

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД „УЖГОРОДСЬКИЙ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ”

**ПІДГІРНИЙ
БОГДАН ЯРОСЛАВОВИЧ**

УДК 616.37-002-036.11-005.3-08

**ПЕРЕХРЕСНІ МЕХАНІЗМИ ЗАПАЛЕННЯ І ГЕМОСТАЗУ В ЛІКУВАННІ
ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ПАНКРЕАТИТ**

14.01.03 – хірургія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Ужгород – 2017

Дисертація є на правах рукопису.

Робота виконана у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **Чуклін Сергій Миколайович** – професор кафедри хірургії №1 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького МОЗ України

Офіційні опоненти:

- доктор медичних наук, професор **Русин Василь Іванович** – професор кафедри хірургічних хвороб Державного вищого навчального закладу „Ужгородський національний університет” МОН України;
- доктор медичних наук, професор **Березницький Яків Соломонович** – завідувач кафедри хірургії №1 Державного закладу „Дніпропетровська медична академія МОЗ України”.

Захист відбудеться „ 29 ” _____травня_____2017 р. о 13:00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 61.051.08 у Державному вищому навчальному закладі „Ужгородський національний університет” МОН України (88000, м. Ужгород, пл. Народна, 3)

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Державного вищого навчального закладу „Ужгородський національний університет” МОН України (88000, м. Ужгород, пл. Народна, 3)

Автореферат розісланий „ 27 ” квітня 2017 р.

Т.в.о. вченого секретаря
спеціалізованої вченої ради,
д.мед.н., професор



Потапчук А.М.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. У 70-80% хворих на гострий панкреатит (ГП) спостерігається легкий перебіг, але у 20-30% пацієнтів захворювання перебігає тяжко з істотною смертністю до 30-40% (Agarwal S. et al., 2016; Pora C. C. et al., 2016; Shen X. et al., 2016). Органна недостатність є провідним фактором, що визначає тяжкість і є основною причиною ранньої смертності, у той час як вторинні інфекції, зокрема, інфікований панкреонекроз і сепсис, відповідальні за пізні смертельні випадки (Banks P. A. et al., 2013).

Патогенез ГП продовжує залишатися загадкою для вчених. Проте, значні досягнення в галузі фундаментальних досліджень в останнє десятиріччя покращили відомості про патофізіологічні процеси при ГП. Цитокіни (Чуклін С. М., Гранат О. Б., 2013; Huan C. et al., 2016; Jiang Y. et al., 2016; Pendharkar S. A. et al., 2016), вільні радикали кисню і нітрогену (Чуклін С. М. та ін., 2011; Escobar J. et al., 2012; Chooklin S., 2014; Abogresha N. M. et al., 2016; Baser H. et al., 2016; Criddle D. N., 2016), Ca^{2+} (Pérez S. et al., 2015; Criddle D. N., 2016; Gryshchenko O. et al., 2016), стрес ендоплазматичного ретикулуму (Wu J. S. et al., 2016), нейтрофіли (Korhonen J. T. et al., 2015; Merza M. et al., 2015; Yang Z. W. et al., 2015), аутофагія (Hu Y. Y. et al., 2015; Yu C. et al., 2016; Zhu H. et al., 2016), DAMP (pathogen-associated molecular pattern) (Hoque R. et al., 2012; Kang R. et al., 2014; Habtezion A., 2015), металопротеїнази (Li H. et al., 2015; Wereszczynska-Siemiakowska U. et al., 2015; Nukarinen E. et al., 2016), адіпокіни (Koksal A. R. et al., 2016; Yu P. et al., 2016; Jiang C. Y., Wang W., 2017), ядерний фактор NF- κ B (Kim M. J. et al., 2015; Jakkampudi A. et al., 2016; Li G. et al., 2016), молекули адгезії (Dabrowski A. et al., 2014; Staubli S. M. et al., 2015; Han X. et al., 2016), мітохондріальна дисфункція (Chakraborty M. et al., 2016; Mukherjee R. et al., 2016; Shore E. R. et al., 2016), ішемія підшлункової залози (Takeda K. et al., 2007; Tsuji Y. et al., 2010; Tomkötter L. et al., 2016) були визначені важливими чинниками в патогенезі ГП та його системних ускладнень. Але, незважаючи на прогрес у розумінні ранніх подій при ГП, необхідні додаткові дослідження для швидшого і точного прогнозування тяжкого перебігу захворювання, а також конкретнішого і цілеспрямованішого лікування.

Водночас, впровадження фундаментальних наукових знань в клінічну практику відстає, а висока смертність серед хворих на тяжкий ГП пов'язана також із відсутністю специфічного лікування (Русин В. І. та ін., 2012; Werner J. et al., 2012). У теперішній час лікування хворих на ГП, як і раніше, у багатьох випадках є симптоматичним (Maravi Poma E. et al., 2013; Working Group IAP/APA Acute Pancreatitis Guidelines, 2013; Березницький Я. С. та ін., 2014; Italian Association for the Study of the Pancreas (AISP), 2015; Yokoe M. et al., 2015; Greenberg J. A. et al., 2016; Janisch N. H., Gardner T. B., 2016). Хоча, певне зниження летальності було досягнуто завдяки поліпшенню інтенсивної терапії і менш інвазійному хірургічному лікуванню у важких випадках (Working Group IAP/APA Acute Pancreatitis Guidelines, 2013).

Ранні патологічні події при ГП, як місцеві, так і системні, пов'язані із судинними розладами, включаючи активацію і пошкодження ендотелію, порушення регуляції судинного тонуусу, підвищення судинної проникності, збільшення міграції

лейкоцитів до тканин, і активацію коагуляції. Ішемія підшлункової залози (ПЗ) з вазоспазмом, яка передуює некротичним змінам ПЗ на ранній стадії ГП, венозний застій, інтерстиціальний набряк, системне запалення і підвищене зсідання крові, мікротромбози, які супроводжують тяжкий ГП, можуть зіграти ключову роль у розвитку панкреонекрозу і органної дисфункції, порушеннях спланхнічного кровообігу (Takeda K. et al., 2007; Чуклін С. М., Гранат О. Б., 2012; Watanabe T. et al., 2013; Русин В. І. та ін., 2014; Toqué L. et al., 2015; Zhou J. et al., 2016). У зв'язку з тим, що локальне і системне запалення, розлади в системі гемостазу є одними з ключових компонентів патогенезу ГП вже на ранніх його стадіях, а в подальшому і розвитку тромбгеморагічних ускладнень, то цілком актуальним стає питання про включення в комплексну терапію лікування хворих на ГП препаратів з комбінованою антикоагулянтної і протизапальної спрямованістю.

Усе це обумовлює актуальність проблеми і необхідність подальших досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота тісно пов'язана з науковою темою „Клініко-патофізіологічні аспекти анестезіологічного забезпечення операційних втручань та інтенсивної терапії у хворих із порушенням гомеостазу” (№ державної реєстрації 0115U000049, шифр: ІН21.06.001.15) кафедри анестезіології та інтенсивної терапії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Мета і задачі дослідження. Мета дослідження – поліпшення результатів лікування хворих на гострий панкреатит на підставі вивчення взаємозв'язку запалення і гемостазу і застосування низькомолекулярних гепаринів.

Основні завдання дослідження:

1. Вивчити патогенетичні особливості при L-орнітин-індукованому гострому панкреатиті в експерименті.
2. Визначити порушення у системі гемостазу у хворих на ГП.
3. Дослідити окремі медіатори запальної відповіді у пацієнтів з ГП.
4. Визначити особливості зв'язку компонентів запалення і гемостазу у хворих на ГП.
5. Дослідити прогностичну цінність показників гемостазу і запалення при ГП.
6. Обґрунтувати ефективність застосування еноксапарину при ГП в експерименті і клініці.

Об'єкт дослідження – гемостаз і запалення у хворих на гострий панкреатит.

Предмет дослідження – нітрозацийний стрес при L-орнітин-індукованому гострому панкреатиті; показники плазмової і тромбоцитарної ланки гемостазу, природних антикоагулянтів і фібринолізу в залежності від тяжкості перебігу у хворих на ГП; протизапальна і антикоагуляційну терапія у лікуванні ГП в експерименті і клініці.

Методи дослідження. Загальноклінічні, радіологічні, лабораторні для встановлення діагнозу, вибору методу лікування, контролю за перебігом захворювання і ефективністю терапії; колориметричні, імунотурбідиметричні, імуноферментні для оцінки показників гемостазу, цитокінів, С-реактивного білка (СРБ), гідрогену сульфіді (H_2S); статистичні для опрацювання результатів

дослідження. Спеціальні методи дослідження проводилися в Інституті патології крові та трансфузійної медицини НАМН України, сертифікованих лабораторіях „Медіс” і „Сінево”, на кафедрах клінічної лабораторної діагностики і хірургії №2 Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Експериментальна частина роботи виконана в Державному науково-дослідному контрольному інституті ветеринарних препаратів та кормових добавок, на кафедрах біологічної хімії, патологічної анатомії і судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Наукова новизна одержаних результатів. Визначено, що в патогенезі L-орнітин-індукованого гострого панкреатиту у щурів важливу роль грає нітрозацийний стрес і зміни у системі гемостазу, що призводить до ураження багатьох органів і систем.

Проведено оцінку особливостей порушення в системі гемостазу у хворих при різних формах ГП і їх зв'язок з медіаторами запальної відповіді. Визначено, що глибина цих змін залежить від тяжкості ГП. Уперше встановлено, що тяжкість патологічного процесу, стану хворих на ГП, виникнення органної дисфункції і її важкість корелюють із запально-індукованою тромбофілією у цих пацієнтів.

Обґрунтована доцільність застосування еноксапарину у лікуванні хворих на тяжкий гострий панкреатит, що обумовлено його антикоагуляційною, протизапальною і ендотелій-протективною дією.

Практичне значення одержаних результатів. Розширене дослідження показників гемостазу і маркерів запалення дає можливість оцінити ступінь вираженості коагулопатії у хворих на ГП. Запропоновано застосовувати у лікуванні хворих на ГП середньої тяжкості і тяжкий ГП низькомолекулярні гепарини. Це дозволяє знизити необхідність у великих операційних втручаннях, скорегувати органну і поліорганну дисфункції, зменшити летальність.

Результати роботи впроваджено у навчальний процес на кафедрах анестезіології та інтенсивної терапії, хірургії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, використовуються у діагностично-лікувальному процесі медичних закладів міст Львова, Івано-Франківська, Рівного.

Особистий внесок здобувача. Автор визначив мету і завдання дослідження, брав участь в обстеженні та лікуванні багатьох хворих. Конкретні результати досліджень, їх статистичний аналіз і узагальнення здобувач отримав і провів самостійно. Автор визначив особливості перехресних взаємозв'язків між запаленням і гемостазом у хворих на ГП, патогенетичну спрямованість лікування.

Результати роботи автор опублікував у статтях, доповідав на національних і міжнародних форумах. Усі матеріали з особливостей виникнення порушень у гемостазі, їх корекції в опублікованих роботах значною мірою належать авторові.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації були представлені на: 48-ій зустрічі Європейського панкреатичного клубу (Ліверпуль, Велика Британія, 2016), XXIII Міжнародному конгресі Асоціації гепатопанкреатобіліарних хірургів країн СНД „Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии” (Мінськ, Білорусія, 2016), 47-ій зустрічі Американської асоціації панкреатологів (Бостон, США, 2016), конференції з міжнародною участю „Структура судинних паттернів та

їх клінічна маніфестація в хірургічній, педіатричній та терапевтичній практиці” (Ужгород, 2016).

Публікації. Матеріали дисертації висвітлено у 18 публікаціях, зокрема в 13 статтях (одинадцять у журналах, включених у міжнародні наукометричні бази даних; з них дві статті у закордонних виданнях) і 5 роботах у матеріалах і тезах конференцій, конгресів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 271 сторінці машинописного тексту і складається зі вступу, шести розділів, висновків, списку використаних джерел літератури і додатку (акти впровадження). Праця ілюстрована 107 рисунками, 44 таблицями, містить список із 361 літературного джерела.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. Робота ґрунтується на проспективному обстеженні 206 хворих на ГП, які перебували на лікуванні протягом 2012-2016 років.

Діагноз гострого панкреатиту ґрунтувався на підставі анамнестичних даних, об'єктивного обстеження, результатів лабораторного, рентгенологічного, ультрасонографічного (УСГ) обстежень, комп'ютерної томографії (КТ) або магнітно-резонансної томографії (МРТ).

Згідно з міжнародними рекомендаціями, основним критерієм у встановленні діагнозу є дві позитивні ознаки з трьох: 1) сильний біль у животі; 2) активність сироваткової амілази і/або ліпази щонайменше у три рази вище за верхню межу норми; 3) характерні ознаки гострого панкреатиту при трансабдомінальній УСГ, КТ або МРТ.

Критерії виключення з дослідження: 1) злоякісні новоутвори; 2) перенесені інфаркт міокарда, порушення мозкового кровообігу; 3) перенесені операції на підшлунковій залозі; 4) вагітність; 5) тяжкі супровідні захворювання легень, печінки, нирок; 6) приймання антикоагулянтів або дезагрегантів протягом трьох місяців до госпіталізації; 7) гіпертригліцеридемічний панкреатит; 8) фульмінантні форми гострого панкреатиту.

У формулюванні діагнозу використовували переглянуту класифікацію Atlanta (2012) (Classification of acute pancreatitis – 2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus) і Детермінантно-основану класифікацію тяжкості гострого панкреатиту (2012) (Determinant-based classification of acute pancreatitis severity: an international multidisciplinary consultation). Згідно із сучасними критеріями легкий панкреатит верифіковано у 51 (24,75%) хворого, середньої тяжкості – у 98 (47,58%), тяжкий – у 57 (27,67%).

Серед госпіталізованих хворих переважали особи чоловічої статі – 145 (70,39%). Вік хворих становив у середньому $47,83 \pm 15,58$ роки. гострий панкреатит частіше виникав у хворих у віці до 45 років – 92 (44,66%) і від 45 до 59 років – 61 (29,61%), що загалом склало 74,27%.

Основним етіологічним чинником захворювання був алкоголь – 141 (68,45%) хворий. Гострий біліарний панкреатит (ГБП) діагностовано у 38 (18,45%) пацієнтів.

У 27 (13,10%) хворих був діагностований ідіопатичний гострий панкреатит, оскільки причину захворювання встановити не вдалося.

Тяжкість панкреатиту у хворих визначали за критеріями Ranson J. H. C. зі співавт. (1974), шкалою BISAP (bedside index for severity in acute pancreatitis) (Wu B. U. et al., 2008). Для оцінки тяжкості стану хворого використовували шкалу APACHE II (Knaus W. A. et al., 1985).

Органну дисфункцію оцінювали за шкалою SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) (Vincent J. L. et al., 1996). Легенева дисфункція верифікована у 60 хворих, серцево-судинна недостатність – у 75. Розлади функції нирок були у 48 хворих. Гострий панкреатит, ускладнений печінковою дисфункцією, діагностований у 78 пацієнтів.

Метаболічна дисфункція, яка проявлялася, зазвичай, гіперглікемією, розвинулася у 79 госпіталізованих.

На біохімічних аналізаторах Cobas e 411 (Roche Diagnostics Ltd., Швейцарія), HumaLyzer 3000 (Human GmbH, ФРН), COBAS INTEGRA 400 plus (Roche Diagnostics Ltd., Швейцарія) визначали вміст у сироватці крові лактатдегідрогенази, АсАТ, АлАТ, γ -глутамілтрансферази, панкреатичної амілази (Р-амілази), ліпази, С-реактивного білка, нітрогену сечовини. Іонізований кальцій вимірювали методом прямої іоноселективної потенціометрії на аналізаторі електролітів АЕК-01 („Квертемед”, Російська Федерація). Показники кислотно-основного балансу визначали аналізатором ACID-BASE CART ABCI („Radiometer”, Данія).

Для рентгенологічного обстеження використовували рентгенапарат з електронно-оптичним перетворювачем Sirescop CX („Siemens”, ФРН).

УСГ виконували ультразвуковими апаратами Acuson XP 128 („Siemens”, ФРН) і Siemens SL-1 („Siemens”, ФРН), SSA-660A XARIO („Toshiba Medical System”, Японія), SonoAce-9900 („Samsung Medical”, Республіка Корея), обов'язково у динаміці. Використовуючи можливості сучасної ультрасонографії, проводили 2D УСГ у режимі енергетичного картування з наступною 3D реконструкцією.

Комп'ютерну томографію виконували томографами „Tomoskan Cx” („Philips”, Нідерланди), „Somatom DR” („Siemens”, ФРН), „Somatom Emotion” („Siemens”, ФРН), CT/e Dual („General Electric”, КНР), 128-зрізовим експертного рівня Toshiba Aquilon CX („Toshiba Medical System”, Японія). Із метою покращання зображення ПЗ використовували контрастно посилену КТ. Тяжкість ураження ПЗ при КТ визначали згідно з критеріями Balthazar E. зі співавт. (1990). Для покращення результатів хірургічного лікування до операції проводили 3D-реконструкцію зображень, отриманих при комп'ютерній томографії.

Для візуалізації патологічного процесу у ПЗ і парапанкреатичних тканинах використовували також магнітно-резонансну томографію, яку проводили томографами Signa Contur 3B („General Electric”, США) і Toshiba Vantage ZGV Atlas („Toshiba Medical System”, Японія). У випадках ГБП додатково виконувалася магнітно-резонансна холангіографія.

При обстеженні частини хворих на ГП також визначали тривалість активованого часткового тромбoplastинового часу (АЧТЧ), тромбінового часу (ТЧ), XIIa-залежного фібринолізу, міжнародне нормоване відношення (МНВ),

концентрацію фібриногену, розчинних фібрин-мономерних комплексів (РФМК), D-димерів, інтерлейкіну 2 (ІЛ-2), інтерлейкіну 6 (ІЛ-6), фактору некрозу пухлин альфа (ФНП- α), сульфиду гідрогену (H_2S), активність антитромбіну III (АТ III). Гематологічні дослідження проводилися з використанням діагностичних наборів фірми „Технологія-Сандарт” (Російська Федерація), для часу XIIa-залежного фібринолізу – „Ренам” (Російська Федерація), для D-димерів – наборів фірми „Siemens” ((DADE BEHRING, ФРН) на напівавтоматичному коагулометрі „Sysmex 560”.

Для визначення цитокінів використовували комерційні набори „Цитокін-стимул Бест” (Російська Федерація) для твердофазового хемілюмінесцентного імуноферментного аналізу. Методики проводили згідно з інструкціями. Оптичну щільність вимірювали на стриповому імуноферментному аналізаторі Stat Fax 303+ („Awareness Technology”, США).

Для оцінки тромбоцитарної ланки гемостазу вивчали внутрішньосудинну активацію тромбоцитів методом мікроскопічного дослідження змін їх форми у циркулюючій крові. Під фазово-контрастним мікроскопом підраховувалися форми тромбоцитів: дискоцитів, дискоехіноцитів, сфероехіноцитів, сфероцитів, сумарна кількість активних форм тромбоцитів. У тому ж препараті підраховували число агрегатів малого розміру (по 2-3 тромбоцита) і число агрегатів великого розміру (по 4 і більше тромбоцитів). Оцінка ступеня агрегації здійснювалася за відносним числом усіх тромбоцитів, залучених до агрегаційної реакції.

При хірургічному втручанні і аутопсії брали проби матеріалу для патоморфологічного дослідження. Зрізи фарбували гематоксилін-еозином, фуксином, метиленовим синім.

Протокол дослідження схвалено університетською комісією з біоетики, відповідно до норм Гельсінської декларації; дослідження виконано з інформованої згоди пацієнтів.

Експериментальна частина роботи виконана на 42 білих щурах лінії Wistar масою 200-250 г відповідно до Європейських рекомендацій по роботі з лабораторними тваринами (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals). Щурі були поділені на три групи: 1 – контрольна (16 інтактних тварин), 2 – з індукованим гострим некротичним панкреатитом (16 щурів), 3 – 10 щурів, яким вводили еноксапарин після індукції панкреатиту. Гострий панкреатит викликали інтраперитонеальною ін'єкцією L-орнітину (3г/кг) (Rakonczay Z. Jr. et al., 2008). З метою корекції мікроциркуляторних і запальних змін після індукції гострого панкреатиту щурам вводили низькомолекулярний гепарин – еноксапарин з розрахунку 100 од/кг: відразу після ін'єкції L-орнітину, через 12 годин, а потім раз на добу. Через п'ять діб тварин виводили з експерименту декапітацією під анестезією.

Проводили біохімічне дослідження, а також визначення показників запалення, оксидативного/нітрозатційного стресу в сироватці крові і тканині ПЗ. Вміст у сироватці крові панкреатичної амілази визначали на біохімічному аналізаторі Cobas e 411 (Roche Diagnostics Ltd., Швейцарія). Концентрацію сульфиду гідрогену (H_2S) визначали за методом Svenson A. (1980), використовуючи діпірідилдісульфат (N, N-

DPD, „Sigma”, США). Активність мілопероксидази (МПО) в ПЗ вимірювали за методом Bradley P. P. зі співавт. (1982). Для визначення активності NO-синтази (Ca^{2+} -залежної і Ca^{2+} -незалежної) використовували комбінацію класичного методу (Salter M. et al., 1991) і сучасну його модифікацію (Chin S. Y. et al., 1999), пристосовану для спектрофотометричного вимірювання одного з продуктів реакції – L-цитруліну. Для визначення активності iNOS використовували методику, аналогічну попередньої, з деякими відмінностями: для визначення активності Ca^{2+} -незалежної NOS в інкубаційну суміш замість CaCl_2 додавали 2 мкмоль EDTA. Сумарну активність cNOS (eNOS + nNOS) обчислювали, віднімаючи від сумарної активності NOS активність iNOS. Активність ферментів виражали в нмоль новоутвореного L-цитруліну за 1 хв в розрахунку на 1 мг загального білка в пробі.

Аутопсійне дослідження експериментальних тварин проведено за загальноприйнятою методикою. Гістологічні препарати забарвлювали гематоксилін-еозином.

Статистичне обчислення показників проводили непараметричними методами з допомогою стандартних комп'ютерних програм (Statistica Version 6, StatSoft, Inc.; SPSS Statistics 17.0, IBM) з визначенням середнього арифметичного (M), стандартного відхилення (SD). Різницю між незалежними групами обчислювали за Mann-Whitney, залежними – за Wilcoxon. Використовували також критерій χ^2 Pearson. Різницю вважали істотною при $p < 0,05$. Проводили також кореляційний аналіз Spearman з вичисленням R, Pearson з визначенням коефіцієнта кореляції r, дисперсійний (ANOVA) і дискримінантний аналіз.

Результати досліджень. Сучасне лікування хворих на ГП неможливе без з'ясування патогенетичних механізмів розвитку захворювання. До теперішнього часу механізми, відповідальні за системні прояви ГП, розкриті недостатньо. Незамінною підмогою у даному питанні залишається вивчення ГП в експерименті на лабораторних тваринах.

При експериментальному L-орнітин-індукованому ГП у щурів в тканині ПЗ істотно, у середньому в 2,99 рази, зростала активність МПО ($Z = -4,82418$, $p = 0,000001$), яка вірогідно прямо корелювала з концентрацією P-амілази у сироватці крові ($R = 0,586087$, $p = 0,002616$). У щурів з ГП підвищувалась активність iNOS у ПЗ (у 1,9 рази порівняно з групою інтактних щурів, $Z = -3,31608$, $p = 0,000913$), а активність кальцій-залежної NO-синтази практично не змінювалася, що говорить про зсув синтезу оксиду нітрогену у патологічний бік. Концентрація МПО у ПЗ істотно прямо корелювала з активністю індукбельної NOS ($R = 0,625071$, $p = 0,001868$) і зворотно з часткою конститутивної NOS ($R = -0,731225$, $p = 0,000111$). Така ж кореляційна залежність визначена між рівнем P-амілази у сироватці крові щурів з активністю індукбельної ($R = 0,704122$, $p = 0,000255$) і часткою конститутивної NOS ($R = -0,785432$, $p = 0,000015$) у тканині ПЗ.

З посиленням запального процесу у ПЗ при L-орнітин-індукованому ГП у щурів спостерігалися зміни у плазмовій ланці гемостазу у бік гіперкоагуляції, про що свідчила вірогідна пряма кореляційна залежність між рівнем МПО у тканині ПЗ і концентрацією фібриногену у плазмі крові ($R = 0,660607$, $p = 0,037588$), зворотна – із часом рекальцифікації плазми ($R = -0,810991$, $p = 0,004414$). Водночас, зниження

активності cNOS у тканині ПЗ щурів супроводжувалося достовірним зростанням рівня фібриногену у плазмі крові ($R=-0,759389$, $p=0,010840$) і скороченням часу рекальцифікації плазми ($R=0,646353$, $p=0,043454$). Відзначено також прямий вірогідний кореляційний зв'язок між концентраціями Р-амілази і фібриногену у крові щурів ($R=0,808781$, $p=0,004611$), і зворотний між рівнем Р-амілази і часом рекальцифікації плазми ($R=-0,774405$, $p=0,008543$).

Пошкодження органів-мішеней при експериментальному ГП проявлялася не тільки морфологічно, а і функціонально. Зокрема, у щурів зростала на 86,86% концентрація креатиніну у сироватці крові. При цьому рівень креатиніну істотно прямо корелював з концентрацією МПО ($R=0,745455$, $p=0,013330$) і активністю iNOS ($R=0,672727$, $p=0,033041$) у тканині ПЗ, Р-амілази у сироватці крові ($R=0,660606$, $p=0,037588$).

Із системою оксиду нітрогену тісно взаємодіють інші газотрансмітери – сульфід гідрогену і монооксид вуглецю. Сульфід гідрогену має виражені протизапальні властивості. Рівень H_2S вірогідно знижувався у сироватці крові щурів при L-орнітин-індукованому ГП до $71,71 \pm 7,83$ мкмоль/л (у інтактних щурів $91,98 \pm 3,22$ мкмоль/л) ($Z=4,598048$, $p=0,000004$). Концентрація H_2S достовірно зворотно корелювала з активністю МПО ($R=-0,645262$, $p=0,000005$) і iNOS ($R=-0,679286$, $p=0,000098$) у ПЗ, концентрацією Р-амілази у сироватці крові ($R=-0,712917$, $p=0,000001$). Зі зменшенням рівня H_2S у сироватці крові знижувалася і частка фізіологічного конститутивного синтезу NO в ПЗ ($R=0,724089$, $p=0,000139$).

Отримані результати експерименти свідчать про вагоме значення у патогенезі некротичного ГП нітрозацийного стресу, розладів у гемостазі, недостатності синтезу фізіологічних газотрансмітерів.

Для хворих на ГП були характерними наступні зміни у гемостазі і маркерах запалення:

- АЧТЧ, ТЧ – нормальні або подовжені;
- протромбіновий індекс – понижений;
- МНВ – нормальне або збільшене;
- фібриноген – нормальний або підвищений;
- активність АТ III – понижена;
- час XIIa-залежного фібринолізу – подовжений;
- РФМК і D-димери – підвищені;
- кількість активованих форм тромбоцитів – збільшена;
- кількість тромбоцитів, залучених в агрегати – побільшена;
- ІЛ-2, ІЛ-6, ФНП- α – підвищені;
- СРБ – збільшений;
- НЛС – підвищене;
- H_2S – нормальний або понижений.

При цьому нормальні показники були притаманні, зазвичай, хворим на легкий ГП, змінені – хворим на ГП середньої тяжкості і тяжкий ГП. Зокрема, зміна показників була суттєвішою з наростанням тяжкості запального процесу у ПЗ.

Паралельно, було визначено, що гіперкоагуляційні чинники у крові хворих на ГП посилювали дію один одного. На цьому тлі подовжувався фібриноліз і зменшувалася активність АТ ІІІ. Прозапальні чинники також стимулювали, як правило, синтез один одного і пригнічували продукцію протизапальних.

Проведений аналіз встановив, що прозапальні цитокіни і СРБ підвищують концентрацію фібриногену, D-димерів і РФМК (крім ФНП- α) у плазмі хворих на ГП, знижують активність АТ ІІІ, пригнічують фібриноліз (крім ІЛ-6) і сприяють активуванню тромбоцитів (табл.1). Сульфід гідрогену, як протизапальний агент, має зворотний вплив на гемостаз, але істотно не впливав на концентрацію фібриногену (табл.1). Паралельно, скорочення АЧТЧ змінюється його подовженням, а ТЧ є збільшеним.

Таблиця 1 – Взаємозв'язок між показниками запалення і гемостазу у хворих на ГП (вірогідні прямі або зворотні кореляційні зв'язки)

Показники гемостазу	Маркери запалення					
	ІЛ-2	ІЛ-6	ФНП- α	СРБ	НЛС	H ₂ S
АЧТЧ	- +	- +	- +	- +		+
ТЧ	+	+	+	+	+	-
фібриноген	+	+	+	+		
D-димери	+	+	+	+		-
РФМК	+	+		+		-
АТ ІІІ	-	-	-	-	-	+
час ХІІа-залежного фібринолізу	+		+	+		-
активовані тромбоцити	+	+	+	+		-

Таким чином, у хворих на тяжкий і середньої тяжкості ГП спостерігається характерна картина запально-індукованої тромбофілії: зростання прокоагуляційних чинників, зниження активності природних антикоагулянтів, пригнічення фібринолізу, активування тромбоцитів. Подовження АЧТЧ і ТЧ на цьому тлі є, швидше за все, результатом присутності в крові продуктів деградації фібрину – D-димерів і РФМК.

Аналіз взаємозв'язків запалення і гемостазу у хворих на ГП дозволив визначити, що виникнення серцево-судинної, легеневої, ниркової, метаболічної дисфункції супроводжується активуванням плазмової ланки гемостазу і тромбоцитів, недостатньою активністю природних антикоагулянтів (АТ ІІІ), підвищеним синтезом білків гострої фази (СРБ), надмірною продукцією прозапальних цитокінів, зниженою концентрацією протективних газотрансмітерів (H₂S) (табл.2). Проте, вагому роль у патогенезі печінкової дисфункції грало тільки активування тромбоцитів і їх агрегація. А пригнічення фібринолізу було визначальним тільки у перебігу серцево-судинної недостатності.

Таблиця 2 – Вплив компонентів гемостазу і запалення на виникнення органної дисфункції у хворих на ГП

Показники гемостазу і запалення	Види дисфункції				
	серцево-судинна	легенева	ниркова	печінкова	метаболічна
АЧТЧ	↓	↓	↓		↓
МНВ	↑				
ТЧ	↑	↑	↑		↑
фібриноген	↑	↑	↑		
АТ III	↓	↓	↓		↓
час фібринолізу	↑				
РФМК	↑	↑	↑		↑
D-димери	↑	↑	↑		↑
активовані тромбоцити	↑	↑	↑	↑	↑
тромбоцити в агрегатах	↑	↑	↑	↑	↑
ІЛ-2	↑	↑	↑		↑
ІЛ-6	↑	↑	↑		↑
ФНП- α	↑	↑	↑		↑
НЛС	↑	↑			
СРБ	↑	↑	↑		↑
H ₂ S	↓	↓	↓		

За допомогою дискримінантного аналізу були здійснена спроба визначити параметри запалення і гемостазу, які можуть впливати на виникнення органної дисфункції у хворих на ГП. При цьому ці чинники впливають, зазвичай, комплексно, а не поодиночі. Так у розвитку ниркової недостатності з оцінених 17 показників гемостазу і запалення провідну роль грають зниження активності АТ III ($F=19,09067$, $p=0,000052$) і високі концентрації ІЛ-6 ($F=5,83783$, $p=0,018854$) і ФНП- α ($F=5,47815$, $p=0,022716$), легеневої дисфункції – високий рівень РФМК ($F=6,648397$, $p=0,012532$) і подовження ТЧ ($F=8,294143$, $p=0,005594$), серцево-судинної недостатності – збільшення відсотка активованих тромбоцитів ($F=21,68247$, $p=0,000021$), пригнічення фібринолізу ($F=22,26508$, $p=0,000017$), подовження ТЧ ($F=16,44816$, $p=0,000162$). Для прогнозування виникнення органної дисфункції у хворих на ГП деякі показники окремо можна було використати тільки для легеневої і ниркової недостатності. За кривою ROC чутливість визначення РФМК для прогнозування легеневої дисфункції у хворих на ГП склала 86,2%, а специфічність – 83,8%, з позитивною і негативною прогностичною цінністю 80,65% і 88,57%, відповідно (пороговий рівень 137,50 мг/л). Чутливість визначення ІЛ-6 для прогнозування ниркової дисфункції склала 76%, а специфічність – 78% (пороговий рівень 111,30 пг/мл) з позитивною і негативною прогностичною цінністю 67,86% і 84,21%, відповідно.

Тяжкість ГП, визначеного за шкалами Ranson і BISAP, важкість стану хворого за APACHE II і органної дисфункції за шкалою SOFA, важкість ураження ПЗ за шкалою Balthazar, асоціювалися зі скороченням АЧТЧ, подовженням ТЧ,

зменшенням активності АТ ІІІ, збільшенням продуктів деградації фібрину (РФМК і D-димерів), підвищеним активуванням тромбоцитів і їх агрегацією, високим синтезом прозапальних цитокінів і СРБ (крім тяжкості ураження ПЗ за шкалою Balthazar), збільшенням нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення (НЛС) і зниженням концентрації H_2S (табл.3).

Таблиця 3 – Зв'язок компонентів гемостазу і запалення з тяжкістю ГП, важкістю стану хворого і ураження ПЗ у хворих на ГП

Показники гемостазу і запалення	Шкала				
	Ranson	BISAP	APACHE II	SOFA	Balthazar
АЧТЧ	–	–	–	–	–
ТЧ	+	+	+	+	+
фібриноген	+		+	+	
АТ ІІІ	–	–	–	–	–
час фібринолізу		+		+	
РФМК	+	+	+	+	+
D-димери	+	+	+	+	+
активовані тромбоцити	+	+	+	+	+
тромбоцити в агрегатах	+	+	+	+	+
ІЛ-2	+	+	+	+	+
ІЛ-6	+	+	+	+	+
ФНП- α	+	+	+	+	+
НЛС	+	+	+	+	+
СРБ	+	+	+	+	
H_2S	–	–	–	–	–

Останнім часом збільшився інтерес до використання у лікуванні хворих на ГП гепарину, оскільки антикоагуляційний механізм його дії також поєднується з протизапальним ефектом.

Еноксапарин в нашому експериментальному дослідженні на щурах при L-орнітин-індукованому ГП зменшував пошкодження підшлункової залози й інших органів на тлі пригнічення нітрозацийного стресу, запалення, нормалізації гемостазу.

У клініці ми застосовували еноксапарин у комплексному лікуванні 35 хворих на ГП середньої тяжкості і 31 – на тяжкий у дозі 40 мг підшкірно раз на добу протягом 13-14 діб. У двох хворих на тяжкий ГП з важкою нирковою недостатністю еноксапарин вводився у дозі 20 мг. Геморагічних ускладнень і тромбоцитопенії при цьому не спостерігали. Результати лікування порівнювали із хворими, які отримували подібне лікування, але без еноксапарину (група порівняння). Групи були тотожними за вихідними параметрами при надходженні в лікарню.

Введення еноксапарину у комплекс лікування хворих на ГП середньої тяжкості сприяло покращенню показників гемостазу і мало протизапальний ефект. Це покращувало стан хворих, зменшуючи тяжкість за шкалою APACHE II від $9,54 \pm 1,01$ пунктів до $5,52 \pm 1,31$ (у групі порівняння від $9,48 \pm 1,01$ до $7,49 \pm 1,58$) ($p < 0,05$). Летальність зменшилася від 7,94% до 2,86%, але цей показник не був вірогідним ($\chi^2 = 1,01$; $p = 0,3149$).

У 9 хворих на ГП середньої тяжкості, яким вводили еноксапарин, було проведено операційні втручання. У 4 пацієнтів проведено відкрите лапаротомне втручання, яке полягало в некрсеквестректомії з дренажуванням заочеревинного простору, чепцевої сумки силіконовими дренажами для здійснення післяопераційного пролонгованого лаважу, доповнену в одного хворого спленектомією. Релапаротомію для повторної некрсеквестректомії застосовано в одного хворого. Малоінвазійні втручання виконано п'ятьом пацієнтам. Двадцять вісім хворих із 63, які не отримували в комплексі лікування еноксапарину, вимагали хірургічного лікування. Проте, тільки у 19 виконано відкрите лапаротомне втручання, а у 9 – малоінвазійне. При некрсеквестректомії також було виконано холецистектомію (3 хворих), спленектомію (2), резекцію тонкої кишки (2), спленектомію і холецистектомію (1). Двоє хворих потім вимагали релапаротомій з приводу поширення гнійно-некротичного парапанкреатиту. Отже, частота застосування відкритої некрсеквестректомії зменшувалася при застосуванні еноксапарину у комплексній терапії хворих на ГП середньої тяжкості ($\chi^2=4,39$; $p=0,0361$).

Введення еноксапарину у комплексне лікування хворих на тяжкий ГП також дозволило зменшити процеси запалення і зміни у системі гемостазу. Це зумовлювало покращення стану хворих, враховуючи пунктову оцінку за шкалою APACHE II (від $11,94 \pm 1,39$ пунктів до $6,96 \pm 1,63$; у групі порівняння від $12,42 \pm 1,42$ до $10,18 \pm 1,44$, $p < 0,05$) і тяжкість органної дисфункції за шкалою SOFA (від $5,74 \pm 1,39$ пунктів до $1,04 \pm 1,60$; у групі порівняння від $5,38 \pm 1,36$ до $3,05 \pm 1,21$, $p < 0,05$). Померло 3 (9,68%) хворих на тяжкий ГП з 31, в яких у комплексі лікування застосовувався еноксапарин, і 8 (30,77%) – з 26, у лікування яких НМГ не вводили ($\chi^2=4,04$; $p=0,0445$).

У 28 хворих на тяжкий ГП було проведено операційні втручання. У 14 (45,16%) пацієнтів, в яких застосовувався еноксапарин (31 хворий), проведено відкриту некрсеквестректомію, доповнену в трьох хворих спленектомією, у трьох – холецистектомією, а в 3 – малоінвазійні втручання. Релапаротомію для повторної некрсеквестректомії застосовано в шести хворих, під час якої в одного хворого також виконано правобічну геміколектомію з приводу некрозу товстої кишки, у двох – спленектомію, в одного – резекцію тонкої кишки. Померло двоє хворих (14,29%). Одинадцять хворих (42,31%) із 26, які не отримували в комплексі лікування НМГ, вимагали хірургічного лікування. В одного пацієнта виконано малоінвазійне втручання, а у 10 (38,46%) хворих проведено лапаротомну некрсеквестректомію, доповнену холецистектомією (2 хворих), спленектомією (2), правобічною геміколектомією (1). Одному хворому потім виконано три релапаротомії з приводу поширення гнійно-некротичного парапанкреатиту. Померло 3 хворих після лапаротомних хірургічних втручань – 30,00%. Отже, попередня гепаринотерапія у хворих на тяжкий ГП не впливала на частоту некрсеквестректомії ($\chi^2=0,26$; $p=0,6099$) і післяопераційну летальність ($\chi^2=0,87$; $p=0,35$), хоча знижувала її в абсолютних величинах від 30,00% до 14,29%.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі знайшло відображення нове вирішення актуального завдання – визначення особливостей взаємозв'язку запалення і гемостазу у хворих на ГП. Експериментально і клінічно обґрунтована доцільність застосування еноксапарину при ГП середньої тяжкості і тяжкому.

1. У патогенезі експериментального L-орнітин-індукованого ГП важливу роль грає нітрозацийний стрес, синтез основних газотрансмітерів – NO і H₂S, порушення у системі гемостазу. Еноксапарин в експериментальній моделі ГП на щурах зменшував пошкодження ПЗ й інших органів на тлі пригнічення нітрозацийного стресу, запалення (нормалізація МПО), покращення гемостазу.
2. Перебіг ГП супроводжується локальним або системним запаленням, змінами у системі гемостазу, вираженість яких асоціюється з тяжкістю захворювання. Особливістю для хворих на тяжкий ГП є поєднання системного запалення (надвисока експресія ІЛ-6, ФНП-α і СРБ) з прокоагуляційними змінами (підвищений фібриноген, знижена активність АТ ІІІ, подовжений фібриноліз, високий рівень РФМК і D-димерів, збільшена кількість активованих тромбоцитів).
3. Існують численні істотні прямі і зворотні кореляційні зв'язки між медіаторами запалення, показниками гемостазу у хворих на ГП. Система гемостазу і запальна відповідь пов'язані загальними шляхами активації, системою регулювання і перехресним зв'язком. Прозапальні цитокіни і СРБ підвищують концентрацію фібриногену, D-димерів і РФМК (крім ФНП-α) у плазмі хворих на ГП, знижують активність АТ ІІІ, пригнічують фібриноліз (окрім ІЛ-6) і сприяють активуванню тромбоцитів. Сульфід гідрогену має зворотний вплив на гемостаз, але істотно не впливає на концентрацію фібриногену.
4. Виникнення серцево-судинної, легеневої, ниркової, метаболічної дисфункції супроводжується активуванням плазмової ланки гемостазу і тромбоцитів, недостатньою активністю природних антикоагулянтів (АТ ІІІ), підвищеним синтезом білків гострої фази (СРБ), надмірною продукцією прозапальних цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-6, ФНП-α), зниженою концентрацією протективних газотрансмітерів (H₂S). Вагому роль у патогенезі печінкової дисфункції грає активування тромбоцитів і їх агрегація.
5. Чутливість визначення РФМК для прогнозування легеневої дисфункції склала 86,2%, а специфічність – 83,8% (пороговий рівень 137,50 мг/л), з позитивною і негативною прогностичною цінністю 80,65% і 88,57%, відповідно. Чутливість визначення ІЛ-6 для прогнозування ниркової дисфункції склала 76%, а специфічність – 78% (пороговий рівень 111,30 пг/мл), з позитивною і негативною прогностичною цінністю 67,86% і 84,21%, відповідно.
6. Тяжкість ГП, визначеного за шкалами Ranson і BISAP, важкість стану хворого за APACHE II і органної дисфункції за шкалою SOFA, важкість ураження підшлункової залози за шкалою Balthazar, асоціюються зі скороченням АЧТЧ, подовженням ТЧ, зменшенням активності АТ ІІІ, збільшенням продуктів деградації фібрину (РФМК і D-димерів), підвищеним активуванням тромбоцитів і їх агрегацією, високим синтезом прозапальних цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-6, ФНП-α) і

СРБ (крім тяжкості ураження ПЗ за шкалою Balthazar), збільшенням НЛС і зниженням концентрації H_2S .

7. У комплексному лікуванні хворих на ГП середньої тяжкості і тяжкий доцільно використовувати еноксапарин. У пацієнтів із ГП середньої тяжкості це зменшувало важкість стану хворих від $9,54 \pm 1,01$ пунктів за шкалою APACHE II до $5,52 \pm 1,31$ (у групі порівняння від $9,48 \pm 1,01$ до $7,49 \pm 1,58$) ($p < 0,05$), потребу у відкритій некрсеквестрехтомії від 30,16% до 11,42% ($\chi^2 = 4,39$; $p = 0,0361$), з тенденцією до зменшення загальної летальності від 7,94% до 2,86% ($\chi^2 = 1,01$; $p = 0,3149$).
8. Введення еноксапарину покращувало стан хворих на тяжкий ГП, враховуючи пунктову оцінку за шкалою APACHE II (від $11,94 \pm 1,39$ пунктів до $6,96 \pm 1,63$; у групі порівняння від $12,42 \pm 1,42$ до $10,18 \pm 1,44$, $p < 0,05$) і важкість органної дисфункції за шкалою SOFA (від $5,74 \pm 1,39$ пунктів до $1,04 \pm 1,60$; у групі порівняння від $5,38 \pm 1,36$ до $3,05 \pm 1,21$, $p < 0,05$), знизило летальність від 30,77% до 9,68% ($\chi^2 = 4,04$; $p = 0,0445$). Попередня гепаринотерапія не впливала на частоту некрсеквестрехтомії (45,16% проти 38,46%, $\chi^2 = 0,26$; $p = 0,6099$).

СПИСОК РОБІТ ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Підгірний Б. Я. Роль мікротромбування органів у хворих з гострим панкреатитом у формуванні поліорганної дисфункції / Б. Я. Підгірний // Медицина неотложных состояний. – 2015. – №3(66). – С. 95-98.
2. Чуклін С. М. Порушення в системі гемостазу у хворих на гострий панкреатит і шляхи корекції / С. М. Чуклін, **Б. Я. Підгірний**, С. С. Чуклін // Медична та клінічна хімія. – 2015. – Т.17, №2. – С. 94-104. (Здобувач провів аналіз літературних джерел і обґрунтував особливості патогенезу розладів гемостазу при гострому панкреатиті)
3. Чуклін С. М. Тромбоз вен портальної системи у хворих на гострий панкреатит / С. М. Чуклін., **Б. Я. Підгірний** // Шпитальна хірургія. – 2015. – №3. – С. 63-69. (Здобувач провів аналіз літературних джерел і висвітлив особливості тромботичних процесів у венах портальної системи при гострому панкреатиті)
4. Чуклін С. М. Гепарини: механізм дії та застосування для лікування хворих на гострий панкреатит / С. М. Чуклін, **Б. Я. Підгірний**, С. С. Чуклін // Львівський клінічний вісник. – 2015. – №2(10)-3(11). – С. 55-60. (Здобувач обґрунтував можливість застосування низькомолекулярних гепаринів у лікуванні хворих на гострий панкреатит)
5. Підгірний Я. М. Ліберальна vs рестриктивна технології інфузійної терапії у хворих на ранній стадії гострого панкреатиту: клініко- економічне обґрунтування / Я. М. Підгірний, **Б. Я. Підгірний** // Клінічна анестезіологія та інтенсивна терапія. – 2015. – №2 (6). – С. 37-45. (Здобувач брав участь в аналітичному та статистичному опрацюванні даних, інтерпретації результатів дослідження та формулюванні висновків)
6. Підгірний Я. М. Вибір емпіричної антибіотикотерапії у хворих з гострим панкреатитом / Я. М. Підгірний, **Б. Я. Підгірний** // Медицина неотложных

- состояний. – 2015. – №5(68). – С. 54-59. (Здобувач брав участь у формулюванні методологічних засад дослідження, опрацюванні його результатів)
7. Підгірний Я. М. Консервативна інтенсивна терапія гострої печінкової дисфункції у хворих із сепсисом / Я. М. Підгірний, О. П. Закотянський, **Б. Я. Підгірний** // Клінічна анестезіологія та інтенсивна терапія. – 2015. – №1 (5). – С. 59-66. (Здобувач брав участь у проведенні досліджень, статистичному опрацюванні результатів)
 8. Підгірний Б. Я. Функціональний стан тромбоцитів у хворих з гострим панкреатитом / Б. Я. Підгірний // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія „Медицина”. – 2016. – №2(54). – С. 116-118.
 9. Підгірний Б. Я. Зміни функціонального стану тромбоцитів у хворих з гострим панкреатитом / Б. Я. Підгірний // Клінічна анестезіологія та інтенсивна терапія. – 2016. – №2. – С. 23-28.
 10. Підгірний Б. Я. Динаміка функціонального стану тромбоцитів у хворих на гострий панкреатит / Б. Я. Підгірний // Медицина неотложных состояний. – 2016. – №8. – С. 116-118.
 11. Чуклин С. Н. Эффективность применения эноксапарина при L-орнитин индуцированном остром панкреатите / С. Н. Чуклин, **Б. Я. Пидгирный**, С. С. Чуклин // MEDICUS. – 2017. – №1. – С. 84-88. (Здобувач окреслив мету та завдання дослідження, брав участь в експерименті, формулюванні висновків)
 12. Підгірний Б. Я. Гемостазіологічні порушення і протизапальна терапія у хворих на гострий панкреатит / Б. Я. Підгірний // Медицина неотложных состояний. – 2017. – №2. – С.
 13. Чуклин С. Н. Влияние эноксапарина на процессы воспаления и гемостаза у больных тяжелым острым панкреатитом / С. Н. Чуклин, **Б. Я. Пидгирный** // MEDICUS. – 2017. – №2(14). – С. 71-78. (Здобувач визначив напрямки дослідження, провів аналітично-статистичне опрацювання отриманих результатів, виклав основні висновки роботи)
 14. Дренирование при остром некротическом панкреатите под УЗ-контролем / С. Н. Чуклин, В. Г. Жемела, И. В. Осмиловская, **Б. Я. Пидгирный**, О. Б. Усач // Хирургия. Восточная Европа. – 2016. Приложение. – С.312-313. (Здобувач визначив особливості проведення малоінвазійних втручань у хворих на гострий панкреатит)
 15. Chooklin S. Enoxaparin protective effect in experimental acute necrotizing pancreatitis / S. Chooklin, S. Chuklin, **В. Pidhirnyy** // Pancreatology. – 2016. – Vol.16, Suppl. – S7. (Здобувач окреслив мету та завдання дослідження, запропонував патогенетичну терапію при гострому панкреатиті)
 16. Chooklin S. Two gaseous transmitters in L-ornithine-induced acute pancreatitis in rats / S. Chooklin, S. Chuklin, **В. Pidhirnyy** // Pancreas. – 2016. – Vol.35. – P.150. (Здобувач брав участь в аналізі експериментальних даних, формулюванні висновків дослідження)
 17. Chooklin S. Correlation of coagulation indicators with inflammatory markers in the acute pancreatitis patients / S. Chooklin, **В. Pidhirnyy** // Pancreatology. – 2016. – Vol.16, Issue 4, Suppl. – S165. (Здобувач брав участь в аналізі клінічного і

лабораторного матеріалу, формулюванні провідних наукових положень і висновків дослідження)

18. Risk factors of portal vein thrombosis in acute pancreatitis / S. Chooklin, **B. Pidhirnyy**, I. Osmilovska, O. Usach // Pancreatology. – 2016. – Vol.16, Suppl. – S91-S92. *(Здобувач провів аналіз клінічного і лабораторного матеріалу, брав участь у формулюванні висновків дослідження)*

АНОТАЦІЯ

Підгірний Б. Я. Перехресні механізми запалення і гемостазу у лікуванні хворих на гострий панкреатит. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.03 – хірургія. – Державний вищий навчальний заклад „Ужгородський національний університет” МОН України, Ужгород, 2017.

Робота є комплексним дослідженням, в якому проведено оцінку особливостей запального процесу і гемостазу при різних формах гострого панкреатиту в клініці і експерименті.

Отримані експериментальні дані свідчать про вагоме значення у патогенезі L-орнітин-індукованого ГП нітрозацийного стресу, розладів у гемостазі, недостатності синтезу фізіологічних газотрансмітерів.

Зміни у гемостазі хворих на тяжкий ГП і ГП середньої тяжкості можна було охарактеризувати, як набуту тромбофілію, яка характеризується первинним активуванням факторів гемокоагуляції, дефіцитом природних антикоагулянтів і фібринолітиків, активуванням міжклітинної взаємодії. Визначено, що гіперкоагуляційні чинники у крові хворих на ГП посилювали дію один одного. На цьому тлі подовжувався час фібринолізу і зменшувалася активність АТ III. Прозапальні чинники також стимулювали, як правило, синтез один одного і пригнічували продукцію протизапальних.

Виникнення серцево-судинної, легеневої, ниркової, метаболічної дисфункції супроводжується активуванням плазмової ланки гемостазу і тромбоцитів, недостатньою активністю природних антикоагулянтів (АТ III), підвищеним синтезом білків гострої фази (СРБ), надмірною продукцією прозапальних цитокінів, зниженою концентрацією протективних газотрансмітерів (H₂S).

Еноксапарин (низькомолекулярний гепарин) при L-орнітин-індукованому ГП у щурів зменшував пошкодження підшлункової залози й інших органів на тлі пригнічення нітрозацийного стресу, запалення, нормалізації гемостазу.

Впровадження у комплексне лікування хворих на гострий некротичний панкреатит еноксапарину дозволило зменшити тяжкість стану пацієнтів і органну дисфункцію, знизити необхідність у відкритих операційних втручаннях, зменшити летальність.

Ключові слова: гострий панкреатит, запалення, гемостаз, поліорганна дисфункція, еноксапарин.

АННОТАЦИЯ

Пидгирный Б. Я. Перекрестные механизмы воспаления и гемостаза в лечении больных острым панкреатитом. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.03 – хирургия. – Государственное высшее учебное заведение „Ужгородский национальный университет” МОН Украины, Ужгород, 2017.

Работа является комплексным исследованием, в котором проведена оценка особенностей воспалительного процесса и гемостаза при различных формах острого панкреатита (ОП) в клинике и эксперименте.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о весомом значении в патогенезе L-орнитин-индуцированного острого панкреатита нитрозативного стресса, расстройств в гемостазе, недостаточности синтеза физиологических газотрансмиттеров.

Нормальные показатели в гемостазе и маркерах воспаления были присущи, как правило, больным легким ОП, измененные – ОП средней тяжести и тяжелым ОП. В частности, изменение показателей было наиболее существенным с нарастанием тяжести воспалительного процесса в поджелудочной железе.

Изменения в гемостазе больных тяжелым ОП и ОП средней тяжести можно было охарактеризовать, как приобретенную тромбофилию, характеризующуюся первичным активированием факторов гемокоагуляции, дефицитом естественных антикоагулянтов и фибринолитиков, активированием межклеточного взаимодействия. Определено, что гиперкоагуляционные факторы в крови больных ОП усиливали действие друг друга. На этом фоне удлинялось время фибринолиза и уменьшалась активность антитромбина III (АТ III). Провоспалительные факторы также стимулировали, как правило, синтез друг друга и подавляли продукцию противовоспалительных. Провоспалительные цитокины и С-реактивный белок (СРБ) повышают концентрацию фибриногена, D-димеров и растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) (кроме фактора некроза опухолей α – ФНО- α) в плазме больных ОП, снижают активность АТ III, подавляют фибринолиз (кроме ИЛ-6) и способствуют активированию тромбоцитов. Сульфид водорода, как противовоспалительный агент, имел обратное влияние на гемостаз, но существенно не влиял на концентрацию фибриногена.

Возникновение сердечно-сосудистой, легочной, почечной, метаболической дисфункции сопровождается активированием плазменного звена гемостаза и тромбоцитов, недостаточной активностью естественных антикоагулянтов (АТ III), повышенным синтезом белков острой фазы (СРБ), избыточной продукцией провоспалительных цитокинов, пониженной концентрацией протективных газотрансмиттеров (H_2S).

С помощью дискриминантного анализа было установлено, что в развитии почечной недостаточности ведущую роль играют снижение активности АТ III и высокие концентрации ИЛ-6 и ФНО- α , легочной дисфункции – высокий уровень РФМК и удлинение тромбинового времени (ТВ), сердечно-сосудистой недостаточности – увеличение процента активированных тромбоцитов, угнетение фибринолиза, удлинение ТВ. По кривой ROC чувствительность определения РФМК

для прогнозирования легочной дисфункции у больных ОП составила 86,2%, а специфичность – 83,8%, с положительной и отрицательной прогностической ценностью 80,65% и 88,57%, соответственно (пороговый уровень 137,50 мг/л). Чувствительность определения ИЛ-6 для прогнозирования почечной дисфункции составила 76%, а специфичность – 78% (пороговый уровень 111,30 пг/мл) с положительной и отрицательной прогностической ценностью 67,86% и 84,21%, соответственно.

Тяжесть ОП, определенного по шкалам Ranson и BISAP, тяжесть состояния больного по APACHE II и органной дисфункции по шкале SOFA, тяжесть поражения поджелудочной железы по шкале Balthazar, ассоциировались с сокращением активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), удлинением ТВ, уменьшением активности АТ III, увеличением продуктов деградации фибрина (РФМК и D-димеров), повышенным активированием тромбоцитов и их агрегации, высоким синтезом провоспалительных цитокинов и СРБ (кроме тяжести поражения поджелудочной железы по шкале Balthazar), увеличением нейтрофильно-лимфоцитарного соотношения (НЛС) и снижением концентрации H_2S .

Эноксапарин (низкомолекулярный гепарин) при L-орнитин-индуцированном ГП у крыс уменьшал повреждения поджелудочной железы и других органов на фоне угнетения нитрозативного стресса, воспаления, нормализации гемостаза.

Введение эноксапарина в комплекс лечения больных ОП средней тяжести способствовало улучшению показателей гемостаза и имело противовоспалительный эффект. Это улучшало состояние больных, уменьшая тяжесть по шкале APACHE II от $9,54 \pm 1,01$ баллов до $5,52 \pm 1,31$ (в группе сравнения от $9,48 \pm 1,01$ до $7,49 \pm 1,58$) ($p < 0,05$). Летальность уменьшилась с 7,94% до 2,86%, но этот показатель не был достоверным ($\chi^2 = 1,01$; $p = 0,3149$). Частота применения открытой некрсеквестрации уменьшалась при применении эноксапарина ($\chi^2 = 4,39$; $p = 0,0361$).

Введение эноксапарина в комплексное лечение больных тяжелым ОП также позволило уменьшить процессы воспаления и изменения в системе гемостаза. Это приводило к улучшению состояния больных, учитывая балльную оценку по шкале APACHE II (от $11,94 \pm 1,39$ баллов до $6,96 \pm 1,63$; в группе сравнения от $12,42 \pm 1,42$ до $10,18 \pm 1,44$, $p < 0,05$) и тяжесть органной дисфункции по шкале SOFA (от $5,74 \pm 1,39$ баллов до $1,04 \pm 1,60$; в группе сравнения от $5,38 \pm 1,36$ до $3,05 \pm 1,21$, $p < 0,05$). Летальность снизилась с 30,77% до 9,68% ($\chi^2 = 4,04$; $p = 0,0445$). Предварительная гепаринотерапия у больных тяжелым ОП не влияла на частоту открытой некрсеквестрации ($\chi^2 = 0,26$; $p = 0,6099$) и послеоперационную летальность ($\chi^2 = 0,87$; $p = 0,35$), хотя снижала ее в абсолютных величинах от 30 00% до 14,29%.

Ключевые слова: острый панкреатит, воспаление, гемостаз, полиорганная дисфункция, эноксапарин.

SUMMARY

Pidhirnyy B. Ya. Crosstalk between inflammation and hemostasis in treatment of acute pancreatitis patients. – Manuscript.

Thesis for the degree of candidate of medical sciences, specialty 14.01.03 – surgery. – State Higher Educational Institution „Uzhgorod National University”, Ministry of Education and Science of Ukraine, Uzhgorod, 2017.

The work is a comprehensive study that evaluated the features of inflammation and hemostasis in various forms of acute pancreatitis in the clinic and experiment.

Experimental data indicate significant importance in the pathogenesis of L-ornithine-induced AP nitrosative stress, disorders in hemostasis, deficiency of synthesis of physiological gasotransmitters.

Hemostasis changes in patients with severe acute pancreatitis and moderate severity acute pancreatitis can be characterized as acquired thrombophilia, characterized by activation of the primary factors hemocoagulation, deficiency of natural anticoagulants and fibrinolytics, activation of cell-cell interactions. Determined that hepercoagulative factors in the blood of patients with acute pancreatitis are reinforced each other's action. Against this background, was extended the time of fibrinolysis and decreased activity of antithrombin III. Proinflammatory factors also stimulated, usually, the synthesis of each other and inhibited production of anti-inflammatory factors.

Cardiovascular, pulmonary, renal, metabolic dysfunction is accompanied by activation of plasma component of hemostasis and platelet insufficient activity of natural anticoagulants (AT III), increased synthesis of acute phase proteins (CRP), excessive production of pro-inflammatory cytokines, and decreased concentration of protective gasotransmitters (H₂S).

Enoxaparin (low molecular weight heparin) in rats with L-ornithine-induced acute pancreatitis reduced the damage to the pancreas and other organs, suppressed nitrosative stress, inflammation, normalized hemostasis.

Enoxaparin in the complex treatment of acute necrotizing pancreatitis patients reduced the severity of organ dysfunction, reduced the need for open surgical intervention, and reduced mortality.

Key words: acute pancreatitis, inflammation, hemostasis, multiple organ dysfunction, enoxaparin.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АТ	антитромбін
АЧТЧ	активований частковий тромбопластиновий час
ГП	гострий панкреатит
ІЛ	інтерлейкін
МНВ	міжнародне нормоване відношення
МПО	мієлопероксидаза
НЛС	нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення
ПЗ	підшлункова залоза
Р-амілаза	панкреатична амілаза
РФМК	розчинні фібрин-мономірні комплекси

СРБ	С-реактивний білок
ТЧ	тромбіновий час
ФНП	фактор некрозу пухлин
APACHE	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
BISAP	bedside index for severity in acute pancreatitis
cNOS	конститутивна синтаза оксиду нітрогену
iNOS	індуцибельна синтаза оксиду нітрогену
H ₂ S	сульфід гідрогену
NO	оксид нітрогену
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment