,3
Специфічність (%)	89,9	91,3
ВПЦ (%)	61,7	60,8
Ефективність (%)	67,9	66,7
РП (%)	32,1	33,3

форм, так і тяжких форм захворювання, але все ж таки переважає ризик розвитку тяжкого ГП. Ще одним недоліком критеріїв Ranson і Glasgow є те, що вони віддзеркалюють тяжкість стану хворого протягом лише перших двох діб з моменту надходження пацієнта, а для подальшої оцінки вони не придатні.

Наведені результати підтверджують, що багатофакторні системи найкраще ідентифікують хворих із легким перебігом ГП, тобто тих, хто потребує тільки незначної допоміжної терапії. Проте, здатність цих прогностичних систем виявляти хворих із можливим тяжким перебігом недостатня.

Таким чином при гострому панкреатиті вивільнення МДА значно вище при тяжкому ГП в порівнянні з легким ГП. Це може бути потенційним маркером тяжкості для використання протягом доби після госпіталізації. Можливо, що окиснювальний стрес, що призводить до формування і вивільнення МДА є відображенням тяжкості пошкодження підшлункової залози.

Відомі маркери оксидативного стресу включають МДА, який пов'язаний з пероксидним окисненням ліпідів, та мієлопероксидазу, яка пов'язана з первинними цитозольними гранулами в поліморфноядерних лейкоцитах, і продукується в період „окиснювального вибуху” і зазвичай використовується для перетравлення бактерійних продуктів.

Незважаючи на оцінки тяжкості, які проводяться вже понад 30 років, прогнозування тяжкості на початку клінічного перебігу гострого панкреатиту є, як і раніше, серйозною проблемою. Отримані результати вказують на важливу роль маркерів оксидативного стресу

в прогнозуванні тяжкості ГП. Попередні експериментальні [5] дослідження показали наявність продуктів пероксидного окиснення ліпідів, таких як МДА, в плазмі, мабуть через пошкодження тканини підшлункової залози вільними радикалами кисню. Наші дані узгоджуються з цими результатами, оскільки показують статистично значуще збільшення рівнів МДА у пацієнтів з гострим панкреатитом в порівнянні з контролем.

З а к л ю ч е н н я

Малоновий діальдегід може бути потенційним маркером тяжкості перебігу гострого панкреатиту, особливо в перші 24 години після госпіталізації. Використання порогового значення в 3,25 мкмоль/л МДА плазми для виявлення тяжкого ГП дає чутливість та специфічність подібну до різних скринінгових систем, але в набагато більш ранній стадії клінічного перебігу. Скринінговим системам потрібно щонайменше 24 години (APACHE-II) або 48 годин (Glasgow і Ranson) для необхідної інформативності. Отримані нами дані показують, що одноразове вимірювання МДА протягом 24 год. від надходження може надавати аналогічну точність.

МАРКЕРЫ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА КАК ПОКАЗАТЕЛИ ТЯЖЕСТИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА

С.Н. Чуклин, И.Ю. Бигальский, А.А. Переяслов

Недостаточно изученным звеном острого панкреатита является оценка значимости активации процессов перекисного окисления липидов и недостаточности антиоксидационной системы. Цель исследования – оценка возможности использования продукта перекисного окисления липидов (МДА) для прогнозирования тяжести течения острого пан-

креатита. Уровень МДА определялся в динамике у 49 больных острым панкреатитом различной степени тяжести. Концентрацию МДА в плазме крови определяли с помощью цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой. У больных острым панкреатитом, независимо от тяжести заболевания значительно повышен МДА. Чувствительность определения МДА для прогнозирования некротизирующего панкреатита в первые сутки составила 96%, специфичность – 58%. Малоновый диальдегид может быть потенциальным маркером тяжести течения острого панкреатита, особенно в первые 24 часа после госпитализации.

Ключевые слова: острый панкреатит, оксидативный стресс, малоновый диальдегид

OXIDATIVE STRESS MARKERS AS INDICATORS OF ACUTE PANCREATITIS SEVERITY

S. Chooklin, I. Bihalsky, A. Pereyaslov

Understudied part of acute pancreatitis is to evaluate the significance of activation of lipid peroxidation and inadequate antioksidatsionnoy system. The purpose of the study – to assess the possibility of using lipid peroxidation product (MDA) to predict the severity of acute pancreatitis. MDA level was determined by the dynamics in 49 patients with acute pancreatitis of varying severity. The concentration of MDA in blood plasma was determined by color reaction with thiobarbituric acid. In patients with acute pancreatitis, regardless of the severity of the disease significantly increased the MDA. The sensitivity of MDA for the

prediction of necrotizing pancreatitis in the first day was 96% and specificity – 58%. Malondialdehyde may be a potential marker of the severity of acute pancreatitis, especially in the first 24 hours after admission.

Keywords: acute pancreatitis, oxidative stress, malondialdehyde

ЛІТЕРАТУРА

1. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии под ред. Ореховича В.Н., 1997. – С. 66-68.
2. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction / H.F. Goode, H.C. Cowley, B.E. Walker [et al.] // Crit. Care Med. – 1995. – Vol. 23. – P. 646-651.
3. Granger J. Acute pancreatitis: models, markers, and mediators / J. Granger, D. Remick // Shock. – 2005. – № 24. – P. 45-51.
4. Jones D.P. Redefining oxidative stress / D.P. Jones // Antioxid. Redox Signal. – 2006. – Vol. 8. – 1865-1879.
5. Schoenberg M.H. Oxidative stress in acute and chronic pancreatitis / M.H. Schoenberg, D. Birk, H.G. Beger // Am. J. Clin. Nutr. – 1995. – Vol. 62. – P. 1306-1314.
6. Shi C. Potential role of reactive oxygen species in pancreatitis-associated multiple organ dysfunction / C. Shi, R. Andersson, X. Zhao // Pancreatol. – 2005. – №5. – P. 492-500.
7. The dynamics of the oxidant-antioxidant balance in the early phase of human acute biliary pancreatitis / A. Dziurkowska-Marek, T.A. Marek, A. Nowak [et al.] // Pancreatol. – 2004. – №4. – P. 215-222.

Стаття надійшла 25.02.2011