

ПРОБЛЕМИ ЗАГАЛЬНОЇ ХІРУРГІЇ

Klinichna khirurgiia. 2019 January;86(1):3-9.
DOI: 10.26779/2522-1396.2019.01.03

Зміни оксидантно–антиоксидантного гомеостазу та окремих цитокінів у хворих з бластоматозною жовтяницею різної тяжкості

I. A. Криворучко², В. В. Бойко^{1,2}, О. Ю. Лавретьєва², С. А. Андреещев³¹Інститут загальної та невідкладної хірургії імені В.Т. Зайцева НАМН України, м. Харків,²Харківський національний медичний університет,³Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ

Changes of the oxidant–antioxidant homeostasis and some cytokines in patients with blastomatous jaundice of various severity

I. A. Kryvoruchko², V. V. Boyko^{1,2}, O. Yu. Lavretieva², S. A. Andreieshchev³¹Zaytsev Institute of General and Urgent Surgery, Kharkiv,²Kharkiv National Medical University,³Shupyk National Medical Academy of Post–Graduate Education, Kyiv

Реферат

Мета. Дослідження стану вільнорадикальних процесів, перекисного окислення ліпідів, антирадикального захисту та вмісту цитокінів у сироватці крові хворих з бластоматозною жовтяницею.**Матеріали і методи.** Дослідження проведено щодо 80 хворих у віці від 38 до 83 років, які мали бластоматозну жовтяницю до оперативних втручань. Всі пацієнти були розподілені на три групи в залежності від тяжкості жовтяниці, визначеної за класифікацією Е. І. Гальперіна (2012), для оцінки та прогнозування післяопераційних результатів. До 1–ї групи включили 18 (22,5%) пацієнтів з жовтяницею класу А, до 2–ї групи – 32 (40%) пацієнти з жовтяницею класу В, до 3–ї групи – 30 (37,5%) пацієнтів з жовтяницею класу С. У 68 (85%) пацієнтів діагностовані III і IV стадії захворювання.**Результати.** В умовах клінічного перебігу бластоматозної жовтяниці всіх трьох класів тяжкості у сироватці крові хворих значно збільшувався вміст середньомолекулярних пептидів і аміаку; антиоксидантний гомеостаз характеризувався збільшенням вмісту в сироватці крові малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, підвищенням активності церулоплазміну і зниженням активності каталази ($p < 0,05$); вміст у сироватці крові цитокінів ІЛ–1 β , ІЛ–6 і ІЛ–8 значно підвищувався ($p < 0,05$), водночас динаміка змін вмісту цитокінів ІЛ–4 і ІЛ–10 була зворотною ($p < 0,05$). Порівняння середніх міжгрупових відмінностей за критерієм Спірмана показало, що показники рівня васкулоендотеліального фактора росту були вірогідними у хворих з жовтяницею класів А і В ($r = -0,90$, $p = 0,000$), класів В і С ($r = 0,726$, $p = 0,000$) та класів А і С ($r = 0,489$, $p = 0,041$). Встановлено, що рівень васкулоендотеліального фактора росту, який у середньому становив 346 пг/мл, був єдиним показником, що мав більшу точність у разі порівняння хворих з раком і умовно здорових людей (площа під ROC–кривою становила 0,943, чутливість – 86,8%, специфічність – 82,4%, загальна точність – 82,3%).**Висновки.** Порушення функції ендотеліальних клітин і клітин гладких м'язів судин, індуковане вільнорадикальними процесами і антирадикальною захисною системою, призводить до розвитку ендотеліальної та судинної дисфункції, яка, ймовірно, ініціює та індукує гіпоактивність судин і вазодилатацію, а рівень васкулоендотеліального фактора росту має більшу точність у разі порівняння хворих з раком і умовно здорових людей.**Ключові слова:** ендотоксикоз; перекисне окислення ліпідів; антирадикальний захист; цитокіни; дисфункція ендотелію; бластоматозна жовтяниця; дослідження.

Abstract

Objective. Investigation of state of a free–radical processes, peroxidal oxidation of lipids, antiradical defense and content of cytokines in the blood serum in patients, suffering blastomatous jaundice.**Materials and methods.** The investigation was conducted in 80 patients, ageing 38–83 yrs old, who have had blastomatous jaundice preoperatively. All the patients were distributed into three Groups, depending on classification of E. I. Galperin (2012), for estimation and prognosis of postoperative results. Into the 1–st Group were included 18 (22.5%) patients with jaundice Class A, to the 2–nd Group – 32 (40%) patients with jaundice Class B, and to the 3–d Group – 30 (37.5%) patients with jaundice Class C. In 68 (85%) patients the Stages III and IV of the disease were diagnosed.**Results.** In environment of clinical course of the blastomatous jaundice of all three Classes of severity the content of the middle–molecules peptides and ammonia in the blood serum of the patients have been enhanced significantly; antioxidant homeostasis was characterized by enhancement of content of malonic dialdehyde in the blood serum, dienic conjugates, raising activity of ceruloplasmin and lowering – of catalase ($p < 0,05$); the content of cytokines ІЛ–1 β , ІЛ–6 and ІЛ–8 in the blood serum have been heightened ($p < 0,05$), while a dynamics of the cytokines ІЛ–4 and ІЛ–10 content changes was an adverse one ($p < 0,05$). Comparison of the median value of the intergroup differences in accordance to Spearman criterion have shown, that the indices of the VEGF level were trustworthily probable in patients, suffering jaundice of Classes A and B ($r = -0,90$, $p = 0,000$), of Classes B and C ($r = 0,726$, $p = 0,000$), and Classes A and C ($r = 0,489$, $p = 0,041$). There was established, that the VEGF level, median value of which have constituted 346 pg/ml, was the only one index, which have had more accuracy, comparing with patients, suffering cancer, or with conditionally healthy persons (the square under the ROC–curve have constituted 0.943, sensitivity – 86.8%, specificity – 82.4%, general accuracy – 82.3%).**Conclusion.** Functional disorders of endothelial cells and of a vascular smooth muscle cells, induced by a free–radical processes and the anti-radical defense system, leads to development of endothelial and vascular dysfunction, which, possibly, initiates and induces a vascular hypoactivity and vasodilation, the level of VEGF has more accuracy, comparing with patients, suffering cancer and the conditionally healthy persons.**Keywords:** endotoxycosis; peroxidal oxidation of lipids; antiradical defense; cytokines; endothelial dysfunction; blastomatous jaundice; investigation.

Хірургічне лікування злоякісних захворювань органів гепатопанкреатобілярної зони (ГПБЗ) є найбільш складною проблемою абдомінальної хірургії, що підтверджують низька резектабельність, високий операційний ризик і незадовільні віддалені результати. Після операції у хворих з обструктивною жовтяницею (ОЖ) констатують високу частоту ускладнень і смертність [1]. Гемодинамічна нестабільність, індукована гіпотонією та порушенням реактивності судин у хворих з ОЖ, є головною в патогенезі ускладнень в періопераційному періоді [2]. Зниження звужувального тону, а також гіпореактивність судин разом зі зниженою чутливістю до вазоактивних агентів, таких як катехоламіни, вазопресин, ангіотензин II і серотонін, можуть в кінцевому підсумку призвести до смерті пацієнта [3]. Серед чинників, що сприяють розвитку клінічних проявів та ускладненому перебігу цих захворювань, значне місце відводять імунологічним розладам, порушенням клітинного метаболізму системи травлення, що уможливають формування неконтрольованого диференціювання та проліферації, в основі яких лежать хронічні запальні процеси, що супроводжуються завжди активацією процесів вільнорадикального окислення і перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Численними дослідженнями доведено, що процеси вільнорадикального окислення одночасно проявляються визначеною послідовністю метаболічних змін на рівні ПОЛ, окисної модифікації білків, нуклеїнових кислот з характерними порушеннями біоенергетичних процесів на рівні аеробного та анаеробного механізмів генерації макроергічних субстратів у вигляді аденозинтрифосфату.

У більшості пацієнтів злоякісні захворювання органів ГПБЗ діагностують після їх переходу в прогресуючу або метастатичну стадію, що значно ускладнює лікувальний підхід. Відстрочена в часі або пропущена діагностика у цієї категорії хворих можлива через відсутність ранніх симптомів і ефективного неінвазивного скринінгу або діагностичних тестів у клінічній практиці. Варто звернути увагу ще й на те, що тяжкість стану таких хворих на етапах хірургічного втручання багато в чому визначається інтенсивністю ендогенної інтоксикації, яка зумовлює декомпенсацію життєво важливих систем організму з подальшим розвитком множинної дисфункції органів (MODS) [4, 5]. З огляду на те, що рання діагностика має вирішальне значення для поліпшення показників виживаності пацієнтів, нині більшість дослідників спрямовують свої зусилля на пошуки біомаркерів захворювань органів ГПБЗ з достатньою чутливістю і специфічністю.

Мета дослідження: вивчити стан вільнорадикальних процесів, ПОЛ, антирадикального захисту, вміст окремих цитокінів у сироватці крові хворих з бластоматозною жовтяницею.

Матеріали і методи дослідження

Для вирішення поставлених основних завдань було обрано 80 хворих у віці від 38 до 83 років із злоякісними новоутвореннями органів ГПБЗ, ускладненими ОЖ, що перебували на лікуванні в Інституті загальної та невідкладної хірургії імені В. Т. Зайцева НАМН України (м.Харків) протягом 2010 – 2018 рр.

Критерієм включення хворих до дослідження була наявність у них ОЖ пухлинного генезу. Критерії невключення хворих до дослідження: доброякісна етіологія захворювання, небажання хворого брати участь в дослідженні.

Всіх хворих для оцінки і прогнозування післяопераційних результатів розподілили на три групи в залежності від класу тяжкості ОЖ, визначеного за класифікацією Е. І. Гальперіна [6]: 1–шу групу склали 18 (22,5%) хворих з жовтяницею класу А, 2–гу групу – 32 (40%) хворих з жовтяницею класу В, 3–тю групу – 30 (37,5%) хворих з жовтяницею класу С. Всім хворим проведено комплексне клініко–лабораторне обстеження, яке включало клінічний аналіз крові і сечі, біохімічний аналіз крові, коагулограму за уніфікованими методиками, а також електрокардіографію, рентгенологічні дослідження органів грудної та черевної порожнин. Крім перерахованих методів, програма обстеження передбачала вивчення стану оксидантної та антиоксидантної систем за показниками вмісту в сироватці крові малонового діальдегіду (МДА), дієнових кон'югатів (ДК) та активності ферментів каталази і церулоплазміну. Вміст МДА в сироватці крові визначали флюорометричним методом за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, запропонованим Т. К. Федоровою [7], вміст ДК – спектрофотометричним методом, описаним А. Б. Косухіним [8]; активність каталази – електрофотометричним методом за швидкістю утилізації перекису водню з інкубаційного середовища в кольоровій реакції з молібдатом амонію, про який повідомила Е. Е. Дубініна [9], активність церулоплазміну – за методом Равіна, застосованим К. А. Мошковим [10].

З метою оцінки рівня ендогенної інтоксикації в сироватці крові визначали вміст середньомолекулярних пептидів (СМП) скринінг–методом з подальшим вимірюванням молекулярних пептидів на спектрофотометрі (СФ–46) в ультрафіолетовому світлі з довжиною хвилі 254 нм [11]. Суть його полягає в реєстрації спектрограми супернатанта плазми крові в монохроматичному світловому потоці з довжинами хвиль 254 і 280 нм. Плазму крові отримували шляхом центрифугування зі швидкістю 3000 обертів за 1 хв протягом 30 хв. Після центрифугування плазму відбирали і здійснювали осадження крупномолекулярних білків 10% розчином трихлороцтової кислоти у співвідношенні 2:1. В подальшому виконували спектрофотометрію водного розчину супернатанта з довжинами хвиль 254 і 280 нм.

Рівень накопичення вільних радикалів і продуктів перекисного окислення ліпідів оцінювали за допомогою надслабкої люмінолзалежної індукованої біохемілюмінесценції, яку реєстрували на медичному біохемілюмінометрі (ХЛМЦ1–01) в діапазоні обліку квантів світла за допомогою фотоелектронного помножувача (ФЕП–130).

Рівень аміаку (NH₃) в сироватці крові визначали методом іонообмінної хроматографії на іонітах. Після розподілу амінокислот на іонітах їх кількість та рівень NH₃ визначали на автоматичному аналізаторі амінокислот Т–339 (Чеська Республіка).

Програма дослідження включала також визначення в сироватці крові хворих вмісту прозапальних (пробластомних) та протизапальних цитокінів. Вміст про-

Таблиця 1. Вихідні показники сироватки крові хворих з бластоматозною жовтяницею в залежності від класу її тяжкості ($\bar{x} \pm m$)

Показник	Група хворих			
	1-ша (клас А), n = 18	2-га (клас В), n = 32	3-тя (клас С), n = 30	контрольна, n = 17
СМП, ум. од.	0,43±0,038*	0,58±0,049*	0,67±0,034*	0,21±0,014
МДА, мкмоль/л	47,42±3,49*	57,58±4,095*	70,17±3,48*	14,26±2,4
ДК, мкмоль/л	123,3±5,0 *	149,3±5,7*	173,2±3,4*	47,8±4,8
Каталаза, мкат/гНв	2,94±0,06	2,44±0,06*	2,07±0,05*	4,73±0,07
Церулоплазмін, мкмоль/л	4,41±0,24*	6,56±0,21*	8,78±0,43*	2,63±0,12
НН ₃ , нмоль/л	44,69±1,7*	65,27±4,3*	76,39±11,37*	22,4±2,3
<i>Примітка.</i>	* вірогідно у порівнянні з контролем (p < 0,05). Те саме в табл. 2.			

запальних (ІІ–1β, ІІ–6, ІІ–8) та протизапальних (ІІ–4, ІІ–10) медіаторів визначали на аналізаторі STAT FAX – 303 (США), рівень васкулоендотеліального фактора росту (VEGF) – з використанням набору реагентів Human VEGF 96 (Invitrogen Corp., США).

Кров у обстежуваних пацієнтів забирали в ранкові години до прийому їжі з кубітальної вени для отримання плазми без домішок та протягом 30 хв після забору пробірки з кров'ю доставляли в лабораторію для подальшої обробки.

Лабораторні дослідження проведені щодо 17 умовно здорових людей, які склали контрольну групу.

Ультразвукове дослідження проводили всім хворим у 1 – 2-гу добу з моменту госпіталізації на апараті Toshiba arlio 400 (Японія), мультиспіральну комп'ютерну томографію – на апараті Toshiba Asteion (Японія) з додатковим внутрішньовенним контрастуванням за допомогою контрастної речовини (омніпак, ультравіст). Ендоскопічну ретроградну холангіопанкреатографію та ендоскопічні втручання виконували за допомогою апарата фірми Olympus (Японія). Застосовували рентгенологічні методи діагностики пухлинного ураження органів ГПБЗ з використанням апарата Integris Allura 12С фірми Phillips (Нідерланди). Ангіографію виконували з метою визначення васкуляризації пухлини (артеріальна, венозна, паренхіматозна фази), а також ступеня інвазії в судини.

Статистично дані опрацьовували, використовуючи комплекс статистичних програм «Біостатистика», що включав у себе методи варіаційної статистики, кореляційного аналізу з використанням параметричних та непараметричних критеріїв. Інформацію, що містилась у протоколах, вводили в комп'ютер вручну: застосовували параметричний t–критерій Ст'юдента, зв'язки між показниками оцінювали за допомогою непараметричного коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (r); номінальні показники – за допомогою критерію χ^2 Пірсона з довірчим інтервалом 95% (ДІ 95%).

Для оцінки адекватності та точності прогнозування на основі отриманих показників використовували метод побудови та аналізу кривих операційних характеристик (Receiver Operating Characteristic curve analysis) – ROC–кривих. Ефективність моделі вважали обмеженою, якщо площа під ROC–кривою (Area under the ROC Curve – AUC) дорівнювала або була більше 0,70; хорошою – якщо AUC дорівнювала або була більше 0,80; чудовою – якщо AUC дорівнювала або була більше 0,90.

Результати

Обстеженням виявлено, що причиною ОЖ у 37 (46,3%) хворих був рак головки підшлункової залози, у 15 (18,8%) – гепатоцелюлярний рак, у 8 (10%) – рак жовчного міхура, у 8 (8,8%) – холангіокарцинома, у 7 (8,75%) – рак великого сосочка дванадцятипалої кишки, у 6 (7,5%) – метастатичний рак печінки, у 68 (85%) хворих були III та IV стадії захворювання. У всіх пацієнтів використали рентгенхірургічні методи лікування: зовнішнє та внутрішнє черезшкірне черезпечінкове холангіодренування (ЧЧХД), стентування, внутрішньоартеріальну хіміоемболізацію (ВХЕ) та хіміоінфузію як перший та основний етапи лікування. ЧЧХД або ЧЧХД зі стентуванням виконали 36 (45%) хворим, ЧЧХД та ВХЕ – 17 (21,3%), ЧЧХД як перший етап та радикальну операцію як другий етап – 27 (33,8%).

За результатами дослідження стану вільнорадикальних процесів, ПОЛ і антирадикального захисту, проведеного хворим, виявили дисметаболічні порушення кооперативної взаємодії оксидантної та антиоксидантної систем на тлі вираженої ендогенної інтоксикації (табл. 1). Динамічні зміни показників у разі формування бластоматозної жовтяниці суттєво відрізнялися в залежності від класу її тяжкості. В умовах клінічного перебігу жовтяниці класу А вміст СМП у сироватці крові підвищувався в середньому на 87%, вміст НН₃ – на 99,5% у порівнянні з контрольними показниками (p < 0,05); жовтяниці класу В – в середньому на 176,2 та 191,4% відповідно (p < 0,05); жовтяниці класу С – в середньому на 219 та 241% відповідно (p < 0,05). Порівняння середніх міжгрупових показників за критерієм Спірмена показало, що вірогідними відмінностями були тільки між показниками рівня НН₃ у хворих з жовтяницею класів А і В (ДІ 95% від –22,79 до –18,36, t = – 18,66; r=0,48, p=0,045) та у хворих класів В і С (ДІ 95% від 5,3 до 16,94, t=3,882; r=0,63, p=0,006).

Кооперативна взаємодія оксидантної та антиоксидантної систем у хворих з жовтяницею класів А, В і С характеризувалась підвищенням рівня МДА в середньому на 232,5, 303 та 392,1% відповідно (p < 0,05), рівня ДК – в середньому на 157,9, 212,3 та 295,4% відповідно (p < 0,05), активності ферменту церулоплазмину – в середньому на 67,7, 149,4 та 233,8% відповідно (p < 0,05) та зниженням ферменту каталази – в середньому на 37,8, 48,4 та 56,2% відповідно (p < 0,05). З огляду на той факт, що плазмований церулоплазмін синтезується переважно власними клітинами печінки, зміни його активності у хворих цієї категорії пов'язані з ком-

Таблиця 2. Вміст окремих цитокінів у сироватці крові хворих з бластоматозною жовтяницею в залежності від класу її тяжкості ($\bar{x} \pm m$)

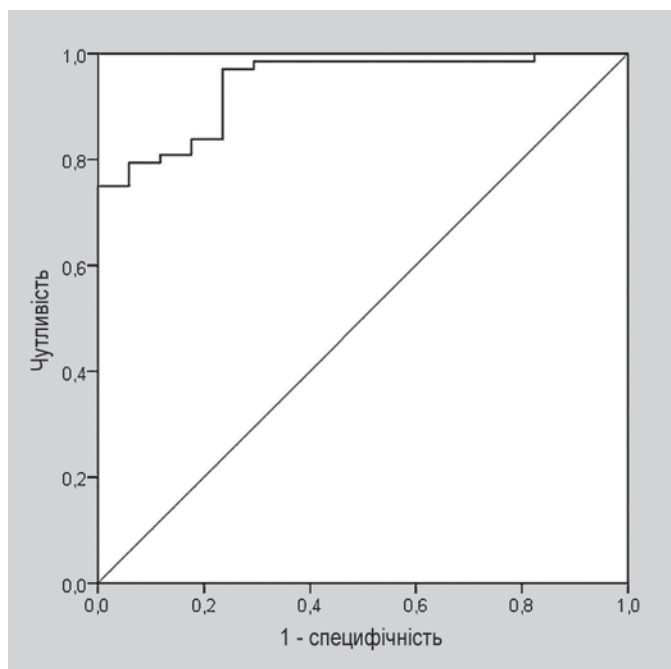
Показник, пг/мл	Група хворих			
	1-ша (клас А), n = 18	2-га (клас В), n = 32	3-тя (клас С), n = 30	контрольна, n = 17
IL-4	5,07±0,3*	3,96±0,27*	2,91±0,24*	9,6±0,18
IL-10	26,8±11,8*	16,99±0,8*	13,3±0,5*	42,7±3,8
IL-1β	14,19±0,83*	18,09±0,6*	21,59±0,97*	5,3±0,6
IL-6	20,68±1,1*	26,57±4,1*	38,55±3,68*	4,2±0,5
IL-8	15,36±0,76*	21,94±1,4*	28,85±1,9*	7,6±0,9
VEGF	706,9±149,7*	978,3±145,1*	1359,1±137,8	126,7±42,7

пенсаторними механізмами, спрямованими на підвищення стабільності всіх клітинних мембран, участю в реакціях імунної відповіді, наданням сильної антиоксидантної дії, оскільки він здатний руйнувати вільні радикали кисню і в такий спосіб запобігати ПОЛ. Порівняння середніх міжгрупових показників за критерієм Спірмена показало, що вірогідними відмінності були між показниками рівня МДА у хворих з жовтяницею класів А і В (ДІ 95% від -12,64 до -7,483, $t = -7,931$; $r = 0,49$, $p < 0,040$) та класів В і С (ДІ 95% від 10,11 до 15,26, $t = 10,015$; $r = 0,55$, $p < 0,020$), а також між показниками активності церулоплазміну у хворих з жовтяницею класів А і В (ДІ 95% від -2,297 до -1,992, $t = -28,585$; $r = 0,63$, $p = 0,006$), у хворих з жовтяницею класів В і С (ДІ 95% від 1,992 до 2,452, $t = 19,645$; $r = 0,59$, $p = 0,011$) та у хворих з жовтяницею класів А і С (ДІ 95% від 4,125 до 4,597, $t = 37,511$; $r = 0,66$, $p = 0,004$). Динаміка активності антиоксиданта каталази свідчить про порушення окислювально-відновлювальних процесів у хворих з раком, перебіг яких відбувається на тлі накопичення активних форм кисню (АФК) та продуктів ПОЛ – МДА і ДК. Шляхом порівняння

середніх міжгрупових показників за критерієм Спірмена вірогідні відмінності констатували між показниками активності каталази у хворих з жовтяницею класів В і С (ДІ 95% від -0,4039 до -0,3361, $t = -19,147$; $r = 0,48$, $p = 0,046$) та хворих з жовтяницею класів А і С (ДІ 95% від -0,9055 до -0,8279, $t = -45,405$; $r = -0,50$, $p = 0,035$).

Результати дослідження прозапальних і протизапальних медіаторів імунної системи у хворих з бластоматозною жовтяницею в залежності від класу її тяжкості свідчать про суттєву відмінність динамічних змін показників (табл. 2). В умовах клінічного перебігу жовтяниці класів А, В і С вміст у сироватці крові IL-1β підвищувався в середньому на 167,8, 241,3 та 307,4% відповідно, вміст IL-6 – в середньому на 392,4, 532,6 та 817,9% відповідно, вміст IL-8 – в середньому на 102,1, 188,7 та 279,6% відповідно в порівнянні з контрольними показниками ($p < 0,05$), а динаміка змін вмісту протизапальних цитокінів була зворотною: рівень IL-4 знижувався в середньому на 48,2, 58,8 та 69,7% відповідно, рівень IL-10 – в середньому на 37,2, 60,2 та 68,9% відповідно ($p < 0,05$). Порівнявши середні міжгрупові показники за критерієм Спірмена, ми виявили вірогідні відмінності між показниками рівня IL-1β у хворих з жовтяницею класів А і В (ДІ 95% від -4,794 до -3,417, $t = -16,236$; $r = 0,48$, $p = 0,046$), у хворих з жовтяницею класів В і С (ДІ 95% від 2,956 до 4,044, $t = -16,236$; $r = 0,56$, $p = 0,016$); між показниками рівня IL-6 у хворих з жовтяницею класів А і В (ДІ 95% від -7,94 до -3,837, $t = -5,834$; $r = 0,57$, $p = 0,015$), у хворих з жовтяницею класів В і С (ДІ 95% від -9,332 до -14,63, $t = -9,186$; $r = 0,49$, $p = 0,042$); між показниками рівня IL-8 у хворих з жовтяницею класів А і В (ДІ 95% від -5,823 до -7,388, $t = -28,585$; $r = 0,49$, $p = 0,042$) та у хворих з жовтяницею класів В і С (ДІ 95% від -8,059 до -2,752, $t = -12,161$; $r = 0,59$, $p = 0,012$); між показниками рівня IL-4 у хворих з жовтяницею класів А і В (ДІ 95% від 0,9154 до 1,318, $t = 11,276$; $r = 0,60$, $p = 0,009$), у хворих з жовтяницею класів В і С (ДІ 95% від 5,823 до 7,388, $t = -28,585$; $r = 0,66$, $p = 0,003$) та класів А і С (ДІ 95% від -2,354 до -1,968, $t = -22,780$; $r = -0,47$, $p = 0,05$), між показниками рівня IL-10 у хворих з жовтяницею класів А і В (ДІ 95% від 8,86 до 10,77, $t = 20,850$; $r = 0,49$, $p = 0,040$) та класів В і С (ДІ 95% від -4,145 до -3,243, $t = -16,647$; $r = 0,58$, $p = 0,013$).

Вивчення рівня VEGF як маркера пошкодження ендотелію виявило, що його показники були вищими в середньому на 457,9, 672,1 та 972,6%, ніж у умовно здорових людей, відповідно до класів А, В і С тяжкості жовтяниці ($p < 0,05$). Порівняння середніх міжгрупових показників рів-



ROC-крива щодо порогового рівня VEGF у хворих з раком та умовно здорових людей:
 $AUC = 0,943$ (ДІ 95% від 0,892 до 0,994).

ня VEGF за критерієм Спірмена показало що вони були вірогідними у хворих з жовтяницею класів А і В (ДІ 95% від -371,2 до -171,5, $t = -5,524$; $r = -0,90$, $p = 0,000$); класів В і С (ДІ 95% від 285,2 до 476,9, $t = 8,080$; $r = 0,726$, $p = 0,000$) та класів А і С (ДІ 95% від 541,5 до 729,8, $t = 13,719$; $r = 0,489$, $p = 0,041$). Це дає підстави припустити, що даний показник є прогностично значущим щодо хворих з бластоматозною жовтяницею. Адекватність прогностичної моделі оцінювали за величиною AUC з урахуванням її ДІ 95% та виключили в подальшому показники, щодо яких ефективність моделі була обмежена (AUC дорівнює або більше 0,70). Оптимальне значення рівня показника прогнозування моделі (поріг) вибирали, виходячи із співвідношення чутливості та специфічності. Встановлено, що рівень VEGF, який становив у середньому 346 пг/мл, був єдиним показником, що мав більшу точність (див. рисунок), у разі порівняння груп хворих з раком і умовно здорових людей (AUC=0,943, чутливість -86,8%, специфічність - 82,4%, загальна точність - 82,3%).

Обговорення

У разі критичних станів різного генезу система детоксикації зазнає значних змін. Ендогенна інтоксикація пов'язана з накопиченням в організмі проміжних і кінцевих продуктів нормального або порушеного обміну речовин (ендогенних токсинів) у кількостях, що перевищують фізіологічну норму. До складу ендогенних токсичних речовин, що утворюються, входять численні хімічні сполуки, які включають продукти протеолізу та ліполізу, циркулюючі імунні комплекси і гуморальні регулятори, біогенні аміни і цитокіни, продукти ПОЛ тощо. Важливою особливістю ендотоксинів є їх висока біологічна активність, вони мають шкідливий вплив на життєдіяльність всіх систем і органів і здатні спричинити їх функціональну неспроможність, а також ускладнити перебіг основного патологічного процесу. У хворих з бластоматозною жовтяницею причинами достовірно частішого виникнення післяопераційних ускладнень, які призводять до високої смертності, є високий рівень білірубіну, жовчних кислот у сироватці крові, низький нутритивного статус, системна і/або поргальна ендотоксемія з розвитком MODS [5]. АФК відіграють важливу роль в патогенезі холестазу [12, 13]. Через порушення функції ендотеліальних клітин і гладком'язових клітин судин, індукованих АФК, виникає ендотеліальна і судинна дисфункція, яка, ймовірно, ініціює і індукує гіпорективність судин і вазодилатацію. Введення антиоксидантів сприяє профілактиці пошкодження печінки, виникнення холестазу [14, 15]. Проте позиція, що антиоксидантна терапія підтримує баланс між оксидантною і антиоксидантною системами, покращує стан судинної реактивності, залишається спірною.

Значну роль у прогресуванні запальних та інших патологічних процесів відводять медіаторам міжклітинної взаємодії – цитокінам, які є продуктами імунокомпетентних клітин, останні водночас є мішенями дії цитокінів [16]. Протягом останніх кількох років накопичено докази того, що хронічне запалення бере участь у розвитку та прогресуванні раку [17]. Ракові клітини здатні розповсюджувати навколо інформацію з клітини до клітини за допомогою

малих запальних сигнальних білків, тобто цитокінів, які як сприяють росту пухлини та полегшують геномну нестабільність, так і стимулюють ангіогенез. Цитокіни секретиються численними типами клітин, включаючи імунні, такі як макрофаги, В-лімфоцити, Т-лімфоцити і тучні клітини, а також стимулюються запальними факторами, такими як ліганди TLR (Toll-like receptors) [18]. Дійсно, загальний аналіз геному показав праймінг регуляторних елементів IFN- γ з синергічною індукцією транскрипції, щоб забезпечити належне хроматинове середовище для збільшення транскрипції генів, індукованої TLR. Це забезпечує транскрипційні відповіді, здатні ремодулювати хроматин, а також підтримувати інгібування сигналізації Jak/STAT1 [19]. Таким чином, цитокіни відіграють важливу роль як ефекторні молекули в оповіщенні і ініціюванні імунологічної відповіді проти патогенів і ракових клітин. Це може призвести до змін їх функції, прогресування хронічного захворювання через аутозапальні та аутоімунні шляхи [20 – 22]. Цитокіни були предметом досліджень протягом багатьох років щодо різних патологічних розладів, і тому їх часто розглядають як біомаркери різних патологічних станів та критерії оцінки ефективності різних методів лікування.

Виявлена нами динаміка змін показників прозапальних та протизапальних цитокінів свідчить, що за наявності бластоматозної жовтяниці формуються аутоімунні порушення і дисфункція клітинної та гуморальної ланок імунної системи, перебіг яких відбувається на фоні активації проліферативних процесів, посилення синтезу прозапальних інтерлейкінів (IL-1 β , IL-6, IL-8) і зниження синтезу протизапальних (IL-4 і IL-10) цитокінів, що свідчить про високий рівень активності клітин – продуцентів прозапальних цитокінів (моноцитів, макрофагів, дендритних і ендотеліальних клітин, кістково-мозкових стромальних клітин, ТН-2 клітин, нейтрофілів, фібробластів, кератиноцитів, гепатоцитів, хондроцитів, епітеліальних клітин тощо). Зазначені зміни здатні підсилити костимуляцію бета-клітин, ТН-клітин, НК-клітин, експресію міжклітинних адгезивних молекул (ICAM) ендотеліальними клітинами. За таких обставин слід очікувати індукцію білків гострої фази гепатоцитами (гаптоглобін, церулоплазмін, С-реактивний білок тощо), прискорення диференціювання проліферуючих В-клітин у плазматичні та стимулювання ними антитілопродукції. Підвищення концентрації IL-8 в сироватці крові свідчить про прискорення активності широкого спектра імунокомпетентних клітин (моноцитів, макрофагів, нейтрофілів, ендотеліальних клітин тощо), що може супроводжуватись стимуляцією хемотаксису нейтрофілів, субпопуляцій Т-лімфоцитів і базофілів. IL-8 активує нейтрофіли до викиду лізосомальних ферментів і дегрануляції, підвищує спорідненість нейтрофілів з ендотеліальними клітинами, індукує вихід лейкоцитриєну V_4 із нейтрофілів і підвищує спорідненість моноцитів з ендотеліальними клітинами. Це створює метаболічні умови для метастазування пухлинних клітин [19, 23]. У своїй біологічній основі зростання рівнів цитокінів та інших клітинних медіаторів спрямовано на забезпечення процесів саногенезу і, зокрема, формування запальної відповіді. Однак значення їх надмірної про-

дукції може бути негативним, оскільки вони мають значну цитотоксичність і є індукторами апоптозу. Значне зниження рівнів IL-4 та IL-10 в сироватці крові свідчить про пригнічення T-хелперів і костимуляцію антигенпримітованих В-клітин, гальмування механізмів переключення синтезу імуноглобулінів на антитіла класу IgG і IgE і інгібування експресії молекул 2 класу головного комплексу гістосумісності (HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ, HLA-D) і їх фагоцитарної активності. Все це свідчить, що у хворих з бластоматозною жовтяницею порушені центральні механізми розвитку і реалізації імунних реакцій, що поєднано з пригніченням клітинної і гуморальної ланок імунної системи. Ендотеліальна дисфункція – патологічний стан, що виникає на фоні порушення продукції ендотеліальних факторів та призводить до порушень функції органів і систем організму, які виникають на фоні дисбалансу між продукцією судинорозширюючих, ангіопротекторних, ангіопроліферативних факторів – з одного боку і вмістом судинозвужуючих, протромботичних, проліферативних – з іншого [21, 22].

Стан ендотелію є одночасно причиною і наслідком багатьох захворювань, що пов'язано з модифікаціями ендотеліального фенотипу, представленими маркерами, і біохімічним профілем крові, представленим біомаркерами. Як відомо, ендотелій бере участь у регуляції судинного тону, проникності судин, адгезії тромбоцитів і лейкоцитів, ангіогенезі, тромборезистентності, імунній відповіді, синтезі медіаторів запалення та їх інгібіторів, а також здійснює бар'єрні функції. Важливою функцією ендотелію є продукція оксиду азоту, що підтримує базальний тонус судин і бере участь у здійсненні вазодилатації у відповідь на дію різноманітних стимулів. Виробництво білків VEGFxxx може бути викликано в клітинах, які не отримують достатньої кількості кисню. Коли клітина відчуває дефіцит кисню, вона виробляє фактор транскрипції, індукований гіпоксією (HIF), який, окрім інших функцій, зокрема, модулює еритропоезу, стимулює вивільнення білків VEGFxxx. Циркулюючий білок VEGFxxx потім зв'язується з VEGF-рецептором на клітинах ендотелію і активує дію тирозинкінази, запускаючи ангіогенез. У численних дослідженнях доведено зниження показника загальної виживаності і одужання у хворих з різними злоякісними пухлинами у разі надмірної експресії VEGF, яка може бути першим кроком у процесі метастазування та стадією, на якій починає діяти «ангіогенний перемикач». Хоча підвищення рівня VEGF пов'язують з низькою виживаністю, точний механізм його дії щодо прогресування злоякісних пухлин залишається нез'ясованим [24].

Висновки

1. Результати вивчення динаміки кооперативної взаємодії оксидантних та антиоксидантних процесів у хворих з бластоматозною жовтяницею вказують на активацію вільнорадикальних процесів, ПОЛ і пригнічення антиоксидантної системи, які ініціюють розвиток мембранної патології. Динамічна оцінка показників оксидантно-антиоксидантних процесів у хворих цієї категорії має важливе діагностичне значення в диференціації тяжкості патологічних станів.

2. Неспроможність функціональних систем організму у хворих з раком органів ГПБЗ у поєднанні з розвитком ендотеліальної дисфункції під дією вільнорадикальних процесів і цитонів, чому сприяє накопичення АФК та токсичних продуктів обміну, корелює із ступенем тяжкості перебігу жовтяниці.

3. Пороговий рівень VEGF, який становив у середньому 346 пк/мл у разі порівняння хворих з раком органів ГПБЗ і умовно здорових людей (чутливість – 86,8%, специфічність – 82,4%, загальна точність – 82,3%, AUC=0,943), можна використовувати в клінічній практиці для виявлення хворих з метою подальшої верифікації у них бластоматозного процесу.

Підтвердження

Фінансування

Це дослідження є фрагментом НДР "Удосконалення та розробка методів діагностики і хірургічного лікування захворювань і травм органів черевної порожнини та грудної клітки, судин верхніх та нижніх кінцівок з використанням мініінвазивних методик у пацієнтів на високий ризик розвитку післяопераційних ускладнень". Номер держреєстрації 0116u004991 (2016–2018). Фінансування за рахунок бюджету.

Внесок авторів

Всі автори внесли однаковий внесок у цю роботу. Всі автори прочитали і схвалили остаточний варіант рукопису.

Конфлікт інтересів

Автори, які взяли участь в цьому дослідженні, заявили, що у них немає конфлікту інтересів щодо цього рукопису.

Згода на публікацію

Всі автори дали згоду на публікацію цього рукопису.

References

1. Ballinger AB, Woolley JA, Ahmed M, Mulcahy H, Alstead EM, Landon J, et al. Persistent systemic inflammatory response after stent insertion in patients with malignant bile duct obstruction. *Gut*. 1998 Apr; 42(4):555–9. doi: 10.1136/gut.42.4.555.
2. Green J, Better OS. Systemic hypotension and renal failure in obstructive jaundice—mechanistic and therapeutic aspects. *J Am Soc Nephrol*. 1995 May;5(11):1853–71. PMID: 7620083.
3. Kimmoun A, Ducrocq N, Levy B. Mechanisms of vascular hyporesponsiveness in septic shock. *Curr Vasc Pharmacol*. 2013 Mar 1;11(2):139–49. PMID: 23506493.
4. Chan A, Diamandis EP, Blasutig IM. Strategies for discovering novel pancreatic cancer biomarkers. *J Proteomics*. 2013 Apr;81:126–34. doi: 10.1016/j.jprot.2012.09.025.
5. Galperin EI, Momunova ON. Klassifikatsiya tyazhesti mehanicheskoy zheltuhi. *Hirurgiya*. 2014;(1):5–9. [In Russian].
6. Galperin EI. Klassifikatsiya tyazhesti mehanicheskoy zheltuhi. *Annaly hir gepatol*. 2012;(2):26–34. [In Russian].
7. Fedorova TK. Reaktsiya s tiobarbiturovoy kislotoy dlya opredeleniya malonovogo dialdegida v krovi metodom flyuorimetrii. *Lab. delo*. 1983;(3):25–8 [In Russian].
8. Kosuhin AB. Ekstraktsiya lipidov smesy geptan–izopropanol dlya opredeleniya dienovykh konyugatov. *Lab Delo*. 1987;(5):335–7 [In Russian].
9. Dubinina EE. Metodyi opredelenie aktivnosti katalazyi. *Lab delo*. 1988;8:16–9. [In Russian].
10. Moshkov KA. Opredelenie fermentativnoy aktivnosti i immunoaktivnosti tseruloplazmina v syvorotke krovi cheloveka. *Lab delo*. 1985;(7):390–5 [In Russian].
11. Archakov AI. Okislenie chuzherodnykh soedineniy. *Vestnik AMN SSSR*. 1988;(1):14–23 [In Russian].
12. Copple BL, Jaeschke H, Klaassen CD. Oxidative stress and the pathogenesis of cholestasis. *Seminars in Liver Disease*. 2010 May;30(2):195–204. doi: 10.1055/s-0030-1253228.

13. Yung LM, Leung FP, Yao X, Chen Z-Y, Huang Y. Reactive oxygen species in vascular wall. *Cardiovascular and Hematological Disorders-Drug Targets*. 2006 March; 6(1):1-19. doi: 10.2174/187152906776092659.
14. Barón V, Muriel P. Role of glutathione, lipid peroxidation and antioxidants on acute bile duct obstruction in the rat. *Biochim Biophys Acta*. 1999 Oct 18;1472(1-2):173-80. doi: 10.1016/s0304-4165(99)00118-x.
15. Galicia-Moreno M, Favari L, Muriel P. Antifibrotic and antioxidant effects of N-acetylcysteine in an experimental cholestatic model. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2012 Feb; 24(2): 179-85. doi: 10.1097/MEG.0b013e32834f3123.
16. Capone F, Guerriero E, Sorice A, Colonna G, Ciliberto G, Costantini S. Serum Cytokine Profile Evaluation: A Tool to Define New Diagnostic and Prognostic Markers of Cancer Using Multiplexed Bead-Based Immunoassays. *Mediators Inflamm*. [Internet]. 2016;2016:3064643. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2016/3064643/>. doi: 10.1155/2016/3064643.
17. Katz, SC, Ryan, K, Ahmed N, Plitas G, Chaudhry, UI, Kingham TP, et al. Obstructive jaundice expands intrahepatic regulatory T cells, which impair liver T lymphocyte function but modulate liver cholestasis and fibrosis. *J Immunol*. 2011 Aug 1;187(3):1150-6. doi: 10.4049/jimmunol.1004077.
18. Hu X, Ivashkiv LB. Cross-regulation of signaling pathways by interferon- γ : implications for immune responses and autoimmune diseases. *Immunity*. 2009 Oct 16;31(4):539-50. doi: 10.1016/j.immuni.2009.09.002.
19. Mlecnik B, Bindea G, Kirilovsky A, Angell HK, Obenauf AC, Tosolini M, et al. The tumor microenvironment and Immunoscore are critical determinants of dissemination to distant metastasis. *Science Translational Medicine*. 2016 Feb 24; 8(327):327ra26. doi:10.1126/scitranslmed.aad6352.327ra26.
20. Church SE, Galon J. Tumor microenvironment and immunotherapy: the whole picture is better than a glimpse. *Immunity*. 2015;43(4):631-633. doi: 10.1016/j.immuni.2015.10.004.
21. Elenkov IJ, Iezzoni DG, Daly A, Harris AG, Chrousos GP. Cytokine dysregulation, inflammation and well-being. *Neuroimmunomodulation*. 2005;12(5):255-69. doi: 10.1159/000087104.
22. Waite JC, Skokos D. Th17 response and inflammatory autoimmune diseases. *Int J Inflamm*. 2012;2012:819467. doi: 10.1155/2012/819467.
23. Costantini S, Capone, Guerriero E, Castello G. An approach for understanding the inflammation and cancer relationship. *Immunology Letters*. 2009 Sept 22;126(1-2):91-2. doi: 10.1016/j.imlet.2009.08.006.
24. Victor WM, van Hinsbergh VWM. Endothelium—role in regulation of coagulation and inflammation. *Semin Immunopathol*. 2012 Jan;34(1):93-106. doi: 10.1007/s00281-011-0285-5.

Отримана 09.10.2018