

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «ПЕРМСКАЯ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.А.
ВАГНЕРА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ЗАГОРОДСКИХ

Елена Борисовна

ПОКАЗАТЕЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И ХИРУРГИЧЕСКАЯ
ТАКТИКА ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ

14.01.17 – хирургия

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, профессор

Черкасов Владимир Аристархович

Пермь – 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	стр.4
ВВЕДЕНИЕ.....	стр.5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	стр.12
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	стр.30
Глава 3. ИСХОДНАЯ ТЯЖЕСТЬ СОСТОЯНИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ.....	стр.40
Глава 4. ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ТЯЖЕСТИ СОСТОЯНИЯ И МАРКЕРОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ.....	стр.46
4.1 Динамика изменений тяжести состояния, количества десквамированных эндотелиоцитов и уровня васкулярного эндотелиального фактора роста у больных группы без септических осложнений.....	стр.46
4.2 Динамика изменений тяжести состояния, количества десквамированных эндотелиоцитов и уровня васкулярного эндотелиального фактора роста у больных группы с септическими осложнениями.....	стр.55
4.3 Прогнозирование тяжести системной воспалительной реакции при остром панкреатите по динамике изменения уровня васкулярного эндотелиального фактора роста.....	стр.73
Глава 5. ПОКАЗАТЕЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И ХИРУРГИЧЕСКАЯ ТАКТИКА ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ.....	стр.75
5.1 Изменение показателей повреждения эндотелия при хирургическом лечении больных острым панкреатитом тяжелого течения без септических	

осложнений.....	стр.77
5.2 Изменение показателей повреждения эндотелия при хирургическом лечении больных острым панкреатитом тяжелого течения с септическими осложнениями.....	стр.79
Глава 6. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ.....	стр.84
ОБСУЖДЕНИЕ.....	стр.91
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	стр.97
ВЫВОДЫ.....	стр.101
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	стр.102
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	стр.103

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДФ	аденозиндифосфат
АТФ	аденозинтрифосфат
ВЭФР	васкулярный эндотелиальный фактор роста
ДВС	диссеминированное внутрисосудистое свертывание
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДЭЦ	десквамированные эндотелиоциты
ИНС	искусственная нейронная сеть
ИП	индекс прогноза
ИФА	иммуноферментный анализ
КТ	компьютерная томография
ЛРА	линейный регрессионный анализ
ОПТТ	острый панкреатит тяжёлого течения
ПККБ	Пермская краевая клиническая больница
ПОН	полиорганная недостаточность
ПРР	паттерн-образцы распознающие рецепторы
ПЦР	полимеразная цепная реакция
СВР	системная воспалительная реакция
СО	септические осложнения
СРК	свободные радикалы кислорода
ТДПТ	трансдуоденальная папиллотомия
ФНО- α	фактор некроза опухоли
G	гуанин
NO	оксид азота
<i>NOS3</i>	ген эндотелиальной синтазы оксида азота
SAPS II	Simplified Acute Physiology Score II
T	тимидин

ВВЕДЕНИЕ

Понятие острого панкреатита включает патологические изменения различной величины: от мелких участков интерстициального отека, до обширных очагов некроза поджелудочной железы и перипанкреатических тканей [36]. Деструкция и некроз ткани железы возникают в 15-30% случаев острого панкреатита [33, 137]. Такие случаи объединяются термином острый панкреатит тяжелого течения (ОПТТ) (классификация Атланта 1992г). [35, 37, 69].

Высокая летальность при этой патологии (до 30%) обусловлена развитием септических осложнений (СО) [2, 128]. Крупные очаги ишемии и некроза железы вызывают чрезмерную активацию цитокиновой сети, системную воспалительную реакцию (СВР), определяющую вторичную диссеминацию возбудителей и генерализацию инфекции [15, 26, 58]. Один из путей снижения летальности при таких состояниях видится в разработке новых методик своевременной оценки тяжести состояния при остром панкреатите и в поиске способов контроля над эффективностью лечебных мероприятий [31].

Особенно остро стоят проблемы оценки эффективности стартовой терапии, прогнозирования развития септических осложнений в первые дни заболевания (1-я неделя) и в конце 2-й в начале 3-й недели течения панкреатита, когда ухудшение состояния связано с инфицированием очагов некроза [30, 59, 62, 63, 136]. Предложено множество предикторов тяжести течения панкреатита – это ферменты и секреты поджелудочной железы, цитокины, другие медиаторы и ферменты организма, множество интегральных шкал оценки состояния, но все они имеют недостатки и не отвечают потребностям клиницистов [1, 28, 30, 31, 131].

Сохраняются разногласия по поводу хирургической тактики, видов и сроков оперативных вмешательств [17, 36, 71]. По классическим представлениям инфицирование очагов некроза и соответственно гнойно-септические осложнения развиваются к концу 2-й недели и началу 3-й, тогда же начинают формироваться секвестры некротизированной ткани железы и окружающей клетчатки [8, 103, 129]. Пациенты, оперированные в эти сроки, имеют значимо лучшие результаты

[128, 129, 130], но выжидание отграничения очагов некроза нередко приводит к утяжелению сепсиса и полиорганной недостаточности (ПОН). Оперативное вмешательство в этих условиях может способствовать ухудшению состояния [8, 17, 36, 129]. При обширном некрозе поджелудочной железы инфицирование девитализированных тканей развивается быстрее, на 1-й, 2-й неделях заболевания [8]. В таких случаях представляется целесообразным вмешательство в более ранние сроки с целью снижения эндотоксикоза и предотвращения развития ПОН [17, 96, 114]. Для дифференцированного подхода к хирургической тактике предложены комплексы диагностических мероприятий, включающие визуализирующие методики, серологические маркеры, интегральные шкалы оценки тяжести состояния. Показатели разных методов при этом могут быть противоречивыми, малоинформативными [8].

Тяжесть системной воспалительной реакции определяется функциональным состоянием эндотелия. Активация эндотелиальных клеток и их повреждение провоспалительными цитокинами приводит к усилению внутрисосудистого свертывания и к угнетению фибринолиза, что имеет прямое отношение к развитию полиорганной дисфункции [3, 39, 54]. Своевременная оценка состояния эндотелия при остром панкреатите тяжелого течения может быть полезна для оценки состояния больного и эффективности проводимого лечения.

Цель исследования

Совершенствование комплексной оценки тяжести состояния, прогнозирования осложнений и выбор хирургической тактики при остром панкреатите тяжелого течения с учётом показателей эндотелиальной дисфункции.

Основные задачи исследования

1. Оценить возможность прогнозирования развития септических осложнений и продолженного некроза поджелудочной железы путем однократного исследования показателей повреждения эндотелия при остром панкреатите тяжелого течения.

2. Оценить информативность мониторинга тяжести состояния и эффективности проводимого лечения при остром панкреатите тяжелого течения с помощью маркеров эндотелиальной дисфункции.

3. Обосновать выбор хирургической тактики при остром панкреатите тяжелого течения по результатам исследований маркеров повреждения эндотелия.

4. Выявить наличие генетической предрасположенности к септическим осложнениям при остром панкреатите тяжелого течения по полиморфизму G849T гена эндотелиальной синтазы оксида азота.

Положения, выносимые на защиту

1. Состояние пациентов при остром панкреатите тяжелого течения в первые 4 недели заболевания можно контролировать путем определения уровня васкулярного эндотелиального фактора роста сыворотки крови. Повышение концентрации этого фактора роста в сыворотке крови свидетельствует о снижении тяжести состояния пациента и эффективности проводимого лечения.

2. О благоприятном исходе острого панкреатита тяжелого течения свидетельствует снижение количества десквамированных эндотелиоцитов в период первых 2-х недель от начала заболевания.

3. Признаком неблагоприятного прогноза септических осложнений при остром панкреатите тяжелого течения при выбранной лечебной тактике служит снижение уровня васкулярного эндотелиального фактора роста или отсутствие его повышения.

4. Сроки и вид оперативного лечения можно скоординировать путем динамического исследования уровня васкулярного эндотелиального фактора роста в сыворотке крови, который свидетельствует о формировании ограничительного барьера вокруг очагов некроза в железе и в окружающих тканях.

Научная новизна работы

Установлено, у больных острым панкреатитом тяжелого течения уровень васкулярного эндотелиального фактора роста и количество десквамированных эндотелиоцитов достоверно выше, чем у здоровых людей. Между группой

больных без септических осложнений и группой с септическими осложнениями не выявлено достоверных различий по уровню васкулярного эндотелиального фактора роста и количеству десквамированных эндотелиоцитов при однократном исследовании в первые 10 суток от начала заболевания.

При благоприятном течении острого панкреатита тяжелого течения выявлена прямая достоверная взаимосвязь уровня васкулярного эндотелиального фактора роста и времени от начала заболевания. Прогрессивное повышение концентрации этого фактора является признаком снижения тяжести состояния и регресса септических осложнений в первые 4 недели заболевания.

Обратная взаимосвязь тяжести системной воспалительной реакции и уровня васкулярного эндотелиального фактора роста в сыворотке крови выявлена у больных острым панкреатитом тяжелого течения с септическими осложнениями. Операционные характеристики определения уровня васкулярного эндотелиального фактора роста сыворотки крови, как способа прогноза исхода абдоминального сепсиса при остром панкреатите тяжелого течения составили: чувствительность - 79,1%, специфичность - 72,7%. Метод оценки динамики изменения уровня васкулярного эндотелиального фактора роста предложен как точный и простой способ прогнозирования исхода абдоминального сепсиса, (патент на изобретение № - 2517523, опубликован 27.05.14г., бюллетень №15).

У пациентов с благоприятным течением острого панкреатита установлена обратная взаимосвязь количества десквамированных эндотелиоцитов со временем прошедшим от начала заболевания. Количество десквамированных эндотелиоцитов снижается в период со 2 по 19 сутки от начала заболевания.

При остром панкреатите тяжелого течения выявлена прямая достоверная связь отграничения очагов некроза и уровня васкулярного эндотелиального фактора роста сыворотки крови. Установлены операционные характеристики определения уровня васкулярного эндотелиального фактора роста для оценки процессов отграничения очагов некроза: чувствительность – 87,5%, специфичность – 81,8%.

По материалам исследования полиморфизм G849T гена эндотелиальной синтазы оксида азота (*NOS3*) можно рассматривать, как фактор, влияющий на развитие септических осложнений при остром панкреатите тяжелого течения. Для получения статистически значимых различий необходимо большее число обследованных.

Практическая значимость

При оценке тяжести состояния пациентов с острым панкреатитом тяжелого течения исследование васкулярного эндотелиального фактора роста в динамике позволяет своевременно судить о прогрессировании эндотоксикоза и развитии септических осложнений, а также корректировать проводимую терапию.

Такой показатель, как количество десквамированных эндотелиоцитов, доступен определению в условиях районного стационара. Подтверждено, что отсутствие снижения количества десквамированных эндотелиоцитов в динамике свидетельствует о прогрессировании некроза и необходимости перевода пациента в специализированный стационар.

Для оценки тяжести системной воспалительной реакции и эффективности лечебных мероприятий предложено определять уровень васкулярного эндотелиального фактора роста у больных острым панкреатитом тяжелого течения с септическими осложнениями в динамике. Снижение концентрации этого показателя свидетельствует об утяжелении состояния и развитии полиорганной недостаточности, служит неблагоприятным прогностическим фактором. На основании этих данных предложен способ прогноза исхода сепсиса при остром панкреатите тяжелого течения.

При выборе срока оперативного вмешательства рекомендовано ориентироваться на динамику изменения уровня васкулярного эндотелиального фактора роста. Установлено, что нарастание уровня васкулярного эндотелиального фактора роста в сыворотке крови свидетельствует о формировании ограничительного барьера вокруг очагов некроза, и позволяет обоснованно отложить оперативное лечение до стабилизации функций всех органов и систем, с последующим применением малоинвазивных методик

хирургического лечения. Снижение концентрации этого фактора в сыворотке крови указывает на расширение зон некроза и нарастание тяжести сепсиса и полиорганной недостаточности, обосновывая необходимость в санационном вмешательстве.

Внедрение результатов исследования

Практические рекомендации по применению маркеров повреждения эндотелия для прогнозирования исхода сепсиса, для мониторинга состояния больных острым панкреатитом тяжелого течения и для определения хирургической тактики внедрены в работу 2-го хирургического отделения Пермской краевой клинической больницы (ПККБ). Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе на кафедре госпитальной хирургии, на кафедре ФПК и ППС в программах для интернов, ординаторов и врачей-хирургов.

Связь работы с научными программами

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом НИР ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, номер государственной регистрации темы 01200800815.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научной сессии ГОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера Минздрава России (Пермь, 2012), на XIX международном Конгрессе хирургов-гепатологов России и стран СНГ «Актуальные вопросы хирургической гепатологии» (Иркутск 2012), на совместном заседании научно-координационного совета по хирургии ГБОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера Минздрава России № 23 от 19.05.2014г.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 3 печатных работы в рецензируемых журналах рекомендованных ВАК РФ. Оформлены патент «способ прогноза

исхода сепсиса» № - 2517523, опубликован 27.05.14г., бюллетень №15, и рационализаторское предложение № - 2611 от 20.03.2013г.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации.

Автор осуществляла курацию всех больных, вошедших в исследование, участвовала в 75% операций в качестве ассистента, производила подсчет количества ДЭЦ, подготовила публикации по теме диссертации. Самостоятельно выполнила статистическую обработку и анализ полученных данных.

Объём и структура работы

Диссертация изложена на 120 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Текст иллюстрирован 26 таблицами, 24 рисунками. Библиографический список содержит 149 наименований, из них 56 отечественных и 93 иностранных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Патогенетические варианты течения панкреонекроза и механизмы развития септических осложнений при этой патологии. При ОПТТ в основе патоморфологических изменений лежит панкреонекроз с последующим развитием воспаления в самой железе и окружающих её тканях [6]. Выделяют две основных клинико-морфологических формы развития панкреонекроза: жировую и геморрагическую. Развитие каждой из форм определяет соотношение и очередность действия трех факторов: протоковой гипертензии, нарушений кровообращения в железе, активации ферментов [37].

При жировом панкреонекрозе ведущими механизмами предстают: протоковая гипертензия и активация фосфолипаз. Протоковая гипертензия вызывает затруднение кровообращения в паренхиме железы. Гипоксия ацинарных клеток приводит к нарушению ионного равновесия мембранных структур, что вызывает активацию внутриклеточных фосфолипаз ионами Ca^{2+} [34]. Развивается коагуляционный жировой некроз ткани железы, при этом первой страдает протоковая система органа [36, 37].

При геморрагическом панкреонекрозе (первично-ацинозной патогенетической форме) ведущими патогенетическими факторами становятся нарушение кровообращения и активация протеолиза. На фоне острой функциональной перегрузки (триглицеридной, алкогольной) ацинарных клеток, развивается дефицит аденозинтрифосфата (АТФ), накапливаются продукты перекисного окисления липидов. Закисление внутриклеточной среды ведёт к дестабилизации мембран лизосом и выход ферментов в цитоплазму. Лизосомальные катепсины, в частности (катепсин В1), активируют внутриклеточный протеолиз. Его воздействию подвергаются не только ацинарные клетки, но и стенки венул. Развивается внутрисосудистая коагуляция микроциркуляторного русла и окклюзия его тромбами [7]. Происходит расширение области некроза железы за счет ишемического поражения [34, 37, 83]. В итоге при первично-ацинозном патогенетическом варианте первичный аутолиз ацинарных клеток сочетается со вторичным ферментативным протеолизом

участков железы с нарушенной перфузией. Такой некроз развивается по периферии органа, в области концевых протоков [37].

Для панкреонекроза характерно фазовое течение. Выделяют 3 фазы: 1 фаза – ферментативная, продолжительность её до 5 суток, при тяжелых формах этот период короче, и составляет 24-36 часов. 2 фаза – реактивная (2 неделя заболевания), характеризуется реакцией организма на сформированные очаги некроза. 3 фаза - расплавления или секвестрации. Она длится с третьей недели заболевания. В этот промежуток времени формируются постнекротические кисты и свищи при асептическом панкреонекрозе и развиваются гнойные осложнения (абсцессы забрюшинного пространства и брюшной полости, флегмоны парапанкреатической и забрюшинной клетчатки, гнойный перитонит, внутрибрюшные кровотечения, дигестивные свищи, сепсис) при инфицированном панкреонекрозе [35, 41, 67].

Кроме фаз в течении панкреонекроза выделяют периоды, которые отражают изменения в макроорганизме в ответ на некроз и воспаление в железе. По временным промежуткам периоды соответствуют фазам. 1-й период гемодинамических расстройств и панкреатогенного шока длится от нескольких часов до 3 суток, 2-й период функциональной недостаточности паренхиматозных органов, 3-й период постнекротических, дегенеративных и гнойных осложнений [35, 36, 67, 128].

На самом раннем этапе происходит повреждение мембран ацинарных клеток действием этанола и продуктов его разложения, оксидантов, компонентов желчи и дуоденального содержимого [1, 34]. Это вызывает приток в клетку ионов Ca^{2+} из интерстициального пространства, при этом цитозольный кальций не может покинуть клетку. Внутри клеток в несколько раз возрастает уровень Ca^{2+} , что является иницирующим фактором внутриклеточной деструкции за счет: а) активации разрушающих ферментов в цитозоле; б) разрушение цитоскелета ацинарной клетки – затруднение выделения в полость ацинуса секретируемых проферментов; в) дисфункции митохондрий, приводящей к дефициту энергии в клетке и её аутолизу [34, 68]. В эту фазу происходит формирование очагов

некроза железы различной протяженности, и воспалительная реакция на них [68, 115, 116].

Одновременно с повышением уровня внутриклеточных ионов Ca^{2+} при остром панкреатите в панкреатоцитах продуцируется аномально большое количество свободных радикалов кислорода (СРК) [57]. Антиоксидантная система ацинарной клетки не справляется с их нейтрализацией. Это приводит к уменьшению синтеза АТФ в клетке, повреждению дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК), пероксидации мембранных липидов, что повышает проницаемость клеточных мембран [34]. В результате этого активированные протеазы и СРК поступают в межклеточное и сосудистое пространство и становятся воспалительными медиаторами [109].

Выброс из очага повреждения продуктов тканевого распада (липополисахаридов клеточных мембран, белков теплового шока, компонентов внеклеточного матрикса), клеточных цитокинов, СРК, интерлейкинов приводит к их взаимодействию с паттерн-образцы распознающими рецепторами (ПРР) врожденного иммунитета и с антиген-распознающими рецепторами адаптивного иммунитета. Именно с ПРР (Толл-подобными и NOD-подобными) рецепторами связано развитие воспаления и регенерации поврежденных тканей [77, 91]. Они имеются как на гемопоэтических клетках, так и на клетках тканевой паренхимы. Их роль в развитии воспалительной реакции заключается в привлечении в очаг поврежденной ткани лейкоцитов в количестве, достаточном для разрешения воспаления [25, 77, 99, 125].

В развитии острого воспаления в железе и окружающих тканях, а также системной воспалительной реакции участвуют как клеточные, так и гуморальные факторы: калликреин-кининовая система, система комплемента и свертывающая система крови. Панкреатический калликреин в общем кровотоке способствует переходу кининогена в брадикинин. Брадикинин приводит к резкому отеку железы за счет высвобождения оксида азота из L-аргинина [34]. Оксид азота в свою очередь усиливает оксидативный стресс в поджелудочной железе за счёт образования пероксинитрита, замыкая на ранней стадии порочный круг [34, 75].

Под воздействием больших доз эндотоксинов ферментативный синтез окислов азота активизируется в клетках ретикулоэндотелиальной системы печени и других органов, в резидентных макрофагах в избыточном количестве. Высокая концентрация оксида азота и продуктов его окисления ведет к повышению проницаемости микроциркуляторного русла, ишемии органов и стимулирует апоптоз клеток эндотелия [15, 48, 68].

Важным звеном в развитии септических осложнений при остром панкреатите рассматривается каскад комплемента - активация синтеза его конечных продуктов C_{5b-9} под действием эндотоксина. Эти факторы активизируют нейтрофилы, макрофаги, тромбоциты, вызывают дилатацию сосудов и повышают их проницаемость, агрегацию тромбоцитов, способствуют прогрессированию системной воспалительной реакции [39, 48, 95, 111, 125].

Нарушения свертывающей системы крови при остром панкреатите проявляются доказанной гиперагрегацией тромбоцитов с первых дней заболевания [106]. Этот процесс происходит с участием сосудистого эндотелия. Стимуляция эндотелия эндотоксинами, СРК, продуктами протеолиза приводит к потере гепариноподобных молекул, тромбомодулина, ингибиторов тканевого фактора поверхностью эндотелиоцитов [27, 57]. Так же апоптоз клеток эндотелия и их дальнейшее слущивание делают возможным контакт форменных элементов крови с прокоагулянтами субэндотелия. Всё это обеспечивает тромбоз микроциркуляторного русла поджелудочной железы и других органов, способствуя развитию полиорганной недостаточности [15, 53, 106, 126]. Тромбогенная ишемия рассматривается, как основа патоморфогенеза сепсиса [3, 14, 23, 83, 113].

Клеточный уровень развития системной воспалительной реакции реализуется через белковый рецептор CD14, который присутствует у макрофагов, моноцитов, нейтрофилов [121, 125]. Рецепторы CD14 связывается с циркулирующими липополисахаридами, белками теплового шока, как эндогенного, так и бактериального происхождения и вызывают продукцию в этих клетках провоспалительных цитокинов таких, как интерлейкины 1 и 6, фактор некроза

опухоли (ФНО- α), матриксные металлопротеазы [44, 48, 74]. Цитокины регулируют деятельность гипоталамуса, печени, костного мозга, воздействуют на жировую ткань и мышцы, вызывая переход к эрготропному типу метаболизма [54]. Стимулируя эндотелиоциты, провоспалительные цитокины приводят к образованию тромбозов в микроциркуляторном русле различных органов (легкие, печень, почки), что приводит к нарушению их функции [58, 74, 78, 88]. Стимулированные эндотелиоциты сами становятся источником цитокинов, факторов свертывания крови, поддерживающих микроциркуляторный тромбоз и острую циркуляторную недостаточность [3, 7, 22, 23, 27, 74].

В развитии септических осложнений при остром панкреатите, как и при другой острой патологии живота, можно выделить 3 ключевых этапа: 1 - эндотоксемия, 2 - микрососудистые тромбозы и кровоизлияния в органах и тканях, 3 – дисфункция эндотелия [3, 7, 54].

Обширные зоны некроза и ишемии железы способны вызвать чрезмерную активацию цитокиновой сети и неконтролируемую системную воспалительную реакцию, обуславливающую вторичную по отношению к этому процессу диссеминацию возбудителей и генерализацию инфекции [24, 83]. Таким образом, постшоковый сепсис может быть выделен в особую форму хирургического сепсиса, развивающегося после тяжелой эндотоксиновой шокогенной травмы. Эта форма сепсиса сопровождается генерализацией воспалительного ответа, но системная воспалительная реакция, свойственная сепсису любой природы в стадии разгара, развивается еще до колонизации и активного размножения микробов во внутренней среде организма [15, 26, 76, 92]. В этом случае входными воротами инфекции и источником диссеминации возбудителей становятся органы, барьерные функции которых страдают вследствие системных нарушений (желудочно-кишечный тракт, легкие) [44, 52, 64, 76]. Очевидно, что развитие сепсиса при панкреонекрозе возможно без местной раневой инфекции, без макроскопически определяемых и подлежащих хирургической санации инфекционных очагов в начальной стадии заболевания [26, 121].

Методы прогнозирования тяжести течения острого панкреатита, развития септических осложнений, варианты лечебной тактики этой патологии. Для своевременного выбора адекватной лечебной тактики при остром панкреатите и оценки её эффективности традиционно ориентируются на доказанные методики прогнозирования течения заболевания. Предложено множество оценочных систем для оценки тяжести и прогнозирования исходов системной воспалительной реакции при остром панкреатите: APACHE II, TFC, SAPS, SAPS II, Ranson, Glasgow, IPS [4, 30, 45, 93, 108], для оценки тяжести полиорганных нарушений: MODS, SOFA [15, 41, 61]. В качестве критериев в этих шкалах используется множество показателей, которые редко в полном объеме определяются в наших хирургических стационарах, кроме того у них невысокая точность прогноза [50]. Например, шкала IPS имеет 53,6% положительную прогностическую значимость [30]. По данным «Общеввропейского вопросника по лечению острого панкреатита» (2001) – критерии Ranson, Imrie, APACHE II используют только 51% специализированных хирургических центров, занимающихся проблемой острого панкреатита [84]. Прогностическая способность этих шкал направлена на определение риска развития летального исхода в ранние сроки заболевания (первые 48 часов), но они малоприменимы для предсказания динамики течения заболевания в каждом конкретном случае [15, 85].

Предложены статистические многофакторные методы на основе линейного регрессионного анализа (ЛРА) и искусственной нейронной сети (ИНС) [100]. В исследовании Луфарахманова И.И. и соавторов смоделированная ИНС на выборке из 100 случаев острого панкреатита показала при чувствительности в 81%, специфичность - 70%, положительную прогностическую ценность – 73%. При этом ИНС по прогностическим способностям значимо не превысила метод ЛРА [31]. Ранее проведено исследование Keogan M.T. и соавторов, у них чувствительность ИНС достигла 100%, но специфичность составила 29%, положительная прогностическая ценность – 41% [31, 100].

В связи с трудоемкостью применения интегральных методик на практике научный поиск был направлен на выявление серологического маркера, который должен был отвечать следующим свойствам: доступность для клинических биохимических лабораторий, воспроизводимость результатов, временем оценки должны быть ранние сроки заболевания, маркер должен быть оценен на большом ряде клинических случаев [28, 80]. В качестве таких маркеров были предложены цитокины [21]. Интерлейкин-6 в первые сутки заболевания острым панкреатитом коррелирует с летальностью и позволяет дифференцировать тяжелые формы заболевания от форм средней тяжести с чувствительностью 100% и специфичностью 71% по данным Heath D. [28, 73, 74]. По результатам исследования Pezzilli R. чувствительность и специфичность ИЛ-6 при таком же дифференциальном диагнозе составила 86% и 100% соответственно [28]. Повышение интерлейкина-8 в первые сутки служит предиктором тяжелых форм острого панкреатита, и более информативен, чем С-реактивный белок [1, 21, 28]. Кроме этого в качестве маркеров острого панкреатита предложены ФНО- α , интерлейкины-10 и 12 [28, 74]. Воспалительные цитокины не нашли широкого применения в клинической практике из-за их нестабильности. Изменения концентрации цитокинов в крови могут быть не связаны с тяжестью воспалительной реакции [1].

В качестве серологических маркеров тяжести острого панкреатита предложены были продукты ферментации поджелудочной железы. Наиболее информативными из них признаны фосфолипаза А2 и пептид активации трипсиногена. Концентрация фосфолипазы А2 коррелирует с тяжестью болезни с первых дней заболевания, чувствительность составила 75%, специфичность – 78% [28, 74]. Существуют 4 типа ферментов типа ФЛА2, поведение каждого из них при сепсисе не изучено [1]. Пептид активации трипсиногена – аминокислотный пептид, который образуется при переходе трипсиногена в трипсин. Его считают самым ранним маркером острого панкреатита, с чувствительностью и специфичностью при дифференцировке средних и тяжелых форм панкреатита - 58% и 73%

соответственно, что сопоставимо с чувствительностью и специфичностью АРАСНЕ II - 56% и 64% [28].

С – реактивный белок (СРБ), открытый ещё в 1930г., при подъёме свыше 120г/л в 67% случаях подтверждает инфицированный панкреонекроз [1]. Прокальцитонин также предложен как маркер для дифференцировки тяжелых форм панкреатита. Rau В. и соавторы выявили повышение уровня прокальцитонина у пациентов с инфицированным панкреонекрозом [28, 110]. При диагностике инфицированного панкреонекроза чувствительность этого теста составляет 95%, специфичность 88% [1, 5]. Но определение прокальцитонина достаточно дорогостоящий тест, кроме этого маркер малоэффективен при локальных инфекциях [1, 5].

Показания оперативному лечению при остром панкреатите уточнены. Это: 1) невозможность эндоскопическими методами устранить патологию большого дуоденального соска (стеноз, ущемленный камень), являющуюся причиной острого панкреатита; 2) верифицированный лапароскопически, желчный или фибринозно-гнойный панкреатогенный перитонит, гангренозный холецистит; 3) прогрессирующая ферментная токсемия и полиорганная недостаточность при проводимой многокомпонентной патогенетической терапии острого панкреатита; 4) гнойные постнекротические осложнения острого панкреатита, при неэффективности миниинвазивных методик; 5) некроз свыше 50% железы по данным компьютерной томографии (КТ) [17, 36, 40]. В обоснованности таких показаний существует единство мнений российских и зарубежных авторов [17, 19, 41, 87, 129, 130].

Патогенетическое обоснование хирургического лечения панкреонекроза заключается в удалении некротизированной ткани поджелудочной железы и парапанкреатической клетчатки вместе с условно патогенной флорой и токсинами как источниками септической интоксикации [9, 122]. Своевременная санация ведет к снижению выброса медиаторов воспаления, снижает проявления ПОН и может предотвратить прогрессирование некроза железы и развитие поздних осложнений таких, как панкреатогенный абсцесс [17, 19, 107].

Остается невыясненным вопрос о сроках оперативного вмешательства при ОПТТ. Часть авторов настаивают на операции в первой фазе панкреонекроза, она заключается в лапаротомии, абдоминализации поджелудочной железы и иссечении пораженной парапанкреатической клетчатки [17]. Другие [53, 97, 129], находят неоправданными ранние оперативные вмешательства при остром панкреатите и считают допустимым оперативное лечение в фазу гнойно-некротических осложнений. Операции в ранние сроки при панкреонекрозе считаются малоэффективными, так как в стадию инфильтрации сложно определить объем некротических изменений и объем необходимого вмешательства. Возникает риск инфицирования девитализированных тканей, операционная травма может способствовать развитию и утяжелению сепсиса [11, 36, 42, 130]. С другой стороны, в поздние сроки оперативное лечение проводится зачастую на фоне сепсиса, ПОН и нередко становится запоздалым [36, 89]. В последнее время активно стали внедряться в практику операции из мини-доступов, пункционные методики для санации локальных инфекционных осложнений панкреонекроза в поздние сроки – 4-6 недель от начала заболевания [12, 13, 30, 42, 102, 149]. Пункционные методики предложены также для удаления острых жидкостных скоплений в ранние сроки заболевания [56, 65, 138].

Согласно с классическими представлениями, инфицирование очагов некроза развивается к 3-й неделе заболевания, тогда же определяется «идеальное время» для хирургического вмешательства [8, 14, 89, 128]. В последние годы при исследованиях установлено, что сроки инфицирования некротизированных тканей при распространенных формах панкреонекроза намного короче, чем третья неделя заболевания. Так в исследовании В.С. Савельева и соавторов выявлено, что при операциях на 1 неделе заболевания в 63% наблюдений некроз носил инфицированный характер [8]. Эндогенное инфицирование некроза развивается тем раньше, чем больше участки поражения поджелудочной железы и брюшинной клетчатки [8, 129].

На практике часто сложно уловить период инфицирования панкреонекроза в ранних сроках, на фоне эндогенной интоксикации, что может привести к задержке

операции и усугублению СВР и ПОН, в итоге сказаться на выживаемости пациентов [8]. Для решения этой задачи авторами предложен комплекс мероприятий, включающий визуализирующие методики УЗИ, КТ, лапароскопию, хемилюминесцентный анализ, прогностические шкалы оценки тяжести состояния – АРАСНЕ II, ТФС, серологический маркер – СРБ [8, 10, 16].

Подобный комплекс диагностических мероприятий доступен лишь крупным специализированным клиникам, он громоздкий и трудоемкий, значения показателей при этом могут быть противоречивыми. Кроме того, комплекс мероприятий не позволяет достоверно оценить процессы демаркации очагов некроза в ранние сроки заболевания.

Таким образом, поиск способа определения сроков своевременного оперативного лечения остается актуальным. Определение динамики изменения маркеров эндотелиальной дисфункции при ОПТТ может стать таким способом, позволяющим корректировать лечебную тактику.

Васкулярный эндотелиальный фактор роста, его функции в организме, исследования динамики изменений при остром панкреатите и сепсисе. Васкулярный эндотелиальный фактор роста (ВЭФР) был впервые выделен Senger D.R. в 1983 году, как белок секретируемый опухолевыми клетками, повышающий сосудистую проницаемость [98]. В 1989 году Leung D.W. идентифицировал ВЭФР, как индуктор ангиогенеза [146]. В этом же году несколько независимых групп исследователей установили, что эти два фактора - одно и то же вещество с несколькими функциями [49, 86, 148]. В настоящее время изучено семейство белков ВЭФР, выявлено несколько его гомологов: ВЭФР-А – играет наиболее важную роль в организме, ВЭФР-В – участвует в эмбриональном ангиогенезе, клеточной адгезии и миграции, ВЭФР-С и ВЭФР-Д – участвуют в лимфоангиогенезе, ВЭФР-Е – вирусный гомолог, ВЭФР-F – содержится в яде некоторых змей, и плацентарный фактор роста (PGF) – моделирует плацентарную сосудистую сеть [49, 70, 98].

ВЭФР вырабатывается макрофагами, лимфоцитами, клетками эндотелия в ответ на гипоксию и гипогликемию [29, 70, 139, 144]. Основные биологические

эффекты, связанные с гипоксией, развиваются через ВЭФР-А гомолог, также называемый ВЭФР [144]. Ген ВЭФР локализуется в бр21,3 хромосоме и содержит 8 экзонов. В организме человека синтезируются несколько изоформ ВЭФР: ВЭФР₁₂₁, ВЭФР_{121b}, ВЭФР₁₄₅, ВЭФР₁₆₅, ВЭФР₁₈₉ и ВЭФР₂₀₆. Все изоформы имеют сходную биологическую активность, но отличаются по биодоступности. Наиболее распространенные и значимые изоформы: ВЭФР₁₂₁ и ВЭФР₁₆₅, они способны к диффузии, в силу меньшего размера. ВЭФР₁₈₉ и ВЭФР₂₀₆ находятся во внеклеточном матриксе в неактивном состоянии и высвобождаются под действием протеолитических ферментов и матричных металлопротеаз [49,70].

Основная функция ВЭФР в организме – это индукция ангиогенеза. ВЭФР стимулирует выход из сосудов плазменных белков (фибронектина, факторов коагуляции, фибриногена, витронектина), что ведет к формированию в перивезикальном пространстве очага гипоксии матрикса для мигрирующих эндотелиальных, гладкомышечных и воспалительных клеток [144]. Этот фактор стимулирует митоз эндотелиальных клеток, их миграцию, обеспечивает условия для формирования сосудистых трубок и связанной сосудистой сети (морфогена), удержание эндотелиоцитов новообразованных сосудов до присоединения к ним перicyтов, и тем самым способствует их выживанию [94]. Снижение уровня ВЭФР обуславливает апоптоз клеток эндотелия, обструкцию просвета сосудов, что приводит к деструкции новообразованной сосудистой сети [49, 70, 139, 144]. Кроме этого ВЭФР обеспечивает вазодилатацию и хемотаксис макрофагов и гранулоцитов в очаг воспаления [29, 70, 144, 148].

При гипоксии клетки производят фактор транскрипции, индуцируемый гипоксией (HIF). Организм человека постоянно продуцирует факторы транскрипции HIF- α и HIF- β , но при наличии достаточного количества кислорода они крайне не устойчивы. Если ткани испытывают гипоксию, то фактор сохраняется и стимулирует высвобождение белка ВЭФР. Циркулирующий в кровотоке ВЭФР реализует свои эффекты через тиразинкиназные рецепторы эндотелиальных клеток VEGFR-1 и VEGFR-2. Эти рецепторы при соединении с

лигандом - ВЭФР подвергаются фосфорилированию, что приводит к активации сигнальных каскадов [49, 70, 98, 139, 140, 148].

Уровень ВЭФР в крови прогрессивно снижается после рождения и минимален в большинстве тканей взрослого человека, кроме мест активного деления клеток. Его продукция возрастает при патологических процессах вызванных ишемией тканей, воспалением, опухолевым ростом [49, 86].

За последние 15 лет было проведено множество исследований уровня ВЭФР и его рецепторов при различной патологии. Большая часть исследований выполнена при сепсисе, онкологических заболеваниях и атеросклерозе, патологии легких и почек [49, 66, 70, 98, 135, 145, 147, 148].

Широко исследовалась роль ВЭФР и его рецепторов при системном воспалении. Группа ученых во главе с W.C. Aird рассматривают ВЭФР, как основной инструмент ответственный за развитие и поддержание СВР. При исследовании животных с моделированным сепсисом установили снижение заболеваемости и смертности при применении ингибиторов ВЭФР [60, 123, 132, 141].

M. Van der Flier и соавторы исследовали уровень ВЭФР плазмы крови у 18 пациентов с тяжелым сепсисом и у 40 здоровых человек. Выявлено значительное увеличение уровня ВЭФР плазмы крови у больных с тяжёлым сепсисом, по сравнению с группой здоровых лиц ($p < 0,001$). Также более высокий уровень ВЭФР был отмечен в группе умерших от сепсиса, чем в группе выживших ($p = 0,018$). Повышенные уровни ВЭФР в начале исследования коррелировали с тяжестью течения заболевания и ассоциировались со смертностью от тяжелого сепсиса [105].

В исследовании Karlsson S. с соавторами проводилось изучение уровней ВЭФР у больных с сепсисом различной этиологии осложненным шоком. Определение ВЭФР выполняли при поступлении в стационар и через 72 часа и выявили, что уровень ВЭФР был достоверно выше в группе выживших, чем в группе умерших в периоды при поступлении и 72 часа ($p = 0,012$ и $0,009$ соответственно). Однако, в представленных результатах отсутствует информация

о значимых различиях уровней ВЭФР плазмы крови при поступлении и через 72 часа в каждой из групп, т. е. нет данных о том, что уровень ВЭФР через 72 часа в группе выживших достоверно повысился, а в группе умерших достоверно снизился. Уровни ВЭФР (δ ВЭФР=ВЭФР 72 h – ВЭФР day 0) среди 215 больных повысились у 56,7% (n=122), и снизились - у 41,9% (n=90). При этом госпитальная смертность составила 26,4% (66 больных). Из чего авторы сделали вывод, что уровень ВЭФР не пригоден для прогнозирования неблагоприятных исходов интенсивной терапии и реанимации [143].

В работе Kuang-YaoYang и соавторов проводилось исследование уровня ВЭФР и растворимого VEGFR-1 у 81 пациента с пневмонией, осложненной септическим шоком и у 20 - с пневмонией без септических осложнений. Уровень ВЭФР плазмы крови авторы определяли однократно, в первые 24 часа от начала сепсиса и по его значению устанавливали прогностическую ценность для 28-дневной смертности. Kuang-YaoYang и соавторы констатируют, что уровень ВЭФР у пациентов с пневмонией без полиорганной дисфункции достоверно выше ($688,9 \pm 619,9$ пг/мл), чем у выживших пациентов с пневмонией осложненной сепсисом и полиорганной дисфункцией ($219,9 \pm 232,1$ пг/мл, $p < 0,001$) и умерших пациентов с пневмонией осложненной сепсисом и полиорганной дисфункцией ($386,5 \pm 524,1$ пг/мл, $p = 0,005$). Достоверной разницы в уровне ВЭФР у выживших пациентов с пневмонией осложненной сепсисом и погибших не выявлено ($p = 0,455$). Авторы делают вывод об ограниченной ценности ВЭФР в прогнозировании 28-и дневной смертности от пневмонии осложненной сепсисом [104].

В работе Jesmin S. и соавторов исследовали уровни ВЭФР и его растворимых рецепторов в двух группах больных: 37 пациентов с сепсисом осложненным диссеминированным внутрисосудистым свертыванием (ДВС) и 13 пациентов с сепсисом без ДВС. Авторы выявили более низкие уровни ВЭФР и VEGFR-2, и более высокий уровень VEGFR-1 у пациентов с ДВС, но достоверных отличий от группы без ДВС не установлено. Выявлена корреляция уровня ВЭФР со шкалой

SOFA у больных с ДВС и с количеством тромбоцитов у всех обследованных [134].

Проведены экспериментальные исследования уровня ВЭФР при индуцированном панкреонекрозе у крыс. В работах Warztcha Z. и соавторов было установлено, что при панкреонекрозе, вызванном ишемией, содержание ВЭФР в воспалительном инфильтрате повышается на 2 - 5 сутки после реперфузии, в грануляционной ткани на 9-е сутки. Авторы сделали вывод, что уровень ВЭФР повышается в ранней стадии регенерации железы, через 4 недели после индукции панкреонекроза уровень его соответствует уровню контрольной группы [79, 90].

Li S. и соавторы исследовали уровни ВЭФР в сыворотке крови крыс с индуцированным тяжелым панкреатитом и сделали выводы, что ВЭФР играет важную роль в патогенезе острого панкреатита, вызывает отек и геморрагии, реагирует повышением содержания в сыворотке крови на тяжесть повреждения железы [118]. ВЭФР они рассматривают как фактор патогенности. В другом исследовании эти же авторы сравнили уровень экспрессии ВЭФР в 2-х группах крыс с индуцированным тяжелым панкреатитом с предварительной гепаринотерапией и без неё. На основании полученных результатов они сделали вывод, что гепарин снижает уровень ВЭФР сыворотки крови и тяжесть индуцированного панкреатита [117].

Группа исследователей во главе с Ueda T. и Takeuma Y. установили, что уровень ВЭФР в сыворотке крови у пациентов с острым панкреатитом не влияет на выраженность реактивного плеврита и асцита. Выявили снижение проявлений печеночной и почечной недостаточности при высоких уровнях ВЭФР. В эксперименте животным с индуцированным панкреонекрозом вводили ВЭФР и выявили у них снижение явлений апоптоза клеток печени и почек. На основании этого авторы сделали вывод, что ВЭФР может действовать в организме при остром панкреатите, как защитный фактор с антиапоптотическим эффектом [142]. В другом исследовании этих же авторов показаны защитные свойства ВЭФР в отношении кишечного эпителия при остром индуцированном панкреатите [112].

При исследовании сывороточных уровней ВЭФР у больных острым панкреатитом тяжелого течения Mentula P. и соавторы установили, что этот фактор не является предиктором развития полиорганной недостаточности [120].

При остром панкреатите исследование ВЭФР и его рецепторов выполнено Espinosa L и соавторами. Обследована группа больных острым панкреатитом из 30 человек, у которых не выявлено достоверных различий в уровне ВЭФР с контрольной группой [127].

Из приведенных выше исследований видно, что у авторов в отношении этого маркера повреждения эндотелия сделаны противоположные выводы, одни рассматривают его как фактор защиты [90, 94, 112, 142], другие как патоген [60, 105, 117, 118, 123, 124, 134]. ВЭФР это маркер с широким диапазоном значений, тонко реагирующий на патологические изменения макроорганизма [101]. Он один из участников процесса демаркации и регенерации в организме, и применительно к этим своим свойствам он исследователями практически не рассмотрен.

Десквамированные эндотелиоциты – показатель повреждения эндотелия, его клиническая значимость. Количество циркулирующих в крови десквамированных эндотелиоцитов (ДЭЦ) отражает тяжесть повреждения эндотелия. Методика подсчета этого показателя была предложена в 1978г Hladovec [38] и основана на осаждении эндотелиоцитов и тромбоцитов из плазмы крови с последующим связыванием аденозиндифосфатом (АДФ).

В 2007 году защищена диссертация диссертация Семеновой А.С. на тему «Патогенетическое обоснование выбора параметров системной воспалительной реакции для прогнозирования инфекционных осложнений панкреонекроза». В этой работе исследовано количество ДЭЦ в группах больных с асептическим и инфицированным панкреонекрозом в разные периоды заболевания. Выявлено появление достоверных отличий в количестве ДЭЦ между двумя группами на 10 сутки заболевания, до этого времени достоверных отличий в уровне ДЭЦ не выявлено. Из чего сделан вывод, что прогрессирующее нарастание количества ДЭЦ свыше 10 суток служит признаком инфицированного панкреонекроза [46].

Определение этого маркера в клинике доступно, не требует значительных материальных затрат, сложного оборудования и специальной подготовки сотрудников, поэтому мы включили его в наше исследование.

Эндотелиальная синтаза оксида азота и ее защитная роль. Полиморфизм гена эндотелиальной синтазы оксида азота. Значительная роль в патогенезе септических осложнений при остром панкреатите принадлежит метаболиту L-аргинина – оксиду азота (NO). Его избыточная продукция при воспалении приводит к тому, что NO становится звеном патогенеза полиорганной дисфункции [32]. Он вызывает вазодилатацию, нарушает транспорт кислорода и приводит к ухудшению кислородного статуса организма, NO также стимулирует секвестрацию тромбоцитов, увеличивает проницаемость клеточных мембран, вызывает метаболические и структурные повреждения клеток эндотелия, обладает цитотоксическим эффектом [48]. Уровень NO в крови и выраженность его эффектов определяется балансом между продукцией под действием синтаз и утилизацией этого соединения окислением с помощью супероксидных радикалов и липопротеинов низкой плотности [32]. Существуют 3 основных формы NO-синтаз, две – конститутивные: нейрональная и эндотелиальная, и одна – индуцибельная. В физиологических условиях синтез NO обеспечивают первые две NO-синтазы, при воспалении резкое увеличение этого цитокина связано с образованием индуцибельной NO-синтазы в клетках. Кальцийнезависимая выработка индуцибельной NO-синтазы стимулируется интерлейкином-1, ФНО- α , интерфероном- γ , эндотоксинами бактерий, пик продукции наступает после 6-12 часов после действия триггера [20, 48].

Эндотелиальная NO-синтаза находится в кавеолах клеточных мембран в неактивном состоянии. При воздействии на клетку агонистов: ацетилхолин, брадикинин, эндотелиальный сосудистый фактор роста, механического напряжения сдвига в клетку начинают поступать ионы Ca^{2+} , они связываются с кальмодулином. Активированный кальмодулин связывается с эндотелиальной NO-синтазой, нарушая связь с кавеолином, активирует её, что приводит к синтезу NO.

После ослабления действия триггера эндотелиальная NO-синтаза вновь переходит в неактивное состояние, связываясь с кавеолином [20, 43].

NOS3 локализуется в хромосоме 7q35-36, содержит 26 экзонов. Существуют несколько аллельных вариаций этого гена, но только часть из них имеет функциональное значение. Интерес представляет структурная замена гуанина (G) на тимидин (T) в 894 позиции, в 7 экзоне. Это ведет к замене глутаминовой кислоты на аспарагиновую в 298 позиции молекулы фермента [8]. Точечные мутации в молекуле эндотелиальной NO-синтазы приводят к нарушению регуляции активности этого фермента [43].

В 2004 году M.J. Di Magno с соавторами представил результаты исследования функций эндотелиальной NO-синтазы при индуцированном остром панкреатите. Исследование проводилось на мышах с разрушенными генами эндотелиальной NO-синтазы. Это исследование доказало, что при деструкции *NOS3* повышаются факторы ассоциированные с повреждением железы, в частности активность интрапанкреатического трипсина. При селективном разрушении *NOS3* в начальной фазе острого индуцированного панкреатита отмечено повышение активности панкреатического трипсина и сывороточной липазы. Авторы сделали вывод, что оксид азота индуцированный эндотелиальной NO-синтазой оказывает протективный эффект через активацию, вероятнее всего, эндотелиальных клеток, что способствует лучшему интрапанкреатическому кровотоку [75, 81].

Частые случаи крайне тяжелого течения острого панкреатита наталкивает на поиск генетической предрасположенности у некоторых пациентов к такому развитию патологии. Ранее проводилось исследование генного полиморфизма гена индуцибельной NO-синтазы при бронхиальной астме [47]. В нашем исследовании запланировано изучить влияние генного полиморфизма *NOS3* на развитие септических осложнений при остром панкреатите.

Таким образом, при остром панкреатите тяжелого течения вопросы хирургической тактики, прогнозирования развития септических осложнений и оценки эффективности проводимого лечения не имеют однозначного толкования.

Одним из направлений поиска представляется оценка показателей повреждения эндотелия на этапах лечения больных деструктивным панкреатитом.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на кафедре госпитальной хирургии Пермской государственной медицинской академии им. ак. Е.А. Вагнера Минздрава России на базе II хирургического отделения Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Пермского края «Ордена «Знак почета» Пермской Краевой клинической больницы (ПККБ). Проведено динамическое пассивное проспективное исследование больных ОПТТ, находившихся на лечении в клинике с января 2011 года по октябрь 2012 года. Большая часть пациентов поступала в клинику после оказания медицинской помощи в стационарах районных центров Пермского края, меньшую часть госпитализировали из районов города по скорой помощи. Отбор пациентов для исследования проводился в соответствии с классификацией острого панкреатита (Атланта 1992г) и с пересмотром этой классификации от 2012г, исключались пациенты с отечной формой панкреатита, обозначенной в классификации mild [69, 119, 133].

В соответствии с задачами исследования выбраны 42 пациента. Критерии включения в исследование:

- Острый панкреатит тяжелого течения билиарной, токсической, травматической этиологии, а также идиопатический.
- Впервые возникший острый панкреатит тяжелого течения и развившийся на фоне хронического.
- Острый панкреатит, тяжелое течение которого подтверждено компьютерной томографией и интраоперационными данными.
- Срок выполнения исследования - первые 10 суток от начала заболевания.
- Добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Диагноз острого панкреатита тяжелого течения ставили на основании: а) КТ признаков (распространение инфильтрации за пределы поджелудочной железы на парапанкреатическую клетчатку, забрюшинные клетчаточные пространства, наличие жидкостных скоплений в околопанкреатических тканях); б) интраоперационных признаков (наличие некротических изменений в самой железе или парапанкреатической клетчатке, распространение отека и

инфильтрации на околопанкреатические ткани и забрюшинную клетчатку, признаки ферментативного перитонита).

Критерии исключения из исследования:

- Не подтвердившееся тяжелое течение острого панкреатита.
- Отсутствие добровольного информированного согласия на участие в исследовании.

Общая характеристика выборки. Обследовано 42 пациента с острым панкреатитом тяжелого течения (ОП) находившихся на лечении в ГУЗ Пермской краевой клинической больницы в 2011-2012 годах, из них 28 – мужчины (66,6%), 14 – женщины (33,3%). Возраст больных был от 19 до 82 лет, $47,2 \pm 15,6$ лет (табл. 1).

Таблица 1. Возрастно-половой состав исследуемой группы больных панкреатитом тяжелого течения.

Пол	Возраст, лет							всего
	<20	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-82	
женщины	-	1	3	-	4	2	4	14
мужчины	1	1	10	5	9	2	-	28
Всего	1	2	13	5	13	4	4	42

В динамическое исследование маркеров эндотелиальной дисфункции из 42 пациентов вошли 33, у которых за время пребывания в стационаре удалось выполнить 2 и более исследования. Девять пациентов были исключены из исследования маркеров повреждения эндотелия в динамике по следующим причинам:

- 1) летальный исход до выполнения второго исследования – 2 пациента;
- 2) острое психическое расстройство на фоне абстиненции, и перевод в психиатрический стационар до выполнения второго исследования – 1 пациент;
- 3) отказ от дальнейшего лечения до выполнения второго исследования – 1 пациент;
- 4) выписка из стационара в связи с улучшением состояния до выполнения второго исследования – 2 пациента;

5) первое исследование выполнено позднее 10 суток от начала заболевания – 2 пациента;

б) тяжелая септическая интоксикация на фоне деструктивного холецистита и холангита – 1 пациент.

Среди обследованных 33 пациентов было 23 (69,7%) мужчин и 10 (30,3%) женщин. Возраст больных был от 19 до 82 лет, средний $46,45 \pm 15,45$ лет.

В качестве группы сравнения при исследовании ВЭФР, выбраны 13 практически здоровых людей проходивших ежегодный профилактический осмотр на базе НУЗ «ОКБ на ст. Пермь II ОАО «РЖД», из них 7 мужчин (53,8%) и 6 женщин (46,2%). Средний возраст обследуемых в этой группе составил $50,18 \pm 3,62$ лет. Группа сравнения сопоставима с исследуемой: по возрасту (сравнение средних $p=0,39$), по полу (точный критерий Фишера двусторонний $p=0,33$).

Больные острым панкреатитом тяжелого течения были разделены на 2 группы: в первую включены пациенты без СО ($n=18$), во вторую - с СО ($n=24$). При формировании групп наблюдения применялся метод адаптивной рандомизации.

Диагноз абдоминального сепсиса устанавливали согласно критериев предложенных в практическом руководстве под редакцией В.С. Савельева и Б.Р. Гельфанда [1, 72]. Выраженность клинических синдромов абдоминального сепсиса оценивали на основании характеристик, предложенных Б.Р. Гельфандом в 1999 г. В сторону утяжеления системной воспалительной реакции (СВР) выделялись следующие синдромы: сепсис - SIRS3 – наличие 3-х симптомов СВР, сепсис – SIRS4 – наличие 4-х симптомов СВР, тяжелый сепсис, септический шок [1]. Для удобства статистической обработки мы предложили балльную оценку клинических синдромов СВР: наличие 2 и менее критериев СВР – 1 балл, наличие 3 критериев СВР - 2 балла, наличие 4 критериев СВР - 3 балла, тяжелый сепсис – 4 балла, септический шок - 5 баллов (рационализаторское предложение №2611 от 20.03.2013г.). Исследования выполняли не позднее 10 дней от начала заболевания и далее с интервалом в 5-7 дней. В дни исследований тяжесть общего состояния

пациентов оценивалась по шкале прогноза SAPS II – Simplified Acute Physiology Score II. По данным проспективного исследования Riche F.C. e. a. (2003) шкала SAPS II может применяться для прогнозирования исходов инфицированного панкреонекроза $p < 0,002$ [93]. В исследуемой группе больных (n=42) летальный исход был у 5 пациентов (11.9%).

У пациентов основной группы в большинстве случаев (59.5%) была токсическая (этаноловая) этиология острого панкреатита (табл. 2).

Таблица 2. Этиология острого панкреатита в исследуемых группах.

Этиологический фактор	Группы больных		
	Группа без СО (n-18)	Группа с СО (n-24)	всего
токсический	11	14	25(59,5%)
билиарный	7	5	12(28,6%)
травматический	-	2	2(4,8%)
идиопатический	-	3	3(7,1%)

Пациенты основной группы (n=42) поступали в стационар через $5,38 \pm 9,09$ суток от начала заболевания, больные, вошедшие в динамическое исследование показателей эндотелиальной дисфункции (n=33), поступали через $4,18 \pm 3,03$ суток. Пациенты группы без СО были госпитализированы через $4,38 \pm 2,98$ суток, группы с СО - через $4,05 \pm 3,13$ суток (табл. 3).

Таблица 3. Сроки госпитализации больных после начала заболевания.

Сроки	Группы больных		
	Группа без СО (n-18)	Группа с СО (n-24)	Всего
1-е сутки	6	7	13(30,9%)
2-3 сутки	3	4	7(16,6%)
4-6 сутки	5	6	11(26,1%)
7-10 сутки	4	6	10(23,8%)
Позже 10 суток	-	1	1(2,3%)

В исследование генотипов *NOS3* включены 39 пациентов с ОПТТ из 42. Трое пациентов исключены из-за утраты генетического материала. Проводили исследование полиморфизма гена *NOS3* по структуре аллеля в 894 позиции, в 7 экзоне, при мутации происходит замена гуанина (G) на тимидин (T). Это ведет к замене глутаминовой кислоты на аспарагиновую в 298 позиции молекулы фермента. Из 39 обследованных 26 были мужчины (66,6%), 13 – женщины (33,3%). Средний возраст больных составил $48,05 \pm 15,84$ лет. В качестве группы сравнения при исследовании *NOS3* выбраны 80 практически здоровых пациентов, проходивших ежегодный профилактический осмотр на базе НУЗ «ОКБ на ст. Пермь II ОАО «РЖД». Из них 42 мужчины (52,5%) и 38 женщин (47,5%). Средний возраст обследуемых в этой группе составил $44,65 \pm 9,92$ лет. Контрольная группа сопоставима с исследуемой по полу (точный критерий Фишера двусторонний $p=0,16$).

На рисунке 1 представлен дизайн исследования.



Рис. 1. Дизайн исследования.

Методы исследований. Всем пациентам основной группы при госпитализации проводили: изучение жалоб и анамнеза, физикальное обследование. Общеклинические лабораторные методы исследования включали в себя: общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови с определением уровня общего белка и альбумина, глюкозы, трансаминаз, креатинина, мочевины, билирубина, амилазы, С-реактивного белка, электролитов – Na^+ , K^+ , Ca^{2+} . Газовый состав крови определяли с помощью газоанализатора Easy Stat REF 7101. Исследовали уровень прокальцитонина (ПКТ) в крови с помощью полуколичественного иммунохроматографического экспресс-теста BRAHMS PCT-Q.

Инструментальное обследование: выполняли рентгенографию грудной клетки, области живота, электрокардиографию, ультразвуковое исследование органов брюшной полости и КТ органов брюшной полости.

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости выполнено 32 (77%) больным с помощью эхотомографа «Philips HD 11 XE» с конвексным датчиком С 5-2 (16 МГц) по общепринятой методике.

КТ органов брюшной полости выполнена 40 (95%) больных с помощью спирального четырехсрезового рентгеновского томографа «Philips Mx 8000» с шагом сканирования 3,2 мм. КТ выполняли с пероральным (урографин) и с внутривенным контрастированием раствором ультрависта, везипака или омнипака.

Количественное определение ВЭФР в плазме крови выполняли с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов «VEGF – ИФА - Бест» ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Тест основан на «sandwich» методе твердофазного ИФА с применением моно- и поликлональных антител к ВЭФР человека. У пациента забиралась венозная кровь из кубитальной вены. Допускается хранение образцов до 3х месяцев при температуре -20°C и до 1года при -40°C . Концентрация ВЭФР в исследуемом материале определяется по величине оптической плотности образцов с помощью спектрофотометра

вертикального сканирования. Измерение оптической плотности проводилось при длине волны 450 нм, расчет количества ВЭФР проводили в пг/мл.

Принцип метода. На первом этапе иммобилизованные в лунках антитела к ВЭФР человека связываются во время инкубации с ВЭФР исследуемых, калибровочных и контрольных образцов. Не связавшийся материал удаляется отмывкой. Связавшийся ВЭФР на втором этапе взаимодействует при дальнейшей инкубации с конъюгатом №1 (антитела к ВЭФР с биотином). Не связавшийся конъюгат №1 удаляется отмывкой. На третьей стадии связавшийся конъюгат №1 взаимодействует при инкубации с конъюгатом №2 (стрептавидин с пероксидазой хрена). После отмывки конъюгата №2 добавляют хромоген – тетраметилбензидин. Реакцию останавливают добавлением стоп - реагента. Сразу после добавления стоп - реагента измеряют оптическую плотность растворов в лунках. По калибровочным образцам (6шт.) с известной концентрацией ВЭФР 0; 51,2; 128; 320; 800; 2000 выстраивают калибровочный график, отмечают значения оптической плотности стандартов на вертикальную ось, а концентрации ВЭФР на горизонтальную ось. Концентрацию ВЭФР в исследуемых образцах определяют по выстроенному графику.

Подразумевается, что в каждую серию анализа включается контрольный образец с известной концентрацией ВЭФР. Если значения контроля не укладываются в ожидаемый диапазон 553-747пг/мл, то результаты анализа могут быть недостоверны.

Методика.

- У пациента берут венозную кровь из кубитальной вены в количестве 2 мл, центрифугируют 10-15 минут со скоростью 3000 оборотов в минуту. Переносят в эпиндорф 0.1 мл плазмы. Допускается хранение образцов до 3х месяцев при температуре -20°C и до 1года при -40°C.

- В лунки микропланшета вносят по 100 мкл раствора для разведения образцов и по 100 мкл контрольных, калибровочных и исследуемых образцов.

- Стрипы микропланшета закрывают пленкой и инкубируют 120 мин при температуре 37°C при 700 об/мин.

- После промывания промывочным буфером в лунки вносят по 100 мкл рабочего раствора конъюгата №1.

- Стрипы вновь закрывают пленкой и помешают в шейкер на 60 мин при температуре 37°C и при 700 об/мин.

- После окончания инкубации лунки промывают 5 раз промывочным буфером и вносят по 100 мкл рабочего раствора конъюгата №2.

- Стрипы закрывают пленкой и инкубируют 30 мин при температуре 37°C и при 700 об/мин.

- После окончания инкубации лунки промывают 5 раз промывочным буфером и вносят по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина.

- Стрипы закрывают пленкой и инкубируют в темноте в течение 25 мин при температуре 18-25°C.

- После инкубации реакцию останавливают, добавив в каждую лунку по 100 мкл стоп - реагента.

- Регистрируют результаты не позже 5 мин после внесения стоп – реагента с помощью спектрофотометра. Оптическую плотность измеряют в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620-655 нм.

Диапазон измеряемых концентраций от 0 до 2000 пг/мл. При получении результатов превышающих 2000 пг/мл образец разводили в 20 раз раствором для разведения образцов и повторяли анализ еще раз. Полученную концентрацию ВЭФР умножали на кратность разведения.

Чувствительность анализа – 10 пг/мл. Воспроизводимость: коэффициент вариации результатов определения ВЭФР не превышает 8%.

Метод подсчета ДЭЦ в плазме крови предложен Hladovec в 1978г [38]. Принцип метода основан на отделении эндотелиоцитов вместе с тромбоцитами и последующем осаждении тромбоцитов аденозиндифосфатом (АДФ).

Методика.

- Из кубитальной вены в вакуумные пробирки с цитратом натрия набирают 3 мл крови. Сразу после взятия кровь центрифугируют 10 мин. при 1000 об./мин.

- 1 мл полученной плазмы смешивают в отдельной пробирке с 0,2 мл натриевой соли АДФ в концентрации 0,1 мг/мл. Содержимое пробирки аккуратно перемешивают в течении 10 мин.

- После перемешивания содержимое пробирки центрифугируют 10 мин при 1500 об./мин. Для осаждения агрегатов тромбоцитов.

- Свободную от тромбоцитов надосадочную плазму переносят в другую пробирку и центрифугируют для осаждения эндотелиальных клеток 15 мин. при 1500 об./мин.

- Надосадочную плазму удаляют, а полученный осадок суспендируют в 0,1 мл раствора хлорида натрия 0,9%.

- Суспензией заполняют камеру Горяева, клетки подсчитывают в двух сетках камеры методом световой микроскопии при увеличении 10x40.



Рис. 2. Эндотелиоциты в камере Горяева.

С учетом объема камеры Горяева, объема полученной суспензии и объема плазмы при подсчете эндотелиальных клеток полученный результат умножали на $10^4/\text{л}$ [29].

Полиморфизм *NOS3* исследовали на приборе «ДТ96» с помощью набора «ДНК-технология» (Москва). Набор предназначен для определения полиморфизмов в геноме человека методом плавления аллель-специфичных сигнальных проб. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) с использованием аллель-специфичных проб позволяет разделять аллельные варианты на основании разницы в эффективности накопления продуктов реакции. В образце, гомозиготном по одному из аллелей (несущем один вариант гена), температурные пики графиков будут отличаться, а в гетерозиготном (несущем оба варианта гена) - практически совпадать. При этом в гомозиготных образцах генотип определяют по более тугоплавкой пробе (у которой выше температура плавления).

Результаты исследований обработаны при помощи пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, USA). Для описания полученных количественных признаков использовались среднее арифметическое (M) и среднее квадратичное отклонение (σ). Для проверки значимости различий применялись непараметрические критерии Манна-Уитни, Вилкоксона. Связь признаков оценивалась при помощи регрессионного анализа с определением коэффициента ранговой корреляции Спирмена (R) и 95% доверительного интервала (CI). Сравнение групп больных по качественным признакам выполняли с помощью: критерия Пирсона, χ^2 , точного критерия Фишера. Различия между выборками считались статистически достоверными при значении для $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. ИСХОДНАЯ ТЯЖЕСТЬ СОСТОЯНИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ.

Пациенты группы без СО (n=18) находились в стационаре $11,5 \pm 6,7$ суток, поступали через $3,83 \pm 2,85$ суток от начала заболевания. Пациенты группы с СО (n=24), находились в стационаре $33,0 \pm 28,8$ суток. Они были госпитализированы в ПККБ через $4,79 \pm 4,05$ суток от начала заболевания. Тяжесть состояния пациентов с ОПТТ в двух группах при проведении исследований маркеров повреждения эндотелия оценивали с применением традиционных клинических и лабораторных методов (таб.4).

Таблица 4. Лабораторные и клинические показатели тяжести состояния больных ОПТТ.

Показатели	Группа ОПТТ (n=42)	Группа без СО (n=18)	Группа с СО (n=24)	P (U - тест)
SAPS II (баллы)	23,43±12,41	15,94±7,36	29,25±13,36	0,001
Тяжесть СВР (баллы)	2,38±1,88	0,55±0,70	3,87±1,11	0,0001
Полуколичественный ПКТ-тест (нг/мл)	4,26±4,24	0,20±0,27	4,53±4,26	0,002
С реактивный белок (мг/л)	227,41±167,01	195,4±123,9	255,9±183,6	0,33

Примечание. p - значимость различий между группой без СО и группой с СО.

Достоверные отличия в тяжести состояния между группами больных ОПТТ выявлены по шкале SAPSII, по тяжести СВР, по ПКТ-тесту, не выявлено - по уровню С-реактивного белка.

При поступлении у всех 42 пациентов с ОПТТ провели исследование уровня ВЭФР в сыворотке крови и количества ДЭЦ в плазме крови.

Результаты представлены в таблице 5. В группе из 13 здоровых человек уровень ВЭФР составил $144,7 \pm 97,7$ пг/мл, количество ДЭЦ $3,02 \pm 1,2 \times 10^4$ /л.

Таблица 5. Уровни ВЭФР в сыворотке крови и ДЭЦ у больных ОПТТ при поступлении.

Показатели	Группа сравнения (n=13)	Группа ОПТТ (n=42)		Группа без СО (n=18)		Группа с СО (n=24)		P ₄
		M±σ	p ₁	M±σ	p ₂	M±σ	p ₃	
ВЭФР (пг/мл)	144,7±97,7	517,2±619,3	0,0002	668,7±852,8	0,046	498,0±364,9	0,0001	0,44
ДЭЦ (10 ⁴ /л)	3,02±1,2	17,4±11,8	0,0001	16,9±8,9	0,0001	17,7±13,7	0,0005	0,89

Примечание. p₁ – значимость отличий между группами сравнения и больных ОПТТ; p₂ – значимость отличий между группами сравнения и больных ОПТТ без СО; p₃ – значимость отличий между группами сравнения и больных ОПТТ с СО; p₄ – значимость отличий в группах больных ОПТТ с СО и без СО.

Уровень ВЭФР и количество ДЭЦ у больных ОПТТ в обеих группах достоверно выше, чем у здоровых людей. Достоверной разницы между группой с СО и группой без СО в показателях ВЭФР и ДЭЦ в первые 10 суток от начала заболевания не выявлено. Выявлена прямая корреляционная связь средней силы между двумя маркерами повреждения эндотелия ВЭФР и ДЭЦ: метод Спирмена R=0,342 (95% CI=[0,330; 0,348]), p=0,026.

У 5 пациентов с ОПТТ наступил летальный исход (11,9%), уровень ВЭФР при поступлении у них был $420,36 \pm 197,87$ пг/мл, количество ДЭЦ $15,4 \pm 5,3 \times 10^4$ /л. Достоверной разницы в уровне ВЭФР между группой умерших и группой без СО не выявлено (U-тест p=0.638) и с выжившими в группе с СО также не выявлено (U-тест p=0.679), (рис. 3).

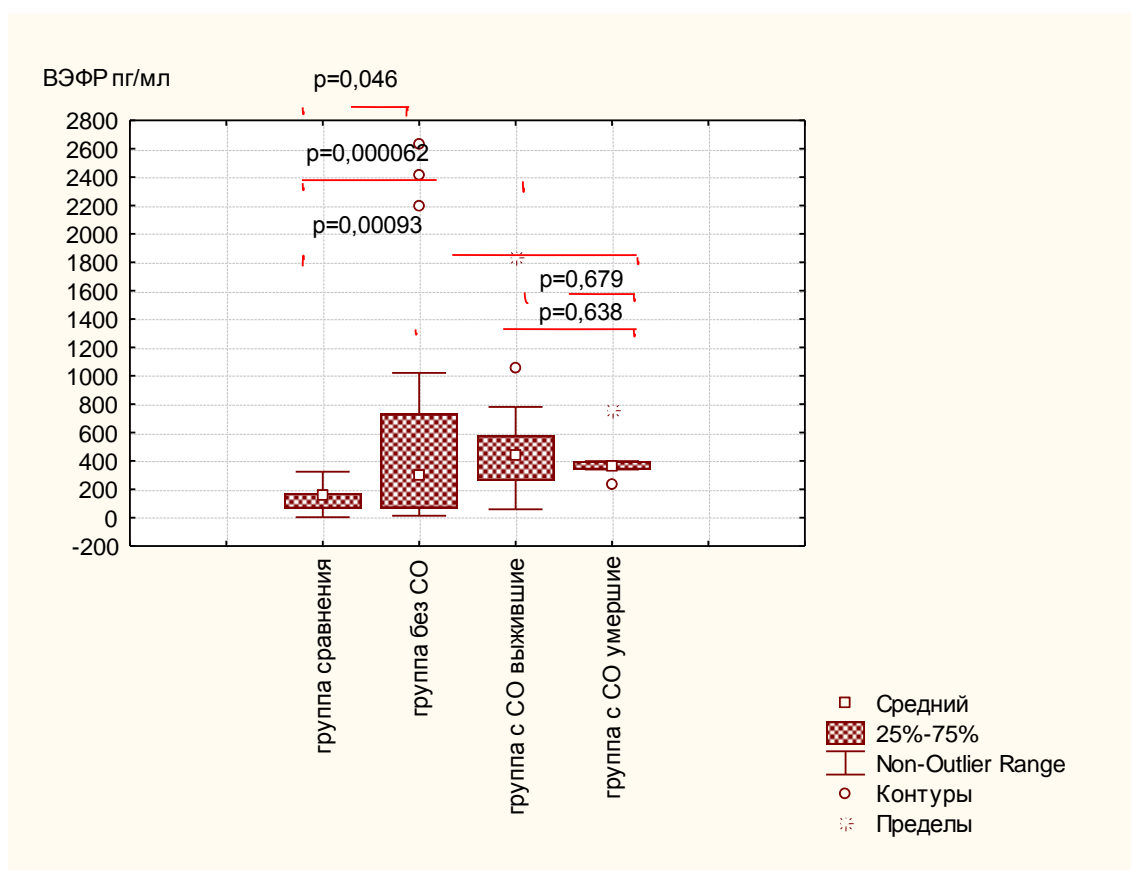


Рис. 3. Уровень ВЭФР сыворотки крови в группе сравнения и в группах больных ОПТГ.

По количеству ДЭЦ в первые 10 суток группа умерших от группы без СО достоверно не отличается (U-тест $p=0.91$), с группой выживших с СО также достоверных отличий нет (U-тест $p=0.83$), (рис 4).

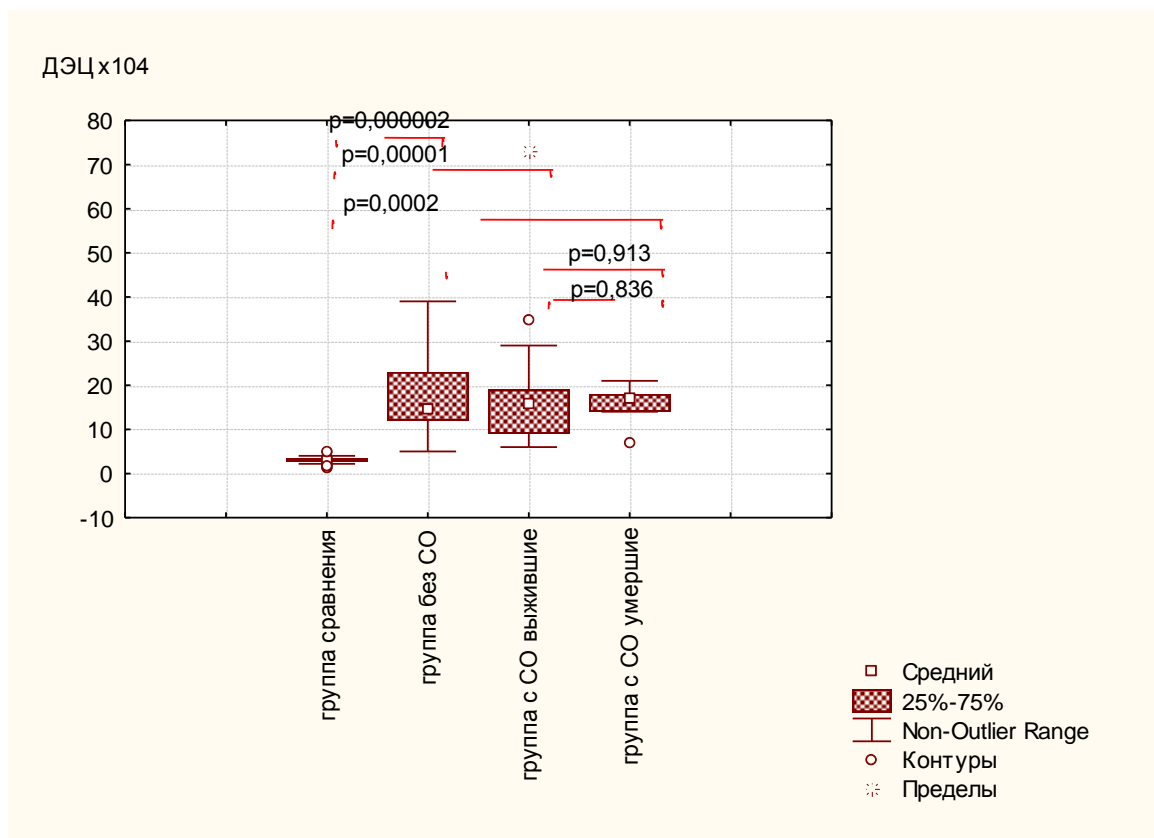


Рис. 4. Количество ДЭЦ в группе сравнения и в группах больных ОПТГ.

Проведен анализ взаимосвязей показателей эндотелиальной дисфункции и критериев тяжести состояния пациентов с ОПТГ (таб. 6).

Таблица 6. Корреляционный анализ показателей функционального состояния эндотелия и лабораторных и клинических показателей СВР у больных ОПТГ при поступлении.

Показатели	Группа ОПТГ (n-42)		Группа без СО (n-18)		Группа с СО(n-24)	
	R	p	R	p	R	p
ВЭФР и С-реактивный белок	-0,27	0,13	-0,5	0,17	-0,47	0,02*
ВЭФР и SAPS II	0,22	0,15	0,31	0,19	0,01	0,95
ВЭФР и тяжесть СВР	0,02	0,98	-0,16	0,51	-0,16	0,44

ВЭФР и ПКТ	0,07	0,79	-	-	0,11	0,71
ДЭЦ и С-реактивный белок	-0,13	0,46	-0,03	0,93	-0,125	0,57
ДЭЦ и SAPS II	0,05	0,76	-0,23	0,35	0,19	0,35
ДЭЦ и тяжесть СВР	0,046	0,76	-0,023	0,93	0,24	0,248
ДЭЦ и ПКТ	0,31	0,24	-	-	0,54	0,052

Примечание. * - корреляции достоверны.

Не выявлено взаимосвязей между маркерами повреждения эндотелия и тяжестью СВР, SAPSII, полуколичественным ПКТ-тестом в первые в первые 10 суток заболевания. Отмечена корреляция средней силы между ВЭФР и С-реактивным белком в группе с СО: метод Спирмена $R=-0,47$ (95% CI=[-0,45; -0,48]), $p=0,02$, но в целом в группе больных ОПТТ взаимосвязи этих показателей не отмечено ($R=-0,27$, $p=0,13$).

Из представленных данных видно, что группы пациентов с ОПТТ без СО и с СО по клинико-лабораторным показателям (тяжесть СВР, SAPS II, полуколичественный ПКТ – тест) достоверно отличались друг от друга, по уровню С-реактивного белка достоверных отличий нет. Установлено, что уровень ВЭФР и количество ДЭЦ у больных ОПТТ достоверно выше, чем у группы сравнения. Показатели повреждения эндотелия в группе больных ОПТТ коррелируют между собой в первые 10 дней заболевания. Достоверной разницы в показателях повреждения эндотелия в этот период заболевания между группами с СО и без СО нет, также нет отличий с группой умерших. Достоверных взаимосвязей между маркерами эндотелиальной дисфункции и с клинико-лабораторными показателями в первые 10 дней заболевания не установлено.

Таким образом, сопоставление клинических проявлений и лабораторных тестов и показателей эндотелиальной дисфункции в первый период заболевания не дает основания прогнозировать течение патологического процесса.

ГЛАВА 4. ТЯЖЕСТЬ СОСТОЯНИЯ И МАРКЕРЫ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ В ДИНАМИКЕ.

Исследование маркеров эндотелиальной дисфункции в динамике проведено у 33 пациентов с ОПТГ, они были разделены на две группы: в группу без СО включены 13 больных (n=13), в группу с СО вошли 20 пациентов (n=20).

4.1 Тяжесть состояния, количество десквамированных эндотелиоцитов и уровень васкулярного эндотелиального фактора у больных группы без септических осложнений в динамике.

Пациенты группы без СО (n=13) находились в стационаре $11,23 \pm 4,47$ суток, поступали через $4,38 \pm 2,98$ суток от начала заболевания. Клинико-лабораторные показатели тяжести состояния и маркеры повреждения эндотелия в динамике у больных группы без СО представлены в таблице 7.

Таблица 7. Тяжесть состояния и показатели повреждения эндотелия у пациентов группы без СО в динамике.

Исследования	SAPS II (баллы)	Тяжесть СВР (баллы)	ДЭЦ ($\times 10^4$ /л)	ВЭФР (пг/мл)
1 исследование	$16,23 \pm 8,09$	$0,31 \pm 0,48$	$18,77 \pm 9,47$	$839,25 \pm 941,01$
2 исследование	$13,0 \pm 5,68$	0	$14,36 \pm 7,78$	$938,86 \pm 489,05$
p (Wilcoxon тест)	0,012*	0,067	0,26	0,35

Примечание. * - отличия достоверны.

При анализе состояния пациентов по шкале SAPS II выявлено достоверное улучшение. По тяжести СВР также отмечено улучшение: отсутствие у всех пациентов проявлений системной воспалительной реакции, различия с 1 исследованием не достоверны. На фоне улучшения состояния больных показатели повреждения эндотелия изменились перекрестно. Количество ДЭЦ уменьшилось,

а уровень ВЭФР в сыворотке крови увеличился, различия между результатами не достоверны.

Проанализированы связи между показателями в группе без СО на протяжении динамического исследования (таб. 8).

Таблица 8. Корреляционный анализ показателей повреждения эндотелия и показателей тяжести состояния пациентов в динамике у пациентов группы без СО.

	R	p
ВЭФР и SAPSII	0,06	0,77
ВЭФР и тяжесть СВР	-0,17	0,40
ДЭЦ и SAPS II	-0,15	0,45
ДЭЦ и тяжесть СВР	0,40	0,039*
ВЭФР и ДЭЦ	-0,10	0,60

Примечание. R – взаимосвязь показателей (метод Спирмена); p – значимость корреляций; * - корреляции достоверны.

Выявлена достоверная положительная корреляция средней силы между тяжестью СВР и количеством ДЭЦ: метод Спирмена $R=0,405$ (95% CI = [0,022 и 0,695]), $p=0,039$. Достоверной связи между маркерами эндотелиальной дисфункции в этой группе пациентов не отмечено.

По результатам исследования количества ДЭЦ в динамике в группе без СО выделено 2 подгруппы. В 1 подгруппу включены 8 пациентов, у которых за время наблюдения количество ДЭЦ уменьшилось с $21,50 \pm 10,78 \times 10^4/\text{л}$ в 1 исследовании до $11,35 \pm 7,81 \times 10^4/\text{л}$ во втором (Wilcoxon тест $p=0,0117$). Во 2 подгруппу включены 5 пациентов, у которых за наблюдаемый период количество ДЭЦ увеличилось с $14,42 \pm 5,21 \times 10^4/\text{л}$ до $19,20 \pm 5,21 \times 10^4/\text{л}$, (Wilcoxon тест $p=0,043$) (рис.5).

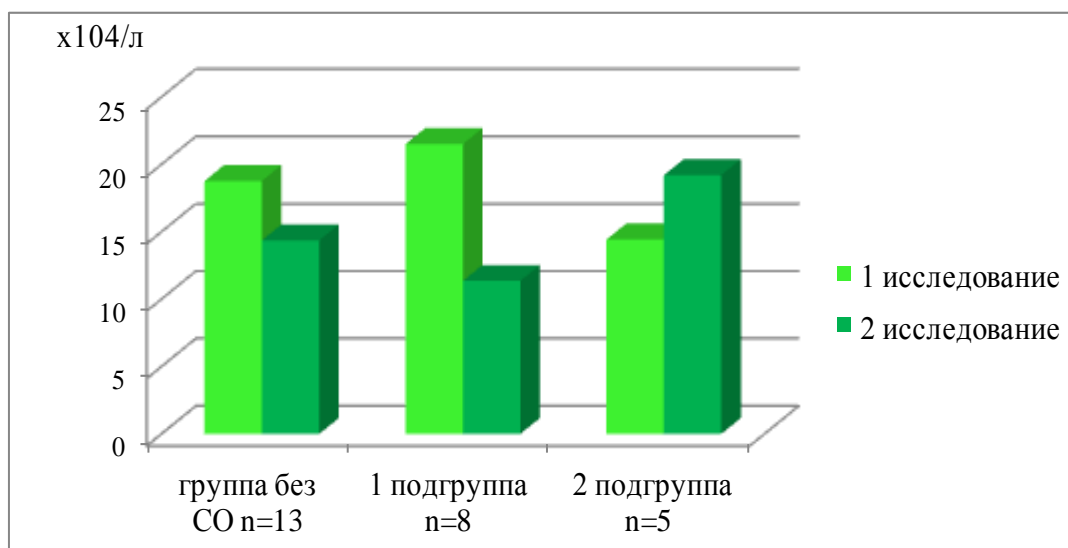


Рис. 5. Динамика изменений количества ДЭЦ у больных группы без СО.

Соотношение количества ДЭЦ, тяжести состояния и сроков госпитализации в подгруппах представлены в таблице 9.

Таблица 9. Динамика изменения количества ДЭЦ и тяжести состояния по шкале SAPS II, сроки госпитализации у больных обеих подгрупп группы без СО.

	ДЭЦ (x10 ⁴ /л)		SAPS II (баллы)		Срок госпитализации (койко-дни)
	1 исследование	2 исследование	1 исследование	2 исследование	
Группа без СО (n=13)	18,77±9,47	14,36±7,78	16,23±8,09	13,0±5,68	11,2±4,5
1 подгруппа (n=8)	21,50±10,7	11,35±7,81	18,12±9,56	14,37±6,43	10±3,2
2 подгруппа (n=5)	14,4±5,27	19,20±5,21	13,20±4,20	10,80±3,80	13,2±5,8
p1 (U - тест)	0,5	0,336	0,696	0,645	0,621
p2 (U - тест)	0,387	0,173	0,633	0,566	0,222
p3 (U - тест)	0,17	0,045*	0,435	0,354	0,341

Примечание. p1 - достоверность различий между группой без СО и 1 подгруппой; p2 - достоверность различий между группой без СО и 2 подгруппой; p3 – достоверность различий между подгруппами.

Выявлены достоверные отличия между подгруппами в количестве ДЭЦ во 2 исследовании. При этом статистически значимых различий в тяжести состояния между подгруппами и всей группой без СО не выявлено. Сроки госпитализации были больше во 2 подгруппе, но статистической достоверности не выявлено.

Проведен корреляционный анализ клинико-лабораторных показателей, количества ДЭЦ и времени от начала заболевания в группе без СО (таб. 10).

Таблица 10. Анализ взаимосвязей количества ДЭЦ, показателей тяжести состояния и времени от начала заболевания больных 1 и 2 подгрупп группы без СО.

	1 подгруппа		2 подгруппа	
	R	p	R	p
Количество ДЭЦ и SAPSII	-0,02	0,92	-0,76	0,009*
Количество ДЭЦ и тяжесть СВР	0,59	0,02*	0,17	0,62
Количество ДЭЦ и время от начала заболевания	-0,56	0,023*	0,54	0,10

Примечание. R – взаимосвязь показателей (метод Спирмена); p – значимость корреляций; * - корреляции достоверны.

Выявлена обратная корреляция тяжести состояния по SAPS II и количества ДЭЦ у пациентов 2 подгруппы: метод Спирмена $R=-0,76$ (95% CI=[-0,155; -0,953]), $p=0,009$, у больных 1 подгруппы взаимосвязи этих показателей не выявлено. У больных 1 подгруппы отмечена достоверная прямая связь количества ДЭЦ и степени тяжести СВР: метод Спирмена $R=0,59$ (95% CI=[0,085; 0,853]), $p=0,02$, в целом в группе без СО взаимосвязь этих показателей слабее $R=0,405$ (95% CI=[0,022; 0,695]), $p=0,039$. Также установлена достоверная обратная корреляция между количеством ДЭЦ и временем от начала заболевания в первой подгруппе: метод Спирмена $R=-0,56$ (95% CI=[-0,04; -0,84]), $p=0,023$, во 2 подгруппе и в целом в группе без СО достоверной корреляции этих показателей нет ($R=0,54$, $p=0,1$ и $R=-0,27$, $p=0,17$, соответственно).

По результатам исследования ВЭФР в динамике в группе без СО выделено две подгруппы. В 1 подгруппу включены 9 больных, у которых за наблюдаемый период времени (7суток) уровень ВЭФР в сыворотке крови повысился с $331,43 \pm 305,91$ пг/мл до $796,72 \pm 366,74$ пг/мл, (Wilcoxon тест $p=0,007$) (рис. 6).

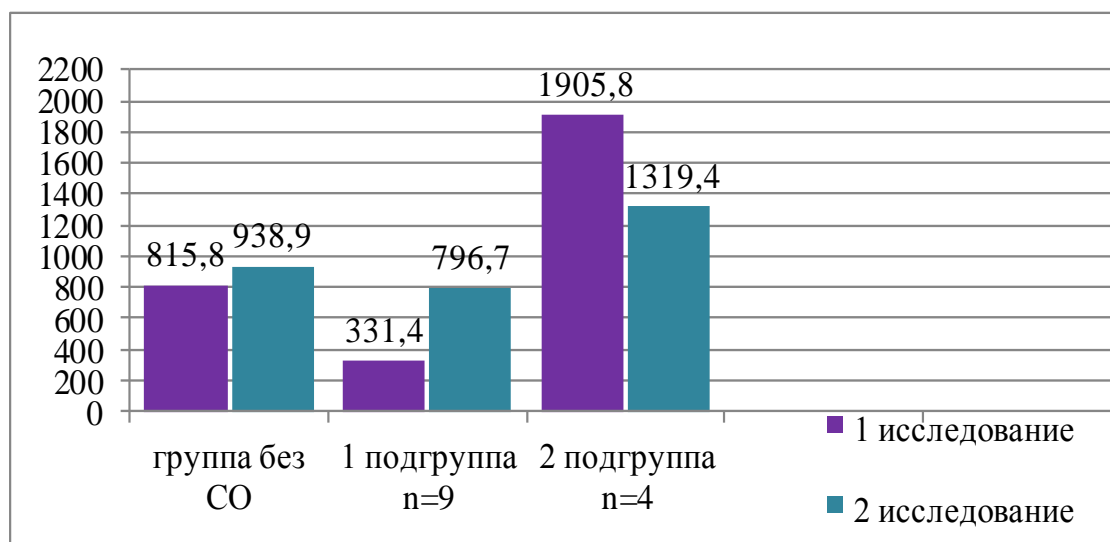


Рис. 6. Динамика изменений уровня ВЭФР у пациентов группы без СО.

Во 2 подгруппу вошли четверо больных, у которых при первом исследовании выявлен высокий уровень ВЭФР – $1905,85 \pm 818,08$ пг/мл, через 7 дней у всех он снизился до $1319,4 \pm 564,9$ пг/мл, (Wilcoxon тест $p=0,067$), но был выше, чем в 1 подгруппе при втором исследовании. Соотношение количества ВЭФР, тяжести состояния и сроков госпитализации в подгруппах представлены в таблице 11.

Таблица 11. Динамика изменений уровня ВЭФР сыворотки крови, тяжести состояния по шкале SAPSII, времени выполнения исследований от начала заболевания у больных обеих подгрупп группы без СО.

		Группа без СО (n=13)	1 подгруппа (n=9)	2 подгруппа (n=4)	p1 (U - тест)	p2 (U - тест)	p3 (U - тест)
ВЭФР пг/мл	1 исследование	$839,25 \pm 941,01$	$331,43 \pm 305,91$	$1981,85 \pm 882,11$	0,262	0,059	0,005*

	2исслед ование	938,86± 489,05	769,72± 366,74	1319,42 ±564,9	0,431	0,201	0,07
SAPS II баллы	1исслед ование	16,23± 8,09	15,11± 6,64	18,75± 11,5	0,896	0,87	0,825
	2исслед ование	13,0± 5,68	11,66± 4,60	16,0± 7,43	0,694	0,477	0,33
Время от начала заболеван ия (сутки)	1исслед ование	6,15± 2,64	5,2±2,5	8,25± 1,5	0,431	0,163	0,05
	2исслед ование	13,0± 2,9	12,1± 2,8	15±2,4	0,47	0,245	0,106

Примечание.p1 - достоверность различий между группой без СО и 1 подгруппой; p2 - достоверность различий между группой без СО и 2 подгруппой; p3 – достоверность различий между подгруппами.

Выявлены достоверные отличия между подгруппами в уровне ВЭФР сыворотки крови в 1 исследовании. При этом статистически значимых различий в тяжести состояния между подгруппами и всей группой без СО не выявлено. По времени выполнения исследований 1 и 2 подгруппы отличались друг от друга. Пациентам, вошедшим во 2 подгруппу, 1 исследование было выполнено в более поздние сроки от начала заболевания 8,25±1,5 суток, против 5,2±2,5 суток в 1 подгруппе, но статистически отличие не достоверно (U-тест, p=0,0501).

Проведен корреляционный анализ показателей тяжести состояния, уровня ВЭФР и времени от начала заболевания в группе без СО (таб. 12).

Таблица 12. Анализ взаимосвязей уровня ВЭФР, показателей тяжести состояния и времени от начала заболевания больных 1 и 2 подгруппы группы без СО.

	1 подгруппа		2 подгруппа	
	R	p	R	p
Уровень ВЭФР и SAPSII	-0,07	0,76	-0,06	0,88

Уровень ВЭФР и тяжесть СВР	-0,35	0,14	0,57	0,13
Уровень ВЭФР и время от начала заболевания	0,669	0,002*	-0,25	0,54

Примечание. R – взаимосвязь показателей (метод Спирмена); p – значимость корреляций; * - корреляции достоверны.

Выявлена достоверная корреляция между уровнем ВЭФР и временем проведения исследования от начала заболевания в первой подгруппе: метод Спирмена $R=0,669$ (95% CI=[0,260; 0,874]), $p=0,023$.

Отличие в динамике изменений уровня сывороточного ВЭФР в подгруппах можно объяснить временем взятия проб от начала заболевания. В 1 подгруппе 1 исследование проведено в основном в первые 7 суток от начала заболевания, за исключением 2 случаев на 8 и 9 сутки (рис. 7).



Рис. 7. Распределение больных 1 подгруппы по времени от начала заболевания до первого исследования.

Во 2 подгруппе 1 исследование выполнено с 7 по 10 сутки от начала заболевания (рис. 8).

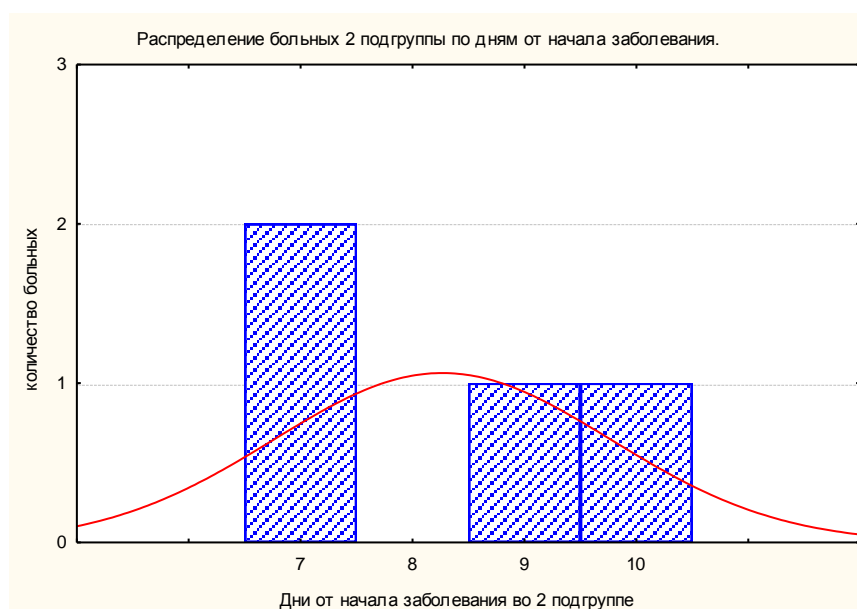


Рис.8. Распределение больных 2 подгруппы по времени от начала заболевания до 1 исследования.

В этот период времени во 2 подгруппе наблюдался разгар клинических проявлений панкреатита, что подтверждается тяжестью состояния по SAPS II. Уровень ВЭФР в 3 случаях из 4 превышал 2000 пг/мл. К моменту взятия последующей пробы у этих пациентов наступил некоторый регресс клинической симптоматики, и уровень ВЭФР сыворотки снизился по сравнению с 1 исследованием, но в целом остался выше, чем в 1 подгруппе.

Проведен анализ взаимосвязи между уровнем ВЭФР сыворотки крови и времени от начала заболевания у больных группы без СО (таб. 13).

Таблица 13. Взаимосвязь уровня ВЭФР сыворотки крови и времени проведения исследований в динамике в группе без СО.

Сравниваемые показатели	R	p
ВЭФР и время от начала заболевания при 1 и 2 исследованиях	0,575	0,002*
ВЭФР и время от начала заболевания при 1 исследовании	0,577	0,03*
ВЭФР и время от начала заболевания при 2 исследовании	0,694	0,008*

Примечание. R– взаимосвязь показателей (метод Спирмена); p – значимость корреляций; * - корреляции достоверны.

Выполнен линейный регрессионный анализ зависимости уровня ВЭФР от времени проведения исследования: проанализировано 26 случаев, бета=0,408, стандартная ошибка бета=0,186, p=0,038. На рисунке 9 представлена диаграмма рассеяния рассчитанных и фактических значений ВЭФР.

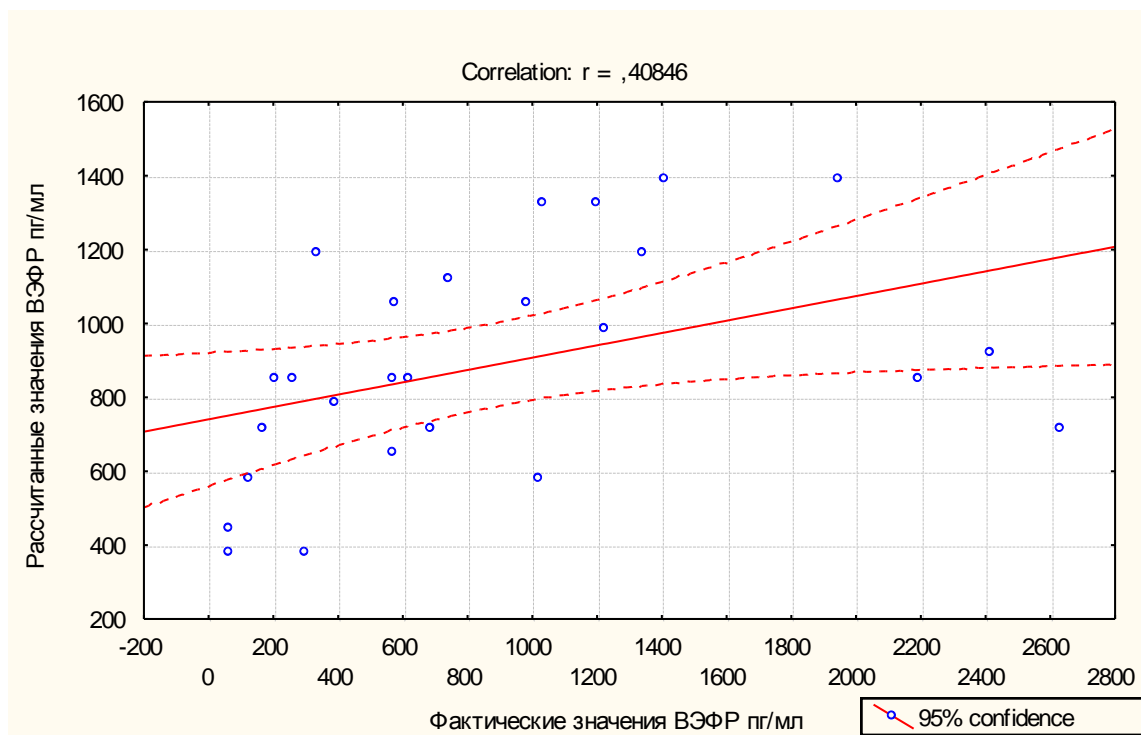


Рис. 9. Диаграмма рассеяния фактических и рассчитанных (по регрессионной модели) значений ВЭФР, график регрессионной прямой, 95% доверительный интервал.

Таким образом, в период заболевания со 2 по 17 сутки уровень ВЭФР в сыворотке крови зависит от времени взятия пробы в группе больных ОПГТ без СО.

При исследовании динамики изменений уровней ВЭФР сыворотки крови у пациентов группы без СО выявлено, что нарастание этого маркера развивается к 7-14 дням заболевания. В дальнейшем, он может незначительно снижаться, но остается намного выше нормы на фоне отсутствия у пациентов прогрессирования деструкции поджелудочной железы и гнойно-септических осложнений. Исходами заболевания были: в 8-ми случаях – остаточная инфильтрация железы и

парапанкреатической клетчатки, в 5-и – случаях формирование псевдокисты. Из полученных результатов можно заключить, что прогрессивное нарастание уровня ВЭФР в сыворотке крови больных ОПТТ к концу 2-й недели заболевания свидетельствует об адекватной, достаточной регенерации и имеет благоприятное прогностическое значение.

4.2 Тяжесть состояния, количество десквамированных эндотелиоцитов и уровень васкулярного эндотелиального фактора роста у больных группы с септическими осложнениями в динамике.

Пациенты группы с СО (n=20), находились в стационаре $36,8 \pm 29,9$ суток. Они были госпитализированы в ПККБ через $4,13 \pm 3,52$ суток от начала заболевания. Клинико-лабораторные показатели тяжести состояния и маркеры повреждения эндотелия в динамике у больных группы с СО представлены в таблице 14. В связи с осложненным течением заболевания и длительным пребыванием больных в стационаре, у 12 из них выполнено 3 исследование, у 5 пациентов – 4 исследование.

Таблица 14. Тяжесть состояния и показатели повреждения эндотелия у пациентов группы с СО в динамике.

Исследования	SAPS II (баллы)	Тяжесть СВР (баллы)	ДЭЦ ($\times 10^4$ /л)	ВЭФР (пг/мл)
1 исследование	$23,1 \pm 10,3$	$2,95 \pm 0,99$	$18,4 \pm 14,9$	$535,47 \pm 380,57$
2 исследование	$21,7 \pm 10,1$	$2,80 \pm 1,43$	$16,3 \pm 10,1$	$805,47 \pm 732,20$
3 исследование	$21,9 \pm 10,9$	$2,75 \pm 1,42$	$9,6 \pm 4,6$	$803,68 \pm 782,92$
4 исследование	$18,8 \pm 12,2$	$2,8 \pm 1,30$	$11,6 \pm 4,4$	$384,08 \pm 312,40$

При анализе состояния пациентов по шкале SAPS II и тяжести СВР выявлено прогрессивное улучшение состояния к последующим исследованиям, достоверных отличий не выявлено. Показатели повреждения эндотелия изменились перекрестно, количество ДЭЦ уменьшилось к третьему исследованию, в 4-м незначительно увеличилось. Уровень ВЭФР в сыворотке крови возрос ко 2 исследованию и оставался на том же уровне в 3-ем, в 4-ом

исследовании отмечено значительное снижение уровня фактора. Различия не достоверны.

Проанализирована взаимосвязь между показателями в группе с СО на протяжении динамического исследования (таб. 15).

Таблица 15. Корреляционный анализ показателей повреждения эндотелия и показателей тяжести состояния в динамике у пациентов группы с СО.

	R	p
Тяжесть СВР и SAPS II	0,569	0,000004*
ВЭФР и SAPS II	-0,024	0,85
ВЭФР и тяжесть СВР	-0,34	0,009*
ДЭЦ и SAPS II	0,23	0,07
ДЭЦ и тяжесть СВР	0,20	0,129
ВЭФР и ДЭЦ	-0,009	0,94

Примечание. R – взаимосвязь показателей (метод Спирмена); p – значимость корреляций; * – корреляции достоверны.

Выявлена достоверная положительная корреляция средней силы между тяжестью СВР и тяжестью состояния по шкале SAPS II: метод Спирмена $R = 0,569$ (95% CI=[0,345; 0,718]), $p = 0,000004$. Определена достоверная отрицательная взаимосвязь тяжести СВР и уровня ВЭФР сыворотки крови в группе с СО: метод Спирмена $R = -0,341$ (95% CI=[-0,082; -0,556]), $p = 0,009$, и в целом у всех динамически обследованных пациентов с ОПГТ: метод Спирмена $R = -0,296$ (95% CI=[-0,082; -0,483]), $p = 0,006$. Сравнение коэффициентов корреляции (R_1 – группа с СО и R_2 – вся группа больных ОПГТ): $R_1 = -0,341$, $R_2 = -0,296$, $N_1 = 57$, $N_2 = 83$, $p = 0,8$.

Не выявлено достоверных взаимосвязей между уровнем ВЭФР сыворотки крови и тяжестью состояния по шкале SAPS II у пациентов группы с СО. Достоверной связи между маркерами эндотелиальной дисфункции в этой группе также не отмечено.

Выполнен линейный регрессионный анализ зависимости уровня ВЭФР сыворотки крови от тяжести СВР у пациентов группы с СО: проанализировано 57

случаев, $\beta=0,285$, стандартная ошибка бета=0,129, $p=0,031$. На рисунке 10 представлена диаграмма рассеяния рассчитанных и фактических значений ВЭФР.

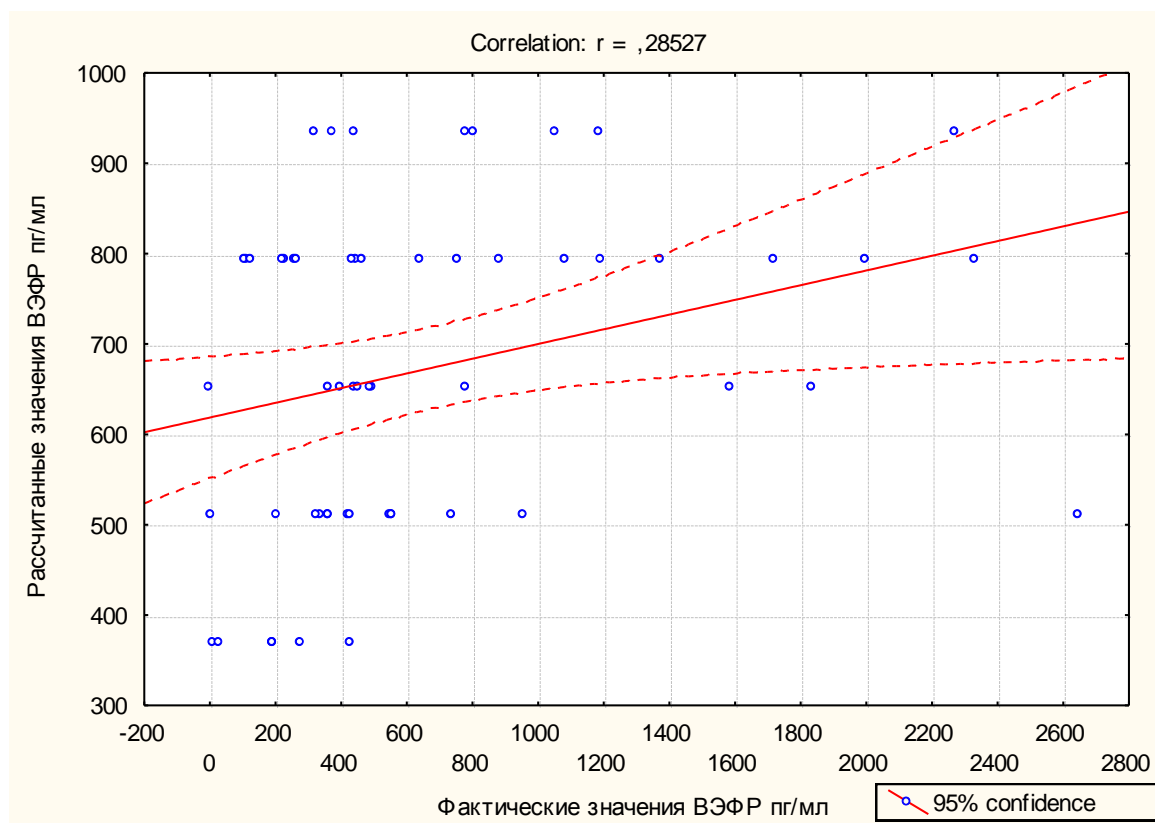


Рис. 10. Диаграмма рассеяния фактических и рассчитанных (по регрессионной модели) значений ВЭФР, график регрессионной прямой, 95% доверительный интервал в группе пациентов с СО.

Также выполнен линейный регрессионный анализ зависимости уровня ВЭФР сыворотки крови от тяжести СВР у всех больных ОПТТ, включенных в динамическое исследование. Проанализировано 83 случая, $\beta=0,258$, стандартная ошибка бета=0,107, $p=0,018$. Диаграмма рассеяния представлена на рис. 11.

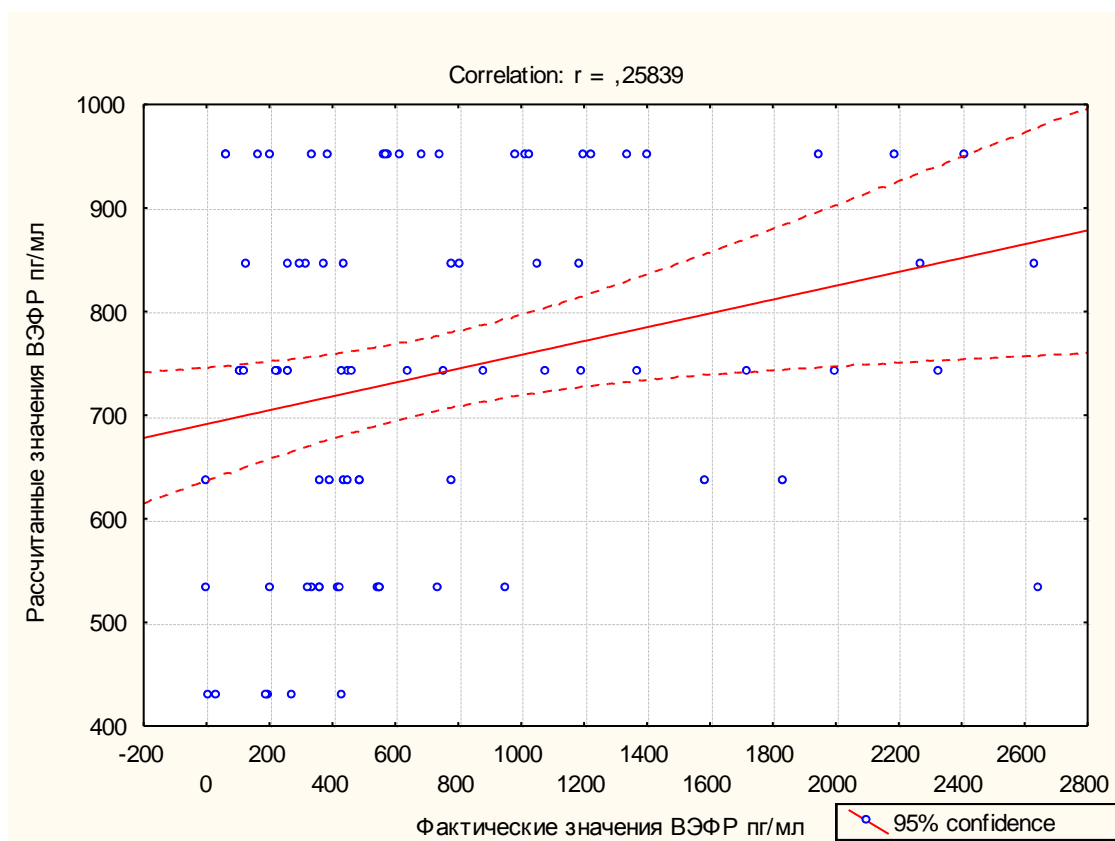


Рис. 11. Диаграмма рассеяния фактических и рассчитанных (по регрессионной модели) значений ВЭФР, график регрессионной прямой, 95% доверительный интервал в группе больных ОПТТ.

Таким образом, уровень ВЭФР в сыворотке крови зависит от тяжести СВР в группе больных ОПТТ, обследованных в динамике.

По результатам исследования количества ДЭЦ в динамике в группе с СО выделено 2 подгруппы. В 1 подгруппу включены 7 пациентов, у которых за время наблюдения количество ДЭЦ уменьшилось с $25,57 \pm 22,59 \times 10^4/\text{л}$ в 1 исследовании до $7,62 \pm 4,77 \times 10^4/\text{л}$ во втором (Wilcoxon тест $p=0,017$). Во 2 подгруппу включены 13 пациентов, у которых за наблюдаемый период количество ДЭЦ увеличилось с $14,53 \pm 7,27 \times 10^4/\text{л}$ при 1 исследовании, до $20,53 \pm 9,87 \times 10^4/\text{л}$ во втором, (Wilcoxon тест $p=0,021$). В 12 случаях выполнено 3 исследование количества ДЭЦ, и выявлено снижение до $9,58 \pm 4,60 \times 10^4/\text{л}$, по сравнению со 2 исследованием, (Wilcoxon тест $p=0,023$). В 5 случаях было сделано 4 исследование, количество ДЭЦ при котором составило $10,4 \pm 6,1 \times 10^4/\text{л}$, отличие от 3 исследования не достоверно (Wilcoxon тест $p=0,68$) (рис. 12).

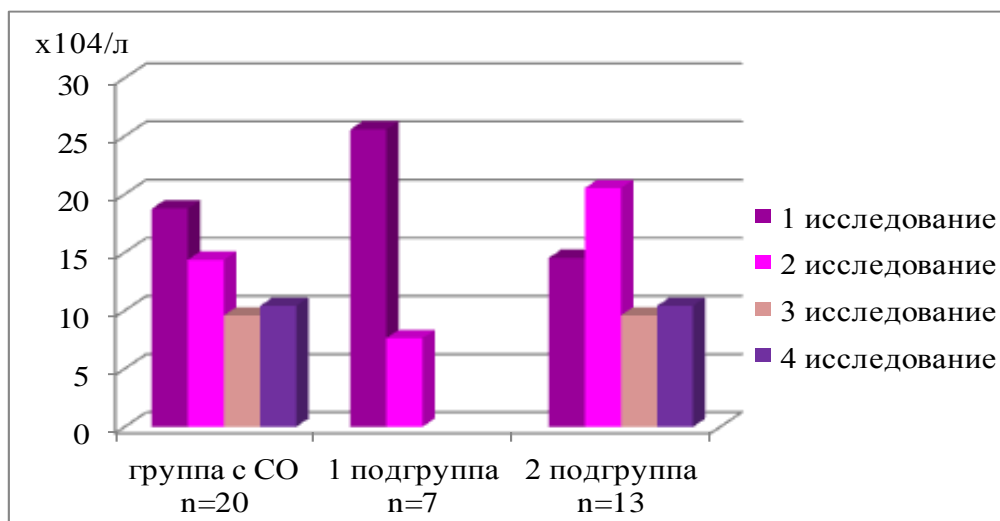


Рис. 12. Динамика изменения количества ДЭЦ у больных группы с СО.

Тяжесть состояния по шкале SAPS II у пациентов 1 подгруппы достоверно уменьшилась во 2 исследовании с $22,14 \pm 9,71$ балла до $15,42 \pm 4,54$ (Wilcoxon тест $p=0,018$), у пациентов 2 подгруппы напротив увеличилась с $23,61 \pm 11,02$ балла, до $25,07 \pm 10,79$, различия не достоверны (Wilcoxon тест $p=0,57$). В 3 исследовании во 2 подгруппе выявлено снижение тяжести состояния до $21,91 \pm 10,94$ баллов, в 4 исследовании до $18,60 \pm 13,64$ баллов, различия между исследованиями не достоверны (Wilcoxon тест $p=0,4$, $p=1,0$ соответственно). Динамика изменений тяжести состояния по шкале SAPS II в группе с СО представлена на рисунке 13.

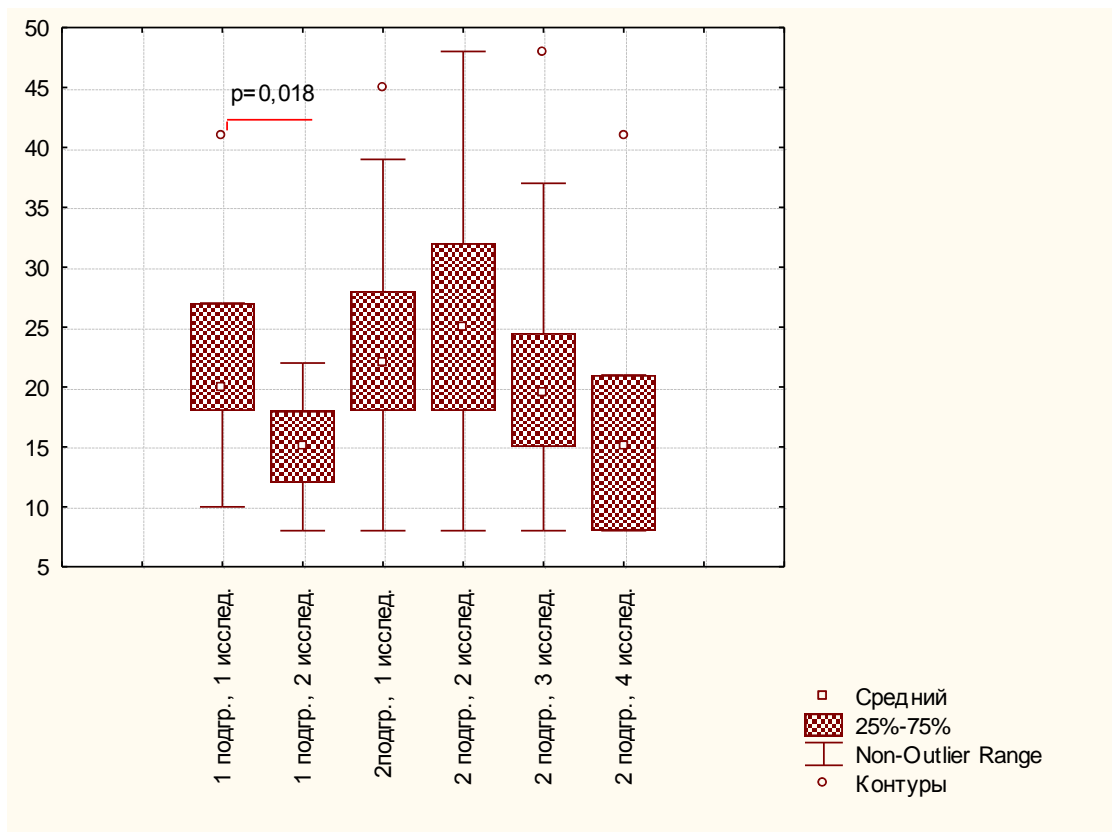


Рис. 13. Динамика изменений тяжести состояния по шкале SAPS II в подгруппах с СО, выделенных по результатам исследования количества ДЭЦ.

Тяжесть СВР в 1 подгруппе группы с СО уменьшилась с $3 \pm 0,81$ баллов до $1,71 \pm 0,75$ баллов, различия достоверны (Wilcoxon тест $p=0,017$). Во 2 подгруппе тяжесть состояния увеличилась с $2,92 \pm 1,11$ баллов до $3,38 \pm 1,38$, различия не достоверны (Wilcoxon тест $p=0,38$). В 3 исследовании тяжесть СВР уменьшилась до $2,75 \pm 1,42$ баллов, в 4-ом возросла до $2,8 \pm 1,3$ баллов, различия статистически не достоверны (Wilcoxon тест $p=0,233$, $p=0,273$, соответственно). Динамика изменений тяжести СВР в группе с СО представлена на рисунке 14.

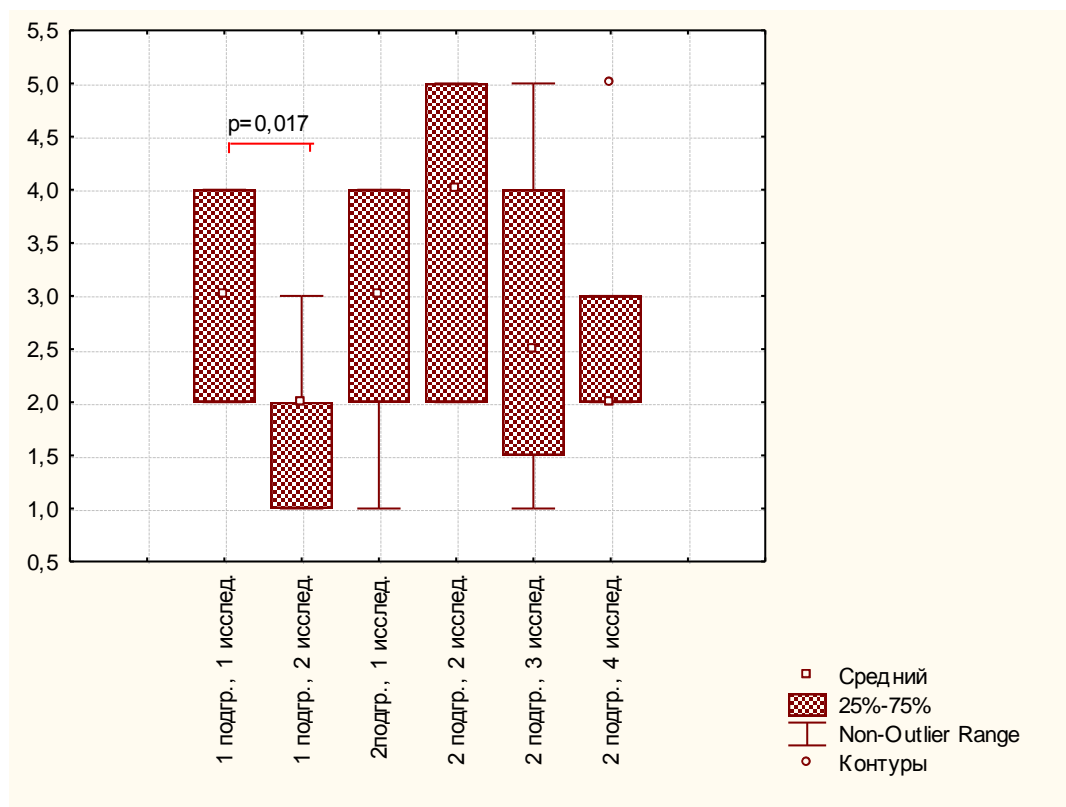


Рис. 14. Динамика изменений тяжести СВР в подгруппах с СО, выделенных по результатам исследования количества ДЭЦ.

Соотношение количества ДЭЦ, тяжести состояния, сроков выполнения исследований и госпитализации в подгруппах представлены в таблице 16.

Таблица 16. Динамика изменения количества ДЭЦ, тяжести состояния по шкале SAPSII, тяжести СВР и сроки выполнения исследований и госпитализации в обеих подгруппах больных группы с СО.

		ДЭЦ ($\times 10^4/\text{л}$)	SAPS II (баллы)	Тяжесть СВР (баллы)	Время от начала заболевания (сутки)	Срок госпитал изации (сутки)
1 подгруппа n=7	1 исследование	25,57±22,5 9	22,14±9,71	3±0,81	6,85±3,07	19,1±7,5
	2 исследование	8,57±4,27	15,42±4,54	1,71±0,75	14,42±4,11	

2 подгруппа n=13	1 исследование	14,53±7,27	23,61±11,02	2,92±1,11	5,77±3,29	46,3± 33,3
	2 исследование	20,53±9,87	25,07±10,79	3,38±1,38	13,53±5,02	
	3 исследование	9,58±4,60	21,91±10,94	2,75±1,42	21,33±4,86	
	4 исследование	10,4±6,1	18,83±12,22	2,8±1,3	31,6±10,1	
	p1(U - тест)	0,27	0,69	0,96	0,43	
	p2(U - тест)	0,004*	0,029*	0,014*	0,48	
	p3(U - тест)					0,008*

Примечание. p1 - достоверность различий результатов 1-го исследования между подгруппами; p2 - достоверность различий результатов во 2 исследовании между подгруппами; p3 – достоверность различий между подгруппами в сроках госпитализации.

Выявлены достоверные различия в тяжести общего по шкале SAPSII и тяжести СВР у пациентов 1 и 2 подгрупп во 2 исследовании: (U - тест) p=0,029 и p=0,014 соответственно, также достоверно отличалось количество ДЭЦ в подгруппах при 2 исследовании: (U - тест p=0,004). Пациенты 2 подгруппы находились в стационаре достоверно дольше, чем пациенты 1 подгруппы: (U - тест) p=0,008. Статистически значимых отличий между группами в сроках исследования от начала заболевания не выявлено.

Проведен корреляционный анализ показателей тяжести состояния, количества ДЭЦ и времени от начала заболевания (таб. 17).

Таблица 17. Анализ взаимосвязей количества ДЭЦ, показателей тяжести состояния и времени от начала заболевания больных 1 и 2 подгруппы группы с СО.

	1 подгруппа		2 подгруппа	
	R	p	R	p
Количество ДЭЦ и SAPSII	0,07	0,81	0,26	0,10
Количество ДЭЦ и тяжесть СВР	0,31	0,28	0,14	0,35
Количество ДЭЦ и время от начала заболевания	-0,72	0,003*	0,23	0,12

Примечание. R – взаимосвязь показателей (метод Спирмена); p – значимость корреляций; * - корреляции достоверны.

Выявлена достоверная обратная корреляция количества ДЭЦ и времени от начала заболевания у пациентов 1 подгруппы: метод Спирмена $R = -0,72$ (95% CI $=[-0,251; -0,914]$), $p = 0,003$, у больных 2 подгруппы взаимосвязи этих показателей не выявлено. Также обратная корреляция этих показателей выявлена у всех пациентов группы без СО и 1 подгруппы с СО: метод Спирмена $R = -0,464$ (95% CI $=[-0,171; -0,681]$), $p = 0,002$. Выполнен линейный регрессионный анализ зависимости количества ДЭЦ и времени от начала заболевания в группе без СО и в 1 подгруппе группы с СО: проанализировано 40 случаев, бета = 0,415, стандартная ошибка бета = 0,147, $p=0,008$. Диаграмма рассеяния представлена на рисунке 15.

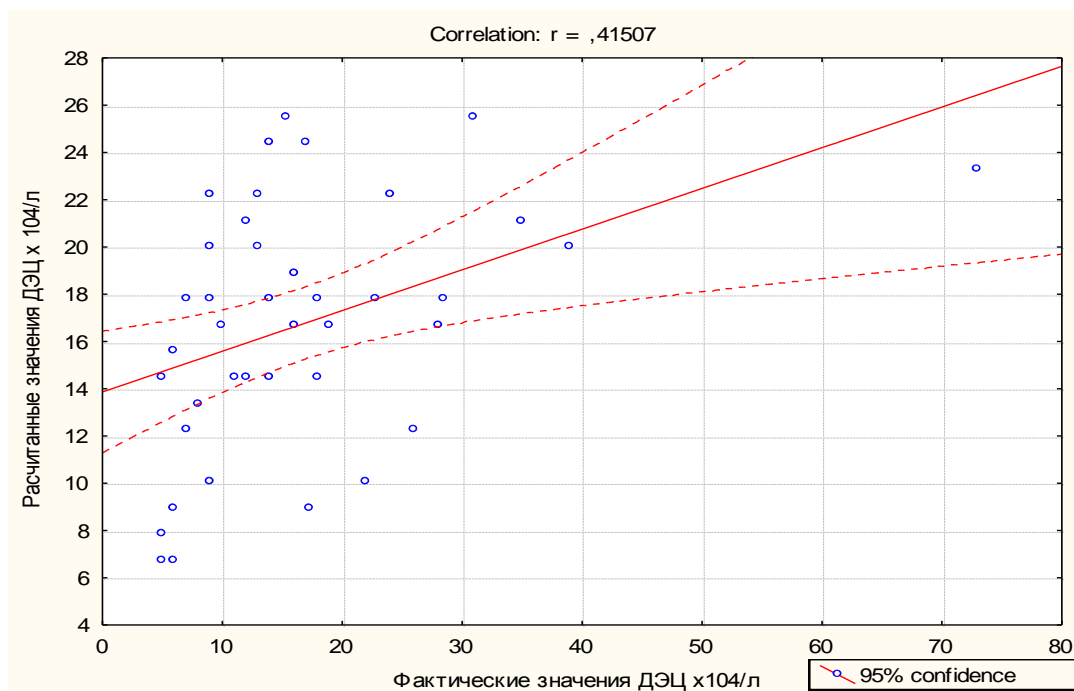


Рис. 15. Диаграмма рассеяния фактических и рассчитанных (по регрессионной модели) значений количества ДЭЦ, график регрессионной прямой, 95% доверительный интервал в группе без СО и в 1 подгруппе больных с СО.

Из этого можно сделать вывод, что при благоприятном течении ОПТТ и регрессе СО количество ДЭЦ снижается с течением времени, со 2 по 19 сутки.

По результатам исследования уровня ВЭФР сыворотки крови в динамике в группе с СО выделено две подгруппы. В 1 подгруппу включены 11 больных, у которых после первого исследования уровень ВЭФР сыворотки крови поднялся с $574,02 \pm 444,88$ пг/мл до $1237,43 \pm 734,11$ пг/мл, (Wilcoxon тест $p=0.003$). У 5 больных выполнено 3 исследование при котором выявлено, что уровень ВЭФР еще более увеличился по сравнению с уровнем во 2 исследовании, и составил $1501,44 \pm 721,97$ пг/мл, (Wilcoxon тест $p=0,04$), и у 1 пациента выполнено 4 исследование, уровень ВЭФР при котором составил 884,8 пг/мл. Во 2 подгруппу включены 9 больных, у которых отмечено снижение уровня ВЭФР плазмы крови с $488,34 \pm 303,39$ пг/мл до $277,52 \pm 171,76$ пг/мл (Wilcoxon тест $p=0,03$). У 7 больных в этой подгруппе выполнено 3-е исследование, уровень ВЭФР составил $305,28 \pm 284,17$ пг/мл, у 4 пациентов выполнено 4 исследование, уровень ВЭФР при котором был $258,9 \pm 160,18$ пг/мл (рис. 16).

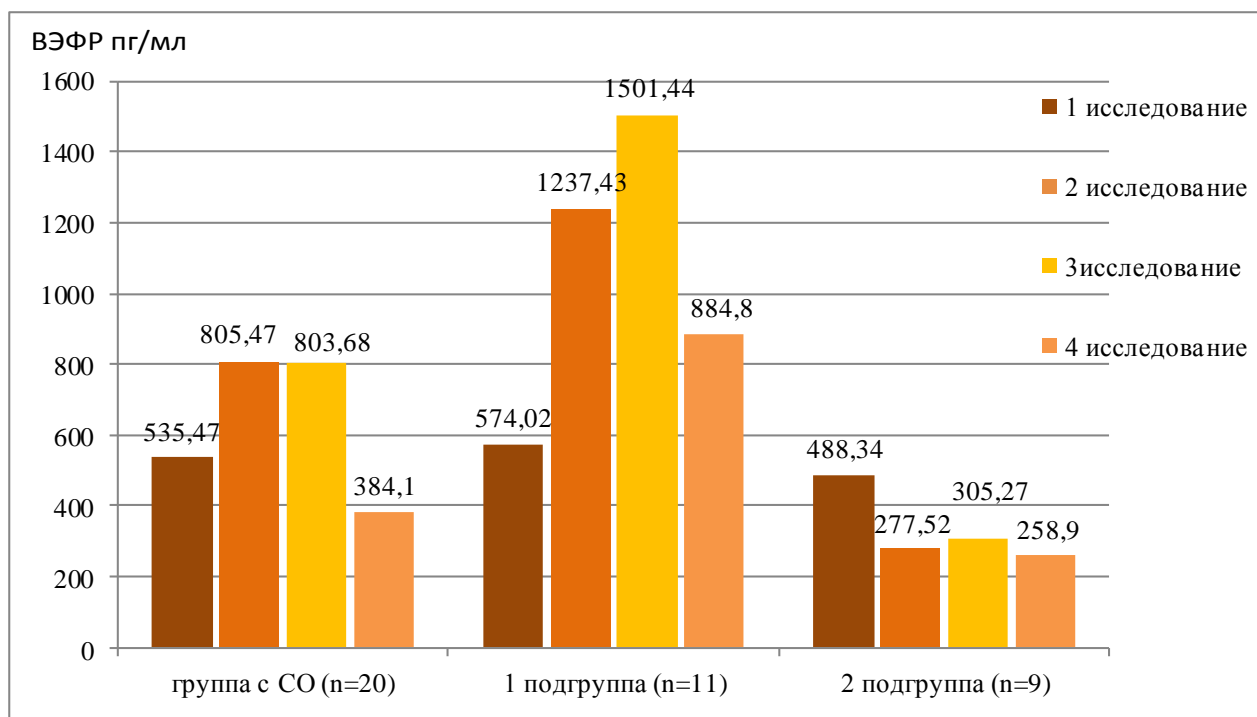


Рис. 16. Динамика изменений уровня ВЭФР в группе с СО.

Тяжесть состояния по шкале SAPS II у пациентов 1 подгруппы достоверно уменьшилась во 2 исследовании с $23,54 \pm 11,27$ балла до $18,18 \pm 6,53$ (Wilcoxon тест $p=0,038$). У 5 пациентов в этой подгруппе выполнено 3 исследование, тяжесть состояния по шкале SAPS II составила $19,8 \pm 10,75$, у 1-го пациента в 4-ом исследовании тяжесть состояния по шкале SAPS II была 8 баллов, отличия от предыдущих исследований не достоверны (Wilcoxon тест $p=0,59$, $p=1,0$, соответственно). Во 2 подгруппе тяжесть состояния по шкале SAPS II увеличилась с $22,55 \pm 9,74$ балла до $26 \pm 12,32$, различия не достоверны (Wilcoxon тест $p=0,32$). В 3 исследовании (7 пациентов) выявлено снижение тяжести состояния до $23,42 \pm 11,67$ баллов, в 4 исследовании (4 пациента) до $21,25 \pm 14,19$ баллов, различия между исследованиями не достоверны (Wilcoxon тест $p=0,34$, $p=1,0$, соответственно). Динамика изменений тяжести состояния по шкале SAPS II в подгруппах представлена на рисунке 17.

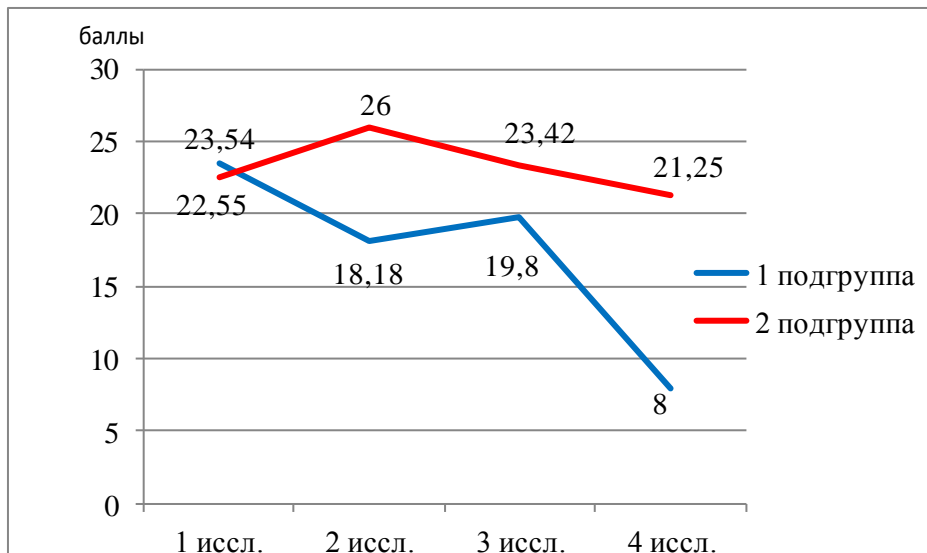


Рис. 17. Динамика изменений тяжести состояния по шкале SAPS II в подгруппах с СО, выделенных по результатам исследования уровня ВЭФР.

Тяжесть СВР в 1-ой подгруппе группы с СО уменьшилась с $2,91 \pm 0,94$ баллов до $2,18 \pm 1,08$ баллов, различия не достоверны (Wilcoxon тест $p=0,059$). У 5-и пациентов в этой подгруппе выполнено 3-е исследование, тяжесть СВР составила $2,6 \pm 1,34$ баллов, у 1-го пациента в 4-ом исследовании тяжесть СВР была 2 балла, отличия от предыдущих исследований не достоверны (Wilcoxon тест $p=0,78$, $p=1,0$, соответственно). Во 2-ой подгруппе тяжесть состояния увеличилась с $3 \pm 1,12$ баллов до $3,5 \pm 1,6$, различия не достоверны (Wilcoxon тест $p = 0,44$). К 3 исследованию (7 пациентов) тяжесть СВР уменьшилась до $2,85 \pm 1,57$ баллов, в 4-ом (4 пациента) возросла до $3 \pm 1,4$ баллов, различия статистически не достоверны (Wilcoxon тест $p = 0,17$, $p=0,59$, соответственно). Динамика изменений тяжести СВР в группе с СО представлена на рисунке 18.

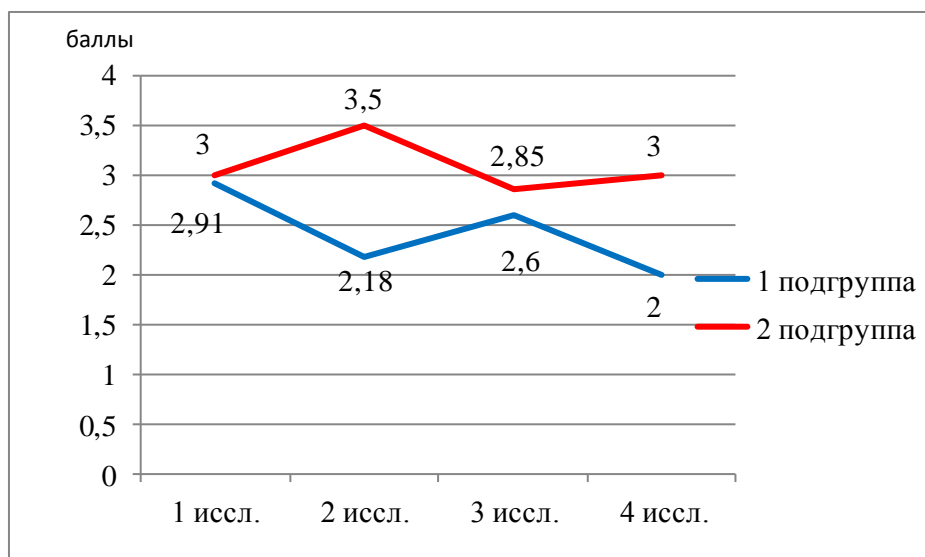


Рис. 18. Динамика изменений тяжести СВР в подгруппах с СО, выделенных по результатам исследования уровня ВЭФР.

Соотношение уровня ВЭФР в сыворотке крови, тяжести состояния, сроков выполнения исследований и госпитализации в подгруппах представлены в таблице 18.

Таблица 18. Динамика изменения уровня ВЭФР в сыворотке крови, тяжести состояния по шкале SAPS II, тяжести СВР и сроки выполнения исследований и госпитализации в обеих подгруппах больных группы с СО.

		ВЭФР (пг/мл)	SAPS II (баллы)	Тяжесть СВР (баллы)	Время от начала заболевания (сутки)	Срок госпитал изации (сутки)
1 подгруппа	1исследова ние	574,02± 444,88	23,54±11,27	2,91±0,94	6,18±3,45	36,7± 28,9
	2исследова ние	1237,43± 734,11	18,18±6,53	2,18±1,07	14,09±5,57	
	3исследова ние	1501,44± 721,97	19,80±10,75	2,6±1,34	22,8±7,19	
	4исследова ние	884,8	8	2	24	

2 подгруппа	1 исследование	488,34± 303,39	22,55±9,74	3±1,1	6,1±3,01	36,8 ± 32,7
	2 исследование	277,52± 171,76	26±12,32	3,5±1,6	13,55±3,05	
	3 исследование	305,28± 284,17	23,42±11,67	2,85±1,57	20,28±2,42	
	4 исследование	258,90± 160,18	21,25±14,19	3±1,41	33,5±10,66	
p1 (U-тест)		0,602	0,823	0,766	0,881	
p2 (U-тест)		0,0005*	0,229	0,046*	0,881	
p3 (U-тест)		0,005*	0,638	0,876	0,876	
p4 (U-тест)						0,823

Примечание. p1 – достоверность различий результатов в 1 исследовании между подгруппами; p2 – достоверность различий результатов во 2 исследовании между подгруппами; p3 – достоверность различий результатов в 3 исследовании между подгруппами; p4 – достоверность различий в сроках госпитализации.

Выявлены достоверные отличия между 1 и 2 подгруппами в уровне ВЭФР и тяжести СВР при 2 исследовании (U-тест) $p=0,0005$, $p=0,046$ соответственно. При 3 исследовании выявлены достоверные отличия между подгруппами только в уровне ВЭФР (U-тест) $p=0,005$.

Проведен корреляционный анализ показателей тяжести состояния, уровня ВЭФР и времени от начала заболевания (таб. 19).

Таблица 19. Анализ взаимосвязей уровня ВЭФР, показателей тяжести состояния и времени от начала заболевания больных 1 и 2 подгруппы группы с СО.

	1 подгруппа		2 подгруппа	
	R	p	R	p
Уровень ВЭФР и SAPSII	-0,09	0,62	0,13	0,49
Уровень ВЭФР и тяжесть	-0,14	0,42	-0,42	0,021*

СВР				
Уровень ВЭФР и время от начала заболевания	0,66	0,0005*	-0,23	0,25

Примечание. R – взаимосвязь показателей (метод Спирмена); p – значимость корреляций; * - корреляции достоверны.

Выявлена достоверная обратная корреляция уровня ВЭФР сыворотки крови тяжести СВР во второй подгруппе: метод Спирмена $R=-0,42$ (95% CI $=[-0,045; -0,690]$), $p=0,021$. Также определена прямая достоверная взаимосвязь уровня ВЭФР и времени от начала заболевания у пациентов 1 подгруппы: метод Спирмена $R=0,66$ (95% CI $=[0,519; 0,75]$), $p=0,0005$. В корреляционный анализ вошли исследования, выполненные с 1 по 32 сутки. Выполнен линейный регрессионный анализ зависимости уровня ВЭФР сыворотки крови от времени от начала заболевания в 1 подгруппе группы с СО: проанализировано 28 случаев, бета=0,559, стандартная ошибка бета $-0,162$, $p=0,00197$. Диаграмма рассеяния представлена на рисунке 19.

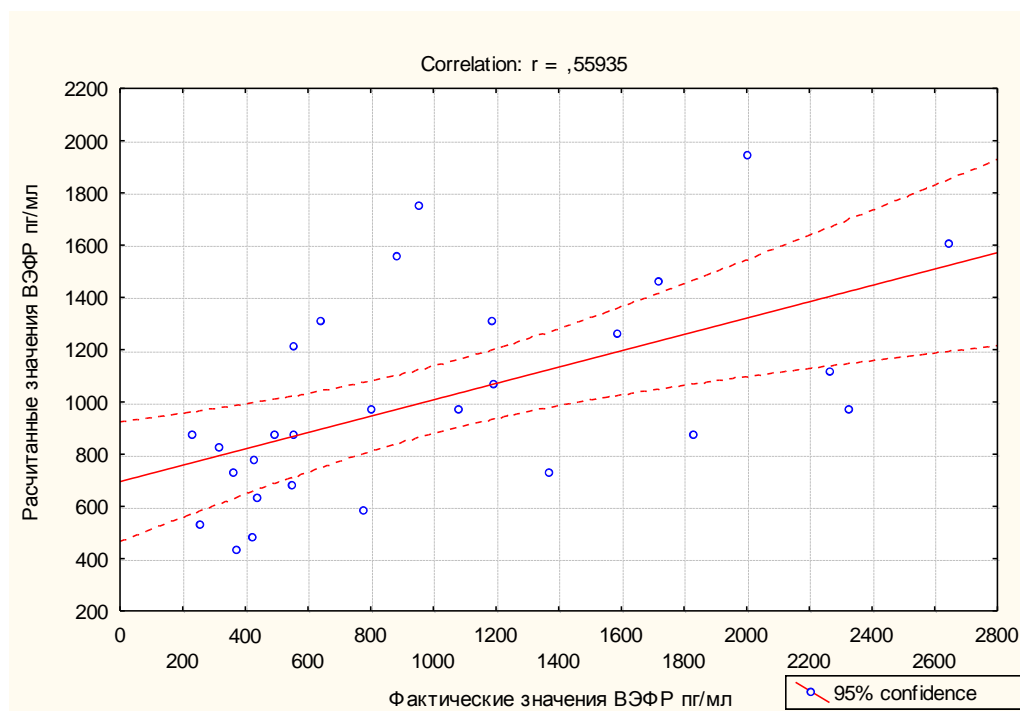


Рис. 19. Диаграмма рассеяния фактических и рассчитанных (по регрессионной модели) значений ВЭФР, график регрессионной прямой, 95% доверительный интервал в 1 подгруппе больных с СО.

Определена взаимосвязь уровня ВЭФР сыворотки крови и сроков исследования от начала заболевания в группе без СО и в 1 подгруппе с СО, выделенной по результатам ВЭФР: метод Спирмена $R=0,59$ (95% CI=[0,377; 0,742]), $p=0,000003$. Во всей группе больных ОПТТ обследованных в динамике ($n=33$) взаимосвязи этих показателей не выявлено: метод Спирмена $R=0,17$, $p=0,1$. Выполнен линейный регрессионный анализ зависимости уровня ВЭФР сыворотки крови от времени от начала заболевания в группе без СО и в 1 подгруппе группы с СО: проанализировано 54 случая, бета=0,492, стандартная ошибка бета=0,1207, $p=0,00015$. Диаграмма рассеяния представлена на рисунке 20.

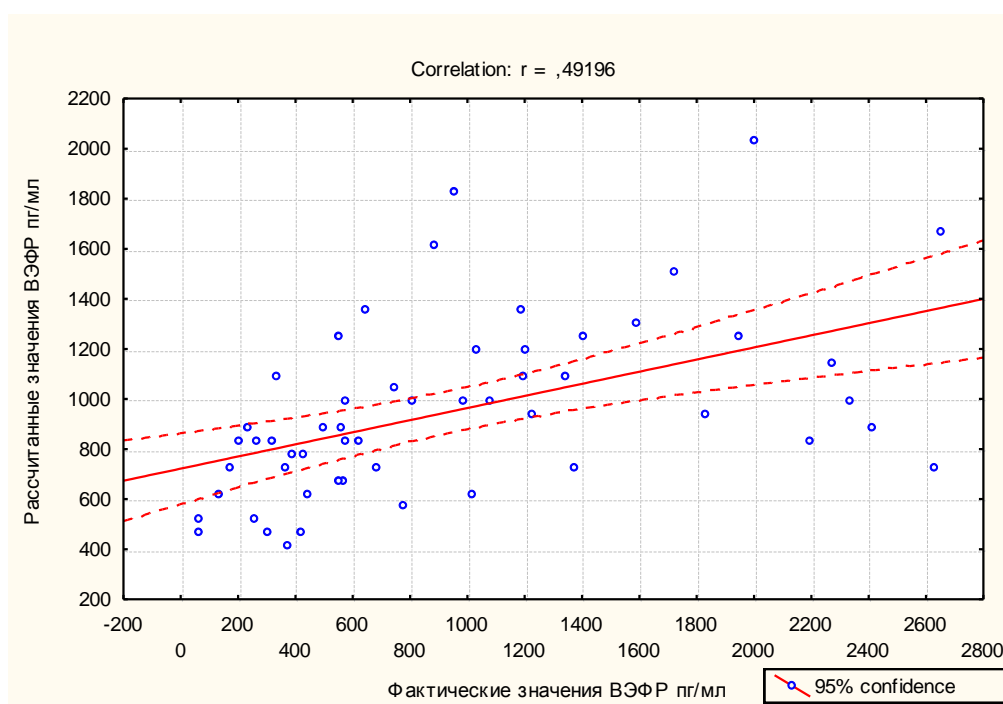


Рис. 20. Диаграмма рассеяния фактических и рассчитанных (по регрессионной модели) значений ВЭФР, график регрессионной прямой, 95% доверительный интервал в группе без СО и в 1 подгруппе больных с СО.

Эти данные позволяют сделать вывод, что у пациентов с ОПТТ без СО и у части больных из группы с СО с прогрессивным улучшением состояния по шкале SAPS II ($p=0,037$), уровень ВЭФР с течением времени возрастает.

Таким образом, по результатам, показанным в этом разделе, можно сделать следующие выводы. У больных группы с СО выявлена взаимосвязь тяжести состояния по шкале SAPS II и тяжести СВР ($R = 0,569$, $p= 0,000004$). Выявлена обратная корреляция тяжести СВР и уровня ВЭФР сыворотки крови, как в группе

с СО ($R=-0,341$, $p=0,009$), так и у всех динамически обследованных пациентов с ОПТТ ($R=-0,296$, $p=0,006$). При линейном регрессионном анализе установлена зависимость уровня ВЭФР сыворотки крови от тяжести СВР у пациентов группы с СО (бета= $0,285$, $p=0,031$), а также у всех больных включенных в динамическое исследование (бета= $0,258$, $p=0,018$).

Корреляции уровня ВЭФР сыворотки крови и тяжести состояния по шкале SAPS II не установлено. Также не выявлено взаимосвязи показателей тяжести состояния и количества ДЭЦ у пациентов группы с СО.

По результатам исследования динамики изменений количества ДЭЦ, удалось установить, что этот показатель повреждения эндотелия достоверно снизился у больных 1 подгруппы наряду с достоверным снижением тяжести СВР ($p=0,017$) и тяжести состояния по SAPS II ($p=0,018$). Срок госпитализации в этой подгруппе составил $19,1 \pm 7,5$ койко дней, что достоверно меньше, чем во 2 подгруппе $46,3 \pm 33,3$ ($p=0,008$). Исходы в 1 подгруппе были: у 5 человек – остаточная инфильтрация ткани железы и парапанкреатической клетчатки; у 2 человек – жидкостные скопления в области поджелудочной железы и сальниковой сумки. Во 2 подгруппе при 2 исследовании количество ДЭЦ увеличивалось или оставалось на прежнем уровне ($p=0,021$), при этом тяжесть состояния по шкале SAPS II и тяжесть СВР возрастали, различия с уровнем этих показателей при 1 исследовании не достоверны ($p=0,57$ и $p=0,38$, соответственно). Разница в тяжести общего состояния по шкале SAPS II и тяжести СВР у пациентов 1 и 2 подгрупп во 2 исследовании – достоверна: $p=0,029$ и $p=0,014$ соответственно, также достоверно отличалось количество ДЭЦ в подгруппах при 2 исследовании: (U - тест $p=0,004$). Во 2 подгруппе у 4 пациентов исходом была остаточная инфильтрация ткани железы и парапанкреатической клетчатки, у 5 – человек сформировались псевдокисты, у 1 – сформировался абсцесс сальниковой сумки, у 3-х – наступил летальный исход.

Таким образом, показатель повреждения эндотелия - количество ДЭЦ - позволил выделить группу пациентов с СО, достоверно отличающуюся от остальных больных с СО, в которой при втором исследовании достоверно

снизились тяжесть состояния по SAPS II, тяжесть СВР, и срок госпитализации был достоверно меньшим.

Выявлена достоверная обратная корреляция количества ДЭЦ и времени от начала заболевания у пациентов группы без СО и 1 подгруппы с СО ($R=-0,464$, $p=0,002$). Из этого можно сделать вывод, что при благоприятном течении и исходе ОПТТ количество ДЭЦ снижается с течением времени, при прогрессировании некроза железы и гнойно-септических осложнениях эта взаимосвязь не прослеживается.

По результатам исследования динамики изменений уровня ВЭФР сыворотки крови удалось установить, что этот показатель повреждения эндотелия достоверно увеличился у больных 1-ой подгруппы ($n=11$) ($p=0,003$) во 2-ом исследовании, при этом достоверно снизилась тяжесть состояния по SAPSII ($p=0,038$) в эти сроки. Тяжесть СВР также уменьшилась в этой подгруппе, но разница с 1 исследованием не достоверна ($p=0,059$). В 3 исследовании уровень ВЭФР сыворотки крови стал ещё больше ($p=0,04$). При этом значимых изменений тяжести состояния по SAPSII и тяжести СВР не установлено. Во 2 подгруппе ($n=9$) при 2 исследовании уровень ВЭФР сыворотки крови достоверно снизился ($p=0,03$). Тяжесть состояния по шкале SAPS II и тяжесть СВР у этих больных ухудшились, различия с уровнем этих показателей при 1 исследовании не достоверны ($p=0,32$ и $p=0,44$, соответственно).

Также определена прямая достоверная взаимосвязь уровня ВЭФР и времени от начала заболевания у пациентов 1-ой подгруппы - $R = 0,65$, $p = 0,0001$ и в целом в группе без СО и в 1-ой подгруппе с СО, выделенной по результатам ВЭФР – $R= 0,59$, $p = 0,000003$. По результатам регрессионного анализа установлено, при благоприятном течении и исходе ОПТТ с 1 по 32 сутки уровень ВЭФР зависит от времени проведения исследования, и прогрессивно повышается к 4 неделе заболевания.

4.3 Прогнозирование тяжести системной воспалительной реакции при остром панкреатите по динамике изменения уровня васкулярного эндотелиального фактора роста.

Метод определения динамики изменения уровня ВЭФР предложен, как точный и простой способ прогнозирования исхода абдоминального сепсиса, патент на изобретение № - 2517523, опубликован 27.05.14г., бюллетень №15.

У больного ОПТТ осложненным сепсисом оценивают динамику изменения уровня ВЭФР за временной интервал продолжительностью от 1 до 7 суток путем расчета индекса прогноза (ИП) исхода сепсиса по формуле:

$$\text{ИП} = A2/A1 \times 100, \text{ где}$$

ИП – индекс прогноза исхода сепсиса (%),

A1 – исходное значение ВЭФР (пг/мл),

A2 – значение ВЭФР при повторном исследовании через 1 – 7 суток (пг/мл),

100 – показатель для перевода в проценты,

и при величине ИП меньше 100% прогнозируют неблагоприятный исход сепсиса при ОПТТ.

Высчитаны операционные характеристики определения уровня ВЭФР, как диагностического теста для определения утяжеления СВР при ОПТТ. Расчет данных представлен в таблице 20.

Таблица 20. Распределение пациентов по динамике изменений уровня ВЭФР сыворотки крови и тяжести СВР.

	Утяжеление СВР	Снижение тяжести СВР	Всего случаев
Уровень ВЭФР снизился (пг/мл)	8	5	13
Уровень ВЭФР увеличился (пг/мл)	3	19	22
Всего случаев	11	24	35

Чувствительность определения динамики изменения уровня ВЭФР сыворотки крови, как диагностического теста для оценки изменения тяжести СВР при ОПТТ – 79,1%. Специфичность определения динамики изменения уровня

ВЭФР сыворотки крови, как диагностического теста для оценки изменения тяжести СВР при ОПТГ – 72,7%. Прогностическая ценность положительного результата – 86,3%, прогностическая ценность отрицательного результата – 61,5%.

Преимуществами предлагаемого способа прогнозирования являются: его упрощение по сравнению с прогностическими шкалами оценки тяжести состояния, из-за уменьшения числа анализируемых критериев с 14 при APACHE II и 15 при SAPS II до 1, высокая чувствительность предложенного теста – 79,1%, высокая точность результатов за счет применения иммуноферментного теста, низкая себестоимость.

Кроме прогнозирования исхода сепсиса метод применим для оценки эффективности проведенных лечебных мероприятий за исследуемый промежуток времени. При увеличении уровня ВЭФР сыворотки крови можно сделать вывод о снижении эндотоксиновой нагрузки и активации регенераторного компонента воспалительного процесса у конкретного пациента. Соответственно проводимую терапию можно признать достаточной. При снижении уровня ВЭФР сыворотки крови можно сделать вывод о неэффективности проводимого объема лечебных мероприятий, продолжающейся эндотоксиновой медиации и низком уровне регенераторных процессов в организме.

ГЛАВА 5. ПОКАЗАТЕЛИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И ХИРУРГИЧЕСКАЯ ТАКТИКА ПРИ ОТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ.

За время наблюдения в стационаре оперированы 30 (71,4%) пациентов из 42 больных ОПТТ, в 12 (28,6%) случаях ограничились консервативным лечением. В группе без СО из 18 человек оперированы 6 (33,3%), в группе с СО оперированы все 24 (100%) пациента, 6 больных оперированы дважды, из них 3 - трижды.

В группе без СО показаниями к оперативному лечению в 5 случаях были билиогенная этиология заболевания, признаки деструктивного калькулезного холецистита и холедохоектазия на фоне клиники острого панкреатита, в 1 случае – клиника ферментативного перитонита.

В группе с СО показаниями оперативному лечению в 3 случаях были билиогенная этиология заболевания, признаки деструктивного калькулезного холецистита и холедохоектазия, клиника системной воспалительной реакции на фоне клиники острого панкреатита. В 1 случае показанием к оперативному лечению стала клиника вялотекущего фибринозного перитонита и несформированная киста головки поджелудочной железы. В 2 случаях оперативное лечение выполнено по поводу травмы железы с повреждением протоковой системы и развитием ферментативного панкреатита, и у 18 пациентов показаниями к операции стали постнекротические гнойные осложнения.

Виды операций, выполненных в обеих группах, представлены на рисунке 21.



Рис. 21. Виды операций выполненных пациентам с ОПТТ.

5.1 Изменение показателей повреждения эндотелия при хирургическом лечении больных острым панкреатитом тяжелого течения без септических осложнений.

В группе больных ОППТ без СО включенных в динамическое исследование оперированы 5 пациентов из 13.

У 4 оперированных пациентов острый панкреатит был билиарной этиологии, у 1-го токсической. Виды операций и показатели дисфункции эндотелия представлены в таб. 21.

Таблица 21. Тяжесть состояния, показатели эндотелиальной дисфункции и сроки оперативного лечения в группе без СО.

№ больного	Вид операции	Этиология	Сутки от начала заболевания	ВЭФР пг/мл	ДЭЦ x10 ⁴ /л	SAPS II баллы
1	Холецистэктомия	билиарная	11	2193,0	7	35
2	Холецистэктомия, ТДПТ	билиарная	5	686,4	9	17
3	Холецистэктомия, ТДПТ	билиарная	2	67,6	14	20
4	Холецистэктомия, ТДПТ	билиарная	1	65,1	15	11
5	Лапароскопия	токсическая	2	302,1	31	27

Из таблицы видно, что пациенты оперированы в первые 5 суток заболевания за исключением одного больного, которому выполнена операция на 11 сутки.

Трем из 4-х больных с билиарной этиологией панкреатита выполнена холецистэктомия и ТДПТ. Радикально устранена причина внутрипротоковой гипертензии. В 1-м случае оперативное вмешательство производилось на 11 сутки от начала заболевания, на фоне выраженных инфильтративных изменений гепатодуоденальной связки, двенадцатиперстной кишки и парапанкреатической клетчатки выполнена открытая холецистэктомия и холедохостомия по Холстеду-Пиковскому. Пациенту с токсической этиологией ОППТ выполнена

лапароскопия, санация и дренирование брюшной полости на 2 сутки от начала заболевания. Показанием к оперативному лечению послужила клиника острого ферментативного панкреатита.

Количество ДЭЦ у оперированных пациентов в 1 исследовании составило $15,2 \pm 9,4 \times 10^4$ /л, во 2 исследовании - $14,8 \pm 9,0 \times 10^4$ /л, у не оперированных в первом исследовании количество ДЭЦ было $21 \pm 9,4 \times 10^4$ /л, во втором - $14,1 \pm 7,6 \times 10^4$ /л. Результаты представлены на рисунке 22.

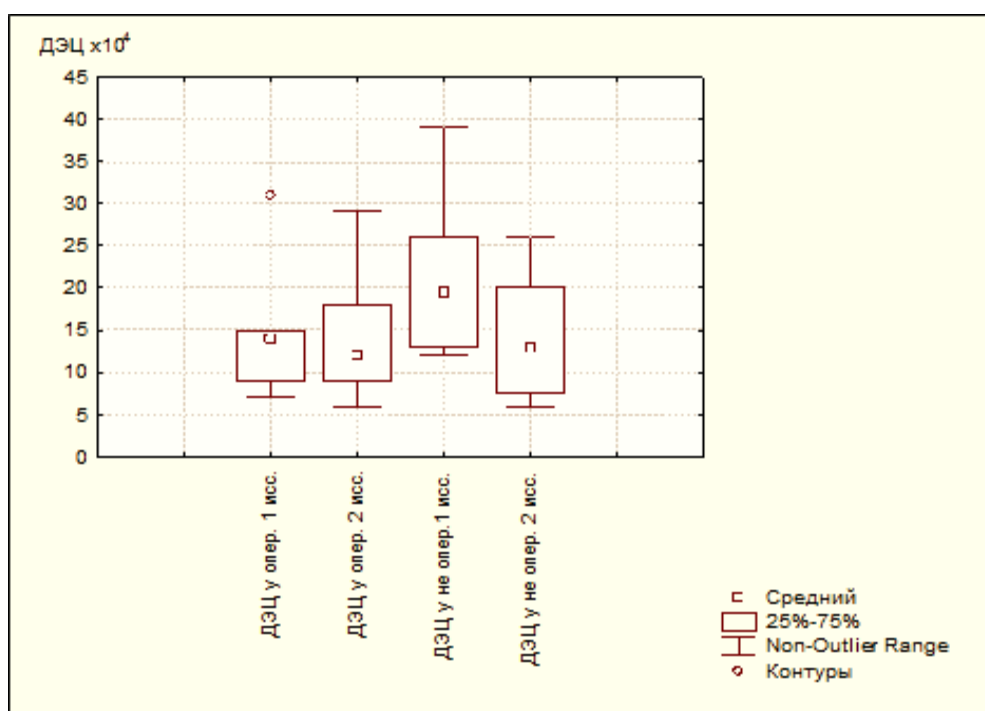


Рис. 22. Динамика изменений количества ДЭЦ у оперированных и не оперированных больных группы без СО.

Уровень ВЭФ сыворотки крови у оперированных пациентов в 1-ом исследовании был $662,8 \pm 892,1$ пг/мл, во 2-ом исследовании – $785,5 \pm 672,6$ пг/мл. У не оперированных больных группы без СО уровень ВЭФ сыворотки крови в первом исследовании составил $949,5 \pm 1013,4$ пг/мл, и $1034,7 \pm 352,3$ пг/мл во втором. Результаты представлены на рисунке 23.

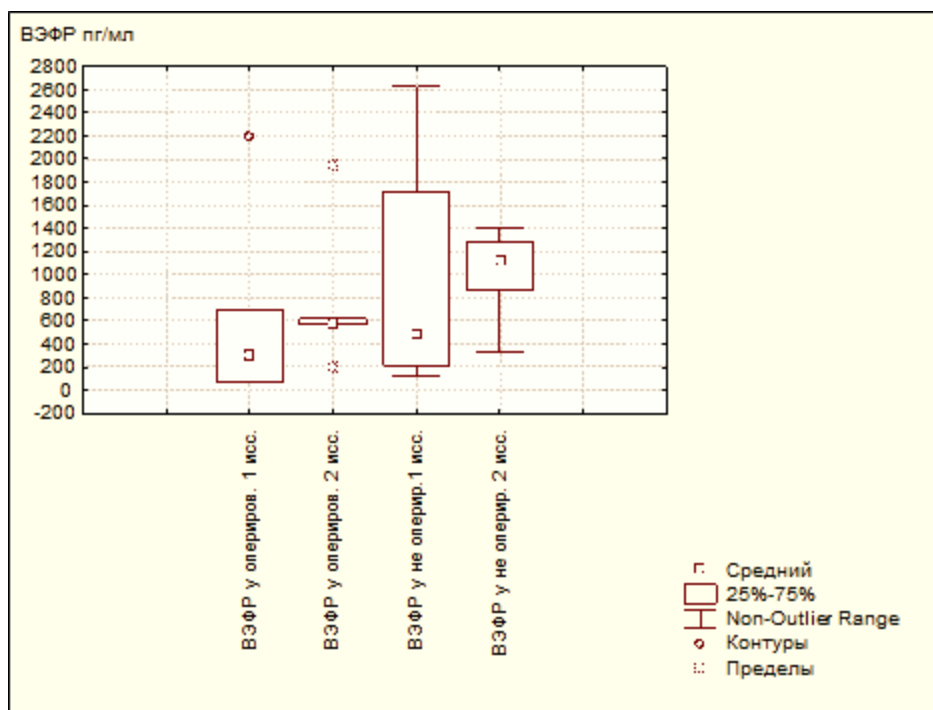


Рис. 23. Динамика изменений ВЭФ у оперированных пациентов и не оперированных больных группы без СО.

Продолжительность госпитализации оперированных пациентов ($11,2 \pm 3,3$ койко-дней) соответствовала продолжительности стационарного лечения у пациентов группы без СО ($11,2 \pm 4,4$ койко-дней).

5.2 Изменение показателей повреждения эндотелия при хирургическом лечении больных острым панкреатитом тяжелого течения с септическими осложнениями.

В группе больных ОПТТ СО включенных в динамическое исследование оперированы все 20 пациентов.

У 2 оперированных пациентов острый панкреатит был травматической этиологии. В первом случае при операции в первые сутки после травмы выявлен дефект на границе тела и хвоста поджелудочной железы 8мм в длину, подтекания панкреатического сока при операции не установлено. Выполнен коагуляционный гемостаз краев разрыва. В последующие 2 суток нарастал интоксикационный синдром и синдром кишечной недостаточности, развилась клиника инфицированного панкреонекроза. Уровень ВЭФ сыворотки крови в этот период был 440,7 пг/мл, количество ДЭЦ 9×10^4 /л. Пациент был взят на релапаротомию,

выполнена дистальная резекция поджелудочной железы и спленэктомия единым блоком. Через 7 суток уровень ВЭФР сыворотки крови составлял 2332,0 пг/мл, количество ДЭЦ 5×10^4 /л. У больного сформировался абсцесс в области ложа селезенки. После опорожнения гнойника локальным доступом интоксикация прогрессивно снижалась, и пациент был выписан на 28 сутки.

Во втором случае у больного был выявлен полный поперечный разрыв на уровне тела поджелудочной железы на 8-е сутки после травмы, на 9-е сутки пациент оперирован. Выполнена дистальная резекция хвоста поджелудочной железы, спленэктомия, удалена гематома левого поддиафрагмального пространства. Уровень ВЭФР сыворотки крови в этот период составлял 456,4, пг/мл, количество ДЭЦ - 10×10^4 /л. Через 7 суток уровень ВЭФР сыворотки крови был 264,2, количество ДЭЦ 5×10^4 /л. В послеоперационном периоде сформировался неполный смешанный свищ, который к моменту выписки, через 25 дней, закрылся.

У остальных 18 больных все виды оперативных вмешательств можно разделить на 2 вида: 1 вид - санация брюшной полости, абдоминализация поджелудочной железы, формирование бурсостомы, установка сквозного дренажа сальниковой сумки, 2 вид - удаление секвестрированных участков поджелудочной железы и окружающей клетчатки, формирование бурсостомы, установка сквозного дренажа сальниковой сумки. В 1-ом случае оперативное вмешательство 1-го вида сочеталось с холецистэктомией и дренированием холедоха. Операции 1-го вида выполнены у 10 пациентов, операции 2-го вида у 8 пациентов. Показатели повреждения эндотелия и время операций от начала заболевания при каждом из видов вмешательств представлены в таблице 22.

Таблица 22. Уровень ВЭФР и количество ДЭЦ, время от начала заболевания при двух видах вмешательств.

	ВЭФР пг/мл	ДЭЦ $\times 10^4$	Сутки от начала заболевания
1 вид (n = 10)	527,0 \pm 391,2	21,2 \pm 20,4	5,3 \pm 4,05
2 вид(n = 8)	735,9 \pm 531,3	20,3 \pm 7,9	12 \pm 5,3

U - тест	0,408	0,315	0,008*
----------	-------	-------	--------

Примечание. * - отличия достоверны.

Из полученных результатов видно, что у пациентов с 1-м видом вмешательств уровень ВЭФР ниже, чем со 2-м, но достоверной разницы между ними нет ($p=0,408$) из-за высокой вариабельности этого показателя у больных. Количество ДЭЦ меньше у пациентов со 2-м видом операций, но отличия от больных с 1 видом также не достоверны ($p=0,315$). Сроки выполнения 1-го вида операций были достоверно меньше ($p=0,008$), чем у 2-го вида.

Повторные операции выполнены 6 пациентам, у 4 больных с 1 видом вмешательств и у 2 больных со 2 видом. В 3-х случаях потребовалось выполнить 3 вмешательства: 2-м больным с 1 видом первой операции и 1 больному со 2 видом. По частоте релапаротомий группы пациентов с 1 и 2 видом оперативных вмешательств достоверно не отличались: $p=0,51$.

У пациентов группы с СО проведен анализ взаимосвязи значений маркеров повреждения эндотелия с наличием ограничения очагов некроза. Ограничение очагов некроза оценивалась по интраоперационной картине и по результатам КТ брюшной полости в сроки проведения исследований ($\pm 1-2$ дня). По данным КТ принимались во внимание жидкостные скопления, ограниченные инфильтрированными стенками, с наличием газа. Для анализа взяты 27 случаев, результаты представлены в таблице 23.

Таблица 23. Корреляционный анализ показателей повреждения эндотелия и наличия отграничения очагов некроза у больных группы с СО.

	R	p
ВЭФР и отграничение	0,56	0,002*
ДЭЦ и отграничение	0,19	0,32

Примечание. * - взаимосвязь достоверна.

Выявлена прямая достоверная связь уровня ВЭФР сыворотки крови и наличия ограничения очагов некроза в брюшной полости и забрюшинном

пространстве: метод Спирмена: $R=0,56$, (95% CI=[0,21; 0,78]), $p = 0,002$. С количеством ДЭЦ корреляции не установлено.

Выполнен линейный регрессионный анализ зависимости ограничения очагов некроза в брюшной полости и в забрюшинном пространстве от уровня ВЭФР: проанализировано 27 случаев, $\beta=0,5004$, стандартная ошибка $\beta=0,173$, $p=0,007$. На рисунке 24 представлена диаграмма рассеяния рассчитанных и фактических значений ВЭФР.

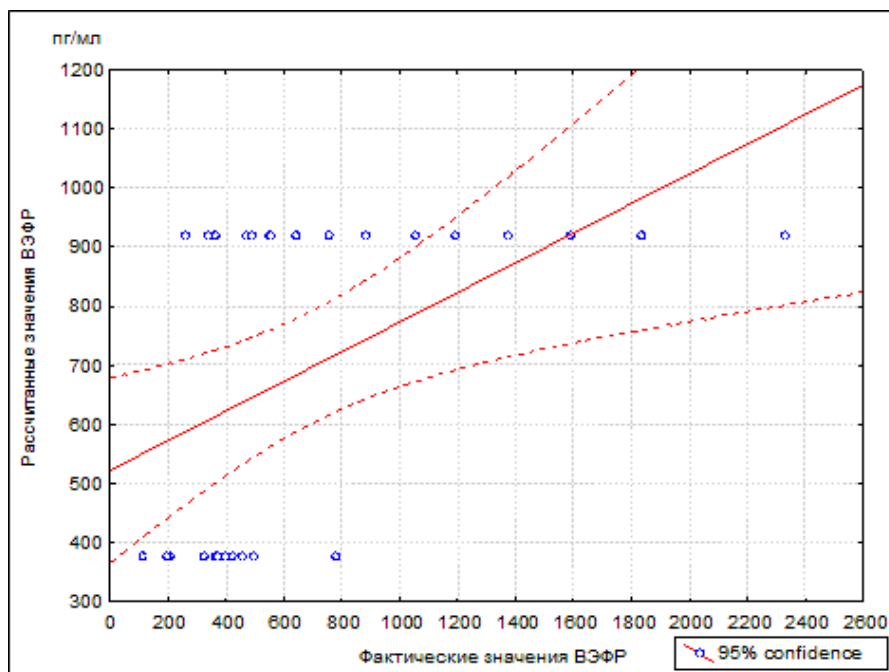


Рис.24. Диаграмма рассеяния фактических и рассчитанных (по регрессионной модели) значений ВЭФР, график регрессионной прямой, 95% доверительный интервал.

Из полученных результатов можно сделать вывод, что повышение уровня ВЭФР в сыворотке крови при ОПТТ свидетельствует о формировании ограничительного барьера вокруг очагов некроза в железе и окружающих тканях. При этом уровень подъёма фактора индивидуален у каждого пациента. Допустимо сравнение уровня ВЭФР сыворотки крови с уровнем этого показателя в предыдущем исследовании у одного и того же пациента.

Снижение ВЭФР в сыворотке крови при остром панкреатите тяжелого течения свидетельствует о нарушении регенераторного компонента воспалительной реакции. При этом организм не способен выстраивать полноценный ограничительный барьер вокруг очагов деструкции, что приводит к

прорыву медиаторов и эндотоксинов из очага воспаления в системный кровоток и вызывает расширение зоны повреждения и утяжеление СВР.

Высчитаны операционные характеристики определения уровня ВЭФР, как диагностического теста для определения ограничения очагов некроза при ОПТТ. Расчет данных представлен в таблице 24.

Таблица 24. Распределение случаев по динамике изменения уровня ВЭФР и наличию секвестрации очагов некроза.

	Случаи без секвестрации очагов	Случаи с секвестрацией	Всего
Уровень ВЭФР снизился (пг/мл)	9	2	11
Уровень ВЭФР увеличился (пг/мл)	2	14	16
Всего	11	16	27

Чувствительность определения уровня ВЭФР сыворотки крови, как диагностического теста для секвестрации некротических тканей при ОПТТ – 87,5%. Специфичность определения уровня ВЭФР сыворотки крови, как диагностического теста для секвестрации некротических тканей при ОПТТ – 81,8%. Прогностическая ценность положительного результата – 87,5%, прогностическая ценность отрицательного результата – 81,8%.

ГЛАВА 6. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ ОКСИДА АЗОТА ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ ТЯЖЕЛОГО ТЕЧЕНИЯ.

Полиморфизм *NOS3*, был исследован у 39 пациентов с ОПГТ, из них 26 – мужчины (66,6%), 13 – женщины (33,3%). Средний возраст больных составил $48,05 \pm 15,84$ лет. В качестве группы сравнения выбраны 80 практически здоровых пациентов, проходивших ежегодный профилактический осмотр на базе НУЗ «ОКБ на ст. Пермь II ОАО «РЖД». Из них 42 - мужчины (52,5%) и 38 - женщины (47,5%). Средний возраст обследуемых в этой группе составил $44,65 \pm 9,92$ лет. Группа сравнения сопоставима с исследуемой по полу (точный критерий Фишера двусторонний $p=0,16$).

Исследование полиморфизма гена эндотелиальной синтазы оксида азота. Полиморфизм *NOS3* исследовали на приборе «ДТ96» с помощью набора «ДНК-технология» (Москва). Набор предназначен для определения полиморфизмов в геноме человека методом плавления аллель-специфичных сигнальных проб.

Принцип метода: ПЦР с использованием аллель-специфичных проб позволяет разделять аллельные варианты на основании разницы в эффективности накопления продуктов реакции.

Взятие цельной периферической крови проводили в пластиковые пробирки объемом 0,5 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой соли этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала переворачивали пробирку 2-3 раза. В случае невозможности доставки материала в лабораторию в течение суток допускается однократное замораживание материала и хранение его при температуре минус 20°C в течение 1 месяца.

Выделение ДНК из ядерных клеток периферической крови:

1) Согласно количеству исследуемого материала маркировали необходимое количество пластиковых пробирок объемом 1,5 мл.

2) В каждую пробирку вносили по 500 мкл лизирующего буфера, отдельным наконечником добавляли по 500 мкл исследуемых образцов крови, перемешивали и закрывали крышки пробирок.

3) Центрифугировали пробирки при 13000 об./мин. в течении 1 мин. Затем удаляли из пробирок надосадочную жидкость пипеткой с отдельными наконечниками.

4) Добавляли к осадку отдельным носиком по 500 мкл лизирующего буфера, перемешивали пипетированием. Закрывали крышки пробирок.

5) Центрифугировали пробирки при 13 тыс. об./мин. в течении 1 мин. Надосадочную жидкость удаляли при помощи пипетки.

6) Стадии 4 – 5 повторяли до тех пор, пока осадок не становился светлым (обычно 2-4 раза)

7) Добавляли к осадку 100 мкл реактива «Проба-Рапид», суспензировали осадок пипетированием.

8) Пробирки анализируемых образцов с «Пробой-Рапид» встряхивали на микроцентрифуге-вортесе в течение 10 сек, после этого ставили пробирки в термостат на 10 мин при 98 С. Термостат необходимо предварительно прогреть до 98 С. Пробирки должны быть плотно закрыты.

9) Центрифугировали пробирки при 13 тыс. об./мин. в течение 3 мин. В результате центрифугирования может образоваться осадок голубого цвета. Надосадочная жидкость содержит ДНК, готовую для проведения ПЦР.

10) Раствор ДНК может храниться в течение недели при температуре + 2-8 С. Для более длительного хранения рекомендуется температура не менее – 20°С.

Поведение анализа.

1. Выделеную ДНК из биологического материала с использованием комплекта ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА можно использовать для постановки 50 реакций для определения генетических полиморфизмов. Вместе с выделением ДНК из периферической крови необходимо провести через все этапы подготовки отрицательный контрольный образец (в его качестве можно использовать

физиологический раствор в объеме согласно инструкции к комплекту реагентов для выделения ДНК).

2. Проведение полимеразной цепной реакции. Количество анализируемой ДНК должно быть не менее 1,0 нг на амплификационную пробирку.

2.1. Промаркировали для определяемого полиморфизма необходимое количество пробирок для амплификации объемом 0,2 мл (по одной для каждого исследуемого образца и отрицательного контрольного образца «К»).

2.2. Встряхивали пробирки со смесью для амплификации в течение 3–5 сек и центрифугировали в течение 1–3 сек на микроцентрифуге-вортексе.

2.3. Внесли в промаркированные пробирки по 20 мкл соответствующей смеси для амплификации (для каждого полиморфизма отдельным наконечником).

2.4. Встряхивали пробирки с ПЦР-буфером и Таq-АТ-полимеразой в течение 3–5 сек и центрифугировали в течение 1–3 сек на микроцентрифуге/вортексе. Таq-АТ-полимеразу необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

2.5. Приготавливали смесь ПЦР-буфера с Таq-АТ-полимеразой. Смешивали в отдельной пробирке: $10 \times (N+1)$ мкл ПЦР-буфера, $0,5 \times (N+1)$ мкл Таq-АТ-полимеразы, где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К».

2.6. Встряхивали пробирку в течение 3–5 секунд и центрифугировали в течение 1–3 секунд на микроцентрифуге-вортексе. Смесь ПЦР-буфера и Таq-АТ-полимеразы необходимо готовить непосредственно перед использованием.

2.7. Добавляли в каждую пробирку со смесью для амплификации по 10 мкл смеси ПЦР-буфера с Таq-АТ полимеразой.

После добавления смеси ПЦР-буфера и Таq-АТ-полимеразы в пробирки со смесями для амплификации необходимо в течение двух часов выполнить пп. 2.8 – 2.13.

2.8. Добавляли в каждую пробирку по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закрывали крышки пробирок.

2.9. Для предотвращения контаминации перед внесением ДНК открывали крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и

закрывать их перед внесением следующего. Препараты ДНК вносили наконечниками с аэрозольным барьером. Вносили в пробирки для исследуемых образцов по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК.

2.10. В пробирку, маркированную «К», добавляли по 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК.

2.11. Центрифугировали пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 сек.

2.12. Устанавливали все пробирки в блок амплификатора детектирующего.

2.13. Запускали программное обеспечение Real Time PCR, выбирали режим «Работа с прибором». При первой постановке загружали ini файл с соответствующим названием. При последующих постановках добавляли в протокол тесты или использовали многотестовый режим, указывали количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательных контрольных образцов, отмечали расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проводили ПЦР.

Регистрацию и интерпретацию результатов амплификации осуществляли автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с амплификатором. В образцах ДНК, прошедших ПЦР, программа определяет генотип исследуемого образца, который отображён в таблице в графе «Полиморфизм».

Полученную интерпретацию результатов необходимо проконтролировать визуально. В образце, гомозиготном по одному из аллелей (несущем один вариант гена), температурные пики графиков будут отличаться, а в гетерозиготном (несущем оба варианта гена) - практически совпадать. При этом в гомозиготных образцах генотип определяют по более тугоплавкой пробе (температура плавления которой выше).

Больные ОПТТ были разделены на 2 группы: в первую вошли пациенты без СО (n=17), во вторую - с СО (n=22) Распределение генотипов и аллелей *NOS3* в группе сравнения и группе ОПТТ представлено в таблице 25.

Таблица 25. Распределение аллелей и генотипов *NOS3*(T894G) в группах пациентов.

Группы	Генотипы гена <i>NOS3</i>			аллели	
	GG	GT	TT	G	T
Группа ОПТТ (n-39)	21(53,84%)	16(41,02%)	2(5,13%)	58(74,4%)	20(25,6%)
Группа без СО (n-17)	11(64,7%)	5(29,4%)	1(5,9%)	27(79,5%)	7(20,5%)
Группа с СО (n-22)	10(45,45%)	11(50%)	1(4,54%)	31(70,4%)	13(29,6%)
Группа сравнения (n-80)	41(51,25%)	32(40%)	7(8,75%)	114(71,3%)	46(28,7%)

Распределение генотипов *NOS3* в группе ОПТТ (n-39) совпало с распределением в группе сравнения - метод Пирсона 0,495, $p=0,78$. Также не установлено достоверных отличий в распределении генотипов между группой сравнения и группами без СО и с СО – метод Пирсона 1,02, $p=0,59$ и 0,914 $p=0,63$ соответственно. Из таблицы 1 видно, что в группе с СО преобладают гетерозиготы GT - 50%, в группе без СО преобладают гомозиготы GG - 64,7%, но статистически достоверной разницы между этими группами не выявлено из-за малого размера выборок – метод Пирсона 1,68, $p=0,43$. Распространенность патологического аллеля T в группе ОПТТ составила 25,6%, что соответствует распространенности в группе сравнения 28,7% - точный критерий Фишера двусторонний $p=0,64$. В сравнении со смешанной популяцией (T аллель - 24%) [55], распространенность в группе с СО выше – 29,6%, но статистической достоверности также не получено, критерий $\chi^2=3,52$, $p<0,06$.

Распределение генотипов *NOS3* в группах рассмотрено также по гендерному признаку (таб. 26).

Таблица 26. Гендерное распределение генотипов *NOS3* в исследуемых группах.

Группы	Пол	Генотипы гена <i>NOS3</i>			аллели	
		GG	GT	TT	G	T
Группа сравнения (n=80)	Мужчины (n=42)	22 (52,4%)	16 (38,1%)	4 (9,5%)	60 (71,4%)	24 (28,6%)
	Женщины (n=38)	19 (50%)	16 (42,1%)	3 (7,9%)	54 (71,1%)	22 (28,9%)
Группа ОПТТ (n=39)	Мужчины (n=26)	15 (57,7%)	11 (42,3%)	0	41 (78,8%)	11 (21,2%)
	Женщины (n=13)	6 (46,1%)	5 (38,5%)	2 (15,4%)	17 (65,9%)	9 (34,6%)

Достоверных различий в распределении генотипов *NOS3* у мужчин и женщин в группе сравнения и в группе ОПТТ не выявлено: критерий Пирсона – 0,16, $p=0,92$ и 4,24, $p=0,119$ соответственно. Достоверных различий в распределении генотипов среди мужчин в обеих группах не установлено: критерий Пирсона 2,63, $p=0,26$, среди женщин в двух группах также различий нет: критерий Пирсона 0,61, $p=0,73$. Распространенность аллелей в группе сравнения у мужчин и женщин совпадают, в группе ОПТТ у женщин частота аллеля Т выше – 34,6% против 21,2% у мужчин, но статистически это различие не достоверно, точный критерий Фишера 2-сторонний $p=0,27$.

Выявленное распределение генотипов *NOS3* у пациентов с ОПТТ показывает, что в сравнении с группой практически здоровых лиц в группе с СО выявлено увеличение количество гетерозигот GT до 50%, и снижение гомозигот GG до 45,45%, а в группе без СО отмечено преобладание гомозигот GG- 64,75%, и снижение числа генотипов GT- 29,41%. Это позволяет предположить, что генотип GT может выступать фактором риска СО при ОПТТ.

Установлено повышение частоты аллеля G до 79,5% в группе без СО против 71,3% в группе сравнения. В группе с СО возрастает частота аллеля Т до 29,6%

против 20,5% в группе без СО. Статистической достоверности этих различий не установлено, вероятно, из-за малой выборки исследуемой группы.

Распределение генотипов *NOS3* при ОПТТ соответствует распределению в группе сравнения из практически здоровых лиц. По материалам исследования полиморфизм G849T *NOS3* можно рассматривать, как фактор, влияющий на развитие септических осложнений при остром панкреатите тяжелого течения. При исследовании установлено увеличение частоты встречаемости признанного аллеля риска T группе с СО. Для получения статистически значимых результатов требуется большее число наблюдений.

ОБСУЖДЕНИЕ

В обследование включена группа пациентов с ОПТГ преимущественно токсической этиологии 59,5%, билиарная этиология отмечена в 28,6% случаев, на травматическую - пришлось 4,8% случаев, на идиопатическую – 7,1%. В группе преобладали мужчины 66,6%, женщины составили 33,3%. Средний возраст больных был $47,2 \pm 15,6$ лет. Подобное строение исследуемой группы соответствует эпидемиологической структуре при этой патологии и выборкам в других исследованиях острого панкреатита [11, 12, 33, 40, 82]. В них также преобладают пациенты мужского пола, молодой и средней возрастной группы. У разных авторов встречается большой разброс значений удельного веса той или иной этиологии ОПТГ, у одних билиарная этиология встречается в 23% случаев, у других в 92% [82]. В 22 - 23% этиологический фактор точно установить не удается [18, 82].

Инфицирование очагов деструкции поджелудочной железы и развитие СВР приводит к высокой летальности при ОПТГ, по данным различных исследований от 10 до 70% [17, 21, 33]. В нашем исследовании она составила 11,9% - 5 пациентов из 42.

Больные в нашем исследовании были разделены согласно клинических синдромов СВР при абдоминальном сепсисе на 2 группы: группа без СО и группа с СО ($p < 0,0001$) [1]. Достоверность отличий в тяжести состояния пациентов двух групп была подтверждена по шкале SAPS II и по результатам полуколичественного ПКТ теста ($p < 0,001$ и $0,002$ соответственно).

Уровень ВЭФ сыворотки крови в группе сравнения составил $144,7 \pm 97,7$ пг/мл, разброс показателей в группе сравнения был от 3,6 до 324 пг/мл. В исследовании Бритвина Т.А. и соавторов в группе контроля из 25 человек уровень ВЭФ был $150,8 \pm 22,7$ пг/мл, при диапазоне значений от 20,6 до 461 пг/мл, а в исследовании van der Flier и соавторов в группе из 40 здоровых был на уровне 55 пг/мл [51, 105]. По данным Karlsson S. и соавторов в контрольной группе медиана уровня ВЭФ была 260 пг/мл (квартили - 126 и 459 пг/мл) [9]. Из этого можно

заклучить, что уровень ВЭФР у здоровых людей индивидуален и может варьировать в широких пределах.

В группе ОПТТ уровень ВЭФР составил $517,2 \pm 619,3$ пг/мл и был достоверно выше, чем в группе сравнения ($p=0,0002$). В исследовании Karlsson S. и соавторов уровень ВЭФР у септических больных был достоверно выше, чем в контрольной группе ($p=0,029$), медиана концентрации ВЭФР составила 423 пг/мл (квартили - 159 и 858 пг/мл) [143]. В исследовании van der Flier и соавторов уровень ВЭФР также был достоверно выше, чем в контрольной группе ($p<0,001$) [105]. Таким образом, наши результаты совпадают с данными других исследований ВЭФР при сепсисе.

Уровень ВЭФР сыворотки крови у больных группы без СО, группы выживших с СО и группы умерших достоверно не отличался, значения были $668,7 \pm 852,8$ пг/мл, $541,97 \pm 406,59$ пг/мл и $420,36 \pm 197,8$ пг/мл соответственно. Полученные данные были схожи с результатами исследования Kuang-Yao Yang и соавторов, у пациентов с пневмонией без полиорганной дисфункцией ($n=20$) уровень ВЭФР составил $688,9 \pm 616,9$ пг/мл, в группе выживших с пневмонией осложненной септическим шоком ($n=38$) – $219,9 \pm 232,1$ пг/мл, в группе умерших ($n=43$) – $386,5 \pm 524,1$ пг/мл. Установлены достоверные отличия в уровне ВЭФР между группой с пневмонией без полиорганной дисфункции и группами выживших и умерших от пневмонии осложненной септическим шоком $p<0,001$ и $p=0,005$ соответственно, между группой выживших и умерших достоверной разницы не выявлено $p=0,455$ [104]. В обоих исследованиях обращают на себя внимание значения средних квадратичных отклонений, они на уровне средних или превышают их, что говорит о значительном разбросе показателей ВЭФР в группах. Полученные результаты исследований показали, что уровень ВЭФР не пригоден для прогнозирования летального исхода в ранних сроках заболеваний.

В нашем исследовании установлена прямая корреляция уровня ВЭФР сыворотки крови и количества ДЭЦ в крови больных ОПТТ, $R=0,342$, $p=0,026$. Количество ДЭЦ в группе сравнения составило $3,02 \pm 1,2 \times 10^4$ /л, что достоверно ниже, чем у групп больных без СО и с СО, и во всей выборке больных ОПТТ в

целом. Достоверных различий в количестве ДЭЦ в первые 10 суток от начала заболевания между группой без СО, группой выживших с СО и группой умерших не выявлено. В диссертации Семеновой А.С. количество ДЭЦ в группе здоровых было $4,42 \pm 0,4 \times 10^4$ /л, в группе стерильного панкреонекроза - $16,7 \pm 2,4 \times 10^4$ /л, в группе инфицированного панкреонекроза – $21,3 \pm 3,47 \times 10^4$ /л. В группах больных панкреонекрозом количество ДЭЦ было достоверно выше, чем в группе здоровых [46]. Наши результаты были аналогичными: в группе без СО - $16,9 \pm 8,9 \times 10^4$ /л, в группе с СО - $17,7 \pm 13,7 \times 10^4$ /л, $p=0,898$.

Таким образом, из результатов исследования показателей повреждения эндотелия в первые 10 суток можно сделать вывод, что уровень ВЭФР сыворотки крови и количество ДЭЦ у больных острым панкреатитом тяжелого течения значительно выше, чем у здоровых. Эти показатели при однократном исследовании в первые десять суток от начала заболевания не применимы для прогноза развития септических осложнений и летального исхода при ОПГТ.

По результатам динамического исследования уровня ВЭФР у больных ОПГТ при благоприятном течении и прогрессивном снижении тяжести состояния выявлена достоверная зависимость концентрации этого фактора от времени начала заболевания. В группе без СО эта закономерность прослежена со 2 по 17 сутки, в 1 подгруппе группы с СО с 1 по 32 сутки от начала заболевания. При линейном регрессионном анализе весовой коэффициент бета в группе без СО составил 0,408, $p=0,038$, в 1 подгруппе группы с СО - бета=0,559, $p=0,00197$, в двух этих выборках - бета=0,492, $p=0,00015$. При этом отмечено достоверное снижение тяжести состояния ко 2 исследованию по шкале SAPS II в группе без СО $p=0,012$, в 1 подгруппе группы с СО – $p=0,038$. Во 2 подгруппе группы с СО наблюдалось утяжеление СВР по сравнению с 1 подгруппой при 2 исследовании - $p=0,046$, и снижение уровня ВЭФР во 2 исследовании, достоверно отличавшегося от уровня в первой подгруппе в аналогичный период исследования – $p=0,0005$.

Таким образом, уровень ВЭФР сыворотки крови применим для мониторинга состояния больных ОПГТ. Прогрессивное повышение концентрации этого

фактора является признаком снижения тяжести состояния и регресса септических осложнений в первые 4 недели заболевания.

При исследовании уровня ВЭФР в динамике выявлена обратная взаимосвязь уровня этого фактора в сыворотке крови и тяжести СВР. Корреляция этих показателей в группе с СО составила $R=-0,341$, $p=0,009$, у всех обследованных в динамике больных ОПТТ – $R=-0,296$, $p=0,006$. При линейном регрессионном анализе установлена зависимость уровня ВЭФР сыворотки крови от тяжести СВР в группе с СО (бета=0,285, $p=0,031$), а также во всей выборке ОПТТ (бета=0,258, $p=0,018$). На основании этих результатов можно сделать вывод, что уровень ВЭФР сыворотки крови отражает тяжесть СВР при ОПТТ.

В научной литературе по этому вопросу существуют противоположные точки зрения. В исследовании van der Flier M. и соавторов установлено, что уровень ВЭФР достоверно выше в группе умерших, чем в группе выживших больных сепсисом ($p=0,018$). Также установлена корреляция уровня ВЭФР и тяжести полиорганной дисфункции ($r=0,75$, $p=0,001$). Исследователи объясняют это повышенной сосудистой проницаемостью на фоне сепсиса, вызванной действием ВЭФР. Но стоит отметить, что исследование проводилось в достаточно небольшой группе (18 больных тяжелым сепсисом). Выявлена корреляция тяжести полиорганной недостаточности и уровня ВЭФР только в состоянии тяжелого сепсиса, а не в динамике развития септических осложнений [105].

Противоположная точка зрения представлена в работе в исследовании Karlsson S. и соавторов. Они отметили достоверно более низкий уровень ВЭФР в группе умерших, чем в группе выживших больных с сепсисом $p=0,009$. Размер выборки в исследовании был 250 пациентов с сепсисом различной этиологии [143]. По наши данным также отмечено снижение уровня ВЭФР сыворотки крови при утяжелении СВР у больных ОПТТ.

Высчитаны операционные характеристики определения уровня ВЭФР сыворотки крови, как диагностического теста для определения утяжеления СВР при ОПТТ: чувствительность – 79,1%, специфичность - 72,7%, прогностическая

ценность положительного результата – 86,3%, прогностическая ценность отрицательного результата – 61,5%.

Количество ДЭЦ в группе без СО имело общую тенденцию к снижению к началу третьей недели заболевания с $18,77 \pm 9,47 \times 10^4$ /л до $14,36 \pm 7,78 \times 10^4$ /л, различия не достоверны ($p=0,26$). В группе с СО этот показатель позволил выделить пациентов с достоверным улучшением состояния по шкале SAPS II и тяжести СВР ($p=0,018$ и $p=0,017$ соответственно) к моменту второго исследования, количество ДЭЦ у них снизилось с $25,57 \pm 22,59 \times 10^4$ /л до $7,62 \pm 4,77 \times 10^4$ /л ($p=0,017$). У этой группы пациентов был достоверно меньшим срок госпитализации, чем у группы больных, у которых количество ДЭЦ во 2 исследовании возросло. В исследовании Семеновой А.С. получены схожие результаты: в первые 5 суток от начала заболевания количество ДЭЦ было достоверно большим в группе пациентов с инфицированным панкреонекрозом, чем в группе со стерильным. С 6-9 сутки от начала заболевания достоверных отличий в количестве ДЭЦ между группами не установлено, вновь достоверные отличия в 2-х группах были выявлены с 10 суток. В группе стерильного панкреонекроза количество ДЭЦ снижалось, в группе инфицированного панкреонекроза продолжало возрастать [46].

Таким образом, установлено, что при благоприятном течении и исходе ОПГТ количество ДЭЦ снижается со 2-ых по 19-ые сутки от начала заболевания, при прогрессировании некроза железы и развитии гнойно-септических осложнениях эта взаимосвязь не прослеживается.

Выявлена прямая достоверная связь уровня ВЭФР сыворотки крови и наличия ограничения очагов некроза в брюшной полости и забрюшинном пространстве: метод Спирмена: $R=0,56$, (95% CI=[0,21; 0,78]), $p = 0,002$. Выполнен линейный регрессионный анализ зависимости ограничения очагов некроза в брюшной полости и в забрюшинном пространстве от уровня ВЭФР: бета=0,5004, $p=0,007$. В работах Warztcha Z. и соавторов исследование уровня ВЭФР проводилось в ткани поджелудочной железы крыс с индуцированным острым панкреатитом в 1,2,3,5,7,9 и 21 сутки. Они установили повышение уровня

ВЭФР в ткани железы во 2 и 5 сутки, а в воспалительном инфильтрате и грануляциях на 9-е сутки. Спустя 4 недели уровень ВЭФР вернулся к контрольным значениям, при этом была отмечена завершенная регенерация железы. Авторы сделали вывод, что ВЭФР вместе с другими маркерами участвует в регенерации железы [79, 90]. В нашем исследовании установлена зависимость ограничения очагов некроза в брюшной полости и в забрюшинном пространстве от уровня ВЭФР: бета=0,5004, $p=0,007$. Выполнен линейный регрессионный анализ зависимости ограничения очагов некроза в брюшной полости и в забрюшинном пространстве от уровня ВЭФР: бета=0,5004, $p=0,007$.

Выявленное распределение генотипов *NOS3* у пациентов с ОПГТ показывает, что в сравнении с группой практически здоровых лиц в группе с СО выявлено увеличение количество гетерозигот GT до 50%, и снижение гомозигот GG до 45,45%, а в группе без СО отмечено преобладание гомозигот GG- 64,75%, и снижение числа генотипов GT- 29,41%. Это позволяет предположить, что генотип GT может выступать фактором риска СО при ОПГТ.

Также возрастает частота аллеля G до 79,5% в группе без СО, против 71,3% в группе сравнения. В группе с СО возрастает частота аллеля T до 29,6% против 20,5% в группе без СО. Статистической достоверности этих различий не установлено, вероятно, из-за малой выборки исследуемой группы. При исследовании установлено увеличение частоты встречаемости признанного аллеля риска T группе с СО. Для получения статистически значимых результатов требуется большее число наблюдений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам нашего исследования установлено, что у пациентов с острым панкреатитом тяжелого течения показатели повреждения эндотелия: васкулярный эндотелиальный фактор роста и количество десквамированных эндотелиоцитов достоверно выше, чем в группе сравнения ($p=0,0002$ и $p=0,0001$ соответственно). Достоверной разницы в уровне васкулярного эндотелиального фактора роста между группой без септических осложнений и группой с септическими осложнениями не выявлено ($p=0,442$), также не выявлено различий в количестве десквамированных эндотелиоцитов между этими группами ($p=0,898$). В нашем исследовании установлена прямая корреляция уровня васкулярного эндотелиального фактора роста сыворотки крови и количества десквамированных эндотелиоцитов в крови больных острым панкреатитом тяжелого течения, $R=0,342$, $p=0,026$ при однократном исследовании в первые 10 суток заболевания. При динамическом исследовании этих показателей такая взаимосвязь не прослеживается. Сделан вывод, что эти показатели повреждения эндотелия при однократном исследовании в первые десять суток от начала заболевания не применимы для прогноза развития септических осложнений и летального исхода при остром панкреатите тяжелого течения.

Анализ наших результатов выявил взаимосвязь уровня васкулярного эндотелиального фактора роста сыворотки крови и времени от начала заболевания в группе без септических осложнений и в 1 подгруппе с септическими осложнениями: $R=0,59$ ($p=0,000003$) с 1 по 32 сутки от начала заболевания. При линейном регрессионном анализе бета в группе без септических осложнений составил $0,408$, $p=0,038$, в 1 подгруппе группы с септическими осложнениями - бета= $0,559$, $p=0,00197$, в двух этих выборках - бета= $0,492$, $p=0,00015$. При этом отмечено достоверное снижение тяжести состояния при 2 исследовании по шкале SAPSII в группе без септических осложнений - $p=0,012$, в 1 подгруппе группы с септическими осложнениями - $p=0,038$. Из чего сделан вывод, что повышение концентрации васкулярного эндотелиального фактора

роста служит признаком снижения тяжести состояния и регресса септических осложнений в первые 4 недели при остром панкреатите тяжелого течения.

При исследовании уровня васкулярного эндотелиального фактора роста в динамике выявлена обратная взаимосвязь уровня этого фактора в сыворотке крови и тяжести системной воспалительной реакции. Корреляция этих показателей в группе с септическими осложнениями составила $R=-0,341$, $p=0,009$, у всех обследованных в динамике больных острым панкреатитом тяжелого течения – $R=-0,296$, $p=0,006$. установлена зависимость уровня васкулярного эндотелиального фактора роста сыворотки крови от тяжести системной воспалительной реакции в группе с септическими осложнениями ($\beta=0,285$, $p=0,031$), а также во всей выборке ($n=33$) ($\beta=0,258$, $p=0,018$). На основании этих результатов можно сделать вывод, что уровень васкулярного эндотелиального фактора роста сыворотки крови отражает тяжесть системной воспалительной реакции при остром панкреатите тяжелого течения. Метод определения динамики изменения уровня васкулярного эндотелиального фактора роста крови предложен, как точный и простой способ прогнозирования исхода абдоминального сепсиса, патент на изобретение № - 2517523, опубликован 27.05.14г., бюллетень №15. Для расчетов предложена формула: $ИП = A2/A1 \times 100$, где ИП – индекс прогноза исхода сепсиса (%), $A1$ – исходное значение васкулярного эндотелиального фактора роста (пг/мл), $A2$ – значение васкулярного эндотелиального фактора роста при повторном исследовании через 1 – 7 суток (пг/мл), 100 – показатель для перевода в проценты, и при величине ИП меньше 100% прогнозируют неблагоприятный исход сепсиса при остром панкреатите тяжелого течения.

Высчитаны операционные характеристики для определения утяжеления системной воспалительной реакции при остром панкреатите тяжелого течения методом динамического исследования васкулярного эндотелиального фактора роста: чувствительность – 79,1%, специфичность - 72,7%, прогностическая ценность положительного результата – 86,3%, прогностическая ценность отрицательного 4 результата – 61,5%. Таким образом, динамическое определение

уровня васкулярного эндотелиального фактора роста служит способом прогноза исхода сепсиса при остром панкреатите тяжелого течения.

По нашим данным выявлена обратная корреляция количества десквамированных эндотелиоцитов со временем прошедшим от начала заболевания ($R=-0,464$, $p=0,002$) в группе без септических осложнений и в 1 подгруппе группы с септическими осложнениями. При линейном регрессионном анализе у этих больных выявлена обратная зависимость количества десквамированных эндотелиоцитов от времени от начала заболевания ($\beta=0,415$, $p=0,008$) Эта зависимость установлена в промежуток со 2 по 19 сутки от начала заболевания. Из наших данных можно сделать вывод, что при благоприятном течении острого панкреатита тяжелого течения количество десквамированных эндотелиоцитов снижается в период со 2 по 19 сутки от начала заболевания. Определение количества десквамированных эндотелиоцитов в динамике применимо для мониторинга состояния пациентов с острым панкреатитом тяжелого течения и оценки эффективности проводимого лечения.

При корреляционном анализе установлена прямая взаимосвязь уровня васкулярного эндотелиального фактора роста сыворотки крови и наличия отграничения очагов некроза в брюшной полости и забрюшинном пространстве ($R=0,56$ $p=0,002$). Определена зависимость наличия отграничения очагов некроза в брюшной полости от уровня васкулярного эндотелиального фактора роста: проанализировано 27 случаев ($\beta=0,5004$, $p=0,007$). Вычислены операционные характеристики уровня васкулярного эндотелиального фактора роста для оценки процессов отграничения очагов некроза: чувствительность – 87,5%, специфичность – 81,8%, прогностическая ценность положительного результата – 87,5%, прогностическая ценность отрицательного результата – 81,8%. Таким образом, установлено, что уровень васкулярного эндотелиального фактора роста сыворотки крови высокочувствительный - маркер отграничения очагов некроза

При изучении распределения генотипов *NOS3* у пациентов с острым панкреатитом тяжелого течения отмечено увеличение количества гетерозигот GT до 50%, и снижение гомозигот GG до 45,45%, в группе без септических

осложнений - преобладание гомозигот GG 64,75%, и снижение числа генотипов GT 29,41%. Это позволяет предположить, что генотип GT может выступать фактором риска септических осложнений при остром панкреатите тяжелого течения. В группе с септическими осложнениями отмечено увеличение частоты аллеля T до 29,6% против 20,5% в группе без септических осложнений. Статистической достоверности этих различий не получено, вероятно, из-за малой выборки исследуемой группы. Установлено, что полиморфизм G849T *NOS3* можно рассматривать, как фактор, влияющий на развитие септических осложнений при остром панкреатите тяжелого течения.

ВЫВОДЫ

1. Снижение тяжести состояния и благоприятный исход острого панкреатита тяжелого течения сопровождается повышением уровня васкулярного фактора роста в сыворотке крови. Этот показатель повреждения эндотелия применим для мониторинга состояния больных острым панкреатитом тяжелого течения и оценки эффективности лечебных мероприятий.

2. При остром панкреатите тяжелого течения уровень васкулярного эндотелиального фактора роста сыворотки крови и количество десквамированных эндотелиоцитов значительно выше, чем у здоровых людей. При однократном исследовании эти показатели повреждения эндотелия не применимы для прогноза прогрессирования некроза железы и развития септических осложнений.

3. Способом прогноза исхода сепсиса при остром панкреатите тяжелого течения служит динамическое исследование уровня васкулярного эндотелиального фактора роста. Снижение концентрации этого фактора свидетельствует об утяжелении сепсиса и развитии полиорганной недостаточности при остром панкреатите тяжелого течения.

4. О снижении тяжести состояния и эффективности лечебных мероприятий при остром панкреатите тяжелого течения можно судить по снижению количества десквамированных эндотелиоцитов в период первых 2-х недель от начала заболевания.

5. Ограничение очагов некроза при остром панкреатите тяжелого течения сопровождается повышением концентрации васкулярного эндотелиального фактора роста в сыворотке крови.

6. В группе острого панкреатита тяжелого течения с септическими осложнениями повышена частота патологического аллеля T гена эндотелиальной синтазы оксида азота.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При наблюдении за состоянием пациентов с острым панкреатитом тяжелого течения целесообразно определять уровень васкулярного эндотелиального фактора роста в динамике. При снижении или отсутствии нарастания уровня этого фактора в сыворотке крови следует думать об усилении интоксикации, развитии септических осложнений и корректировать проводимую терапию.

2. Признаком прогрессирования некроза и развития септических осложнений при остром панкреатите тяжелого течения следует рассматривать отсутствие снижения количества десквамированных эндотелиоцитов в период первых 2 недель от начала заболевания. В условиях районного стационара это доступный способ для оценки тяжести состояния и эффективности проводимого лечения при остром панкреатите тяжелого течения. Он позволит своевременно и обоснованно поставить вопрос о переводе больного в специализированное лечебное учреждение.

3. У больных острым панкреатитом тяжелого течения с септическими осложнениями снижение концентрации васкулярного эндотелиального фактора роста свидетельствует за прогрессирование системной воспалительной реакции и развитие полиорганной недостаточности, и служит неблагоприятным прогностическим фактором, указывая на необходимость пересмотра тактики проводимого лечения.

4. Исследование позволило обосновать выбор хирургической или консервативной тактики на этапах лечения больных острым панкреатитом тяжелого течения. Снижение концентрации васкулярного эндотелиального фактора роста указывает на расширение зон некроза, нарастание тяжести сепсиса и полиорганной недостаточности, обосновывая необходимость в санационном вмешательстве.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдоминальная хирургическая инфекция: клиника, диагностика, антимикробная терапия: Практическое руководство / Под ред. В.С. Савельева, Б.Р. Гельфанда. - М.: Литтерра, 2006. – 168с.
2. Агаев Б.А. Послеоперационное лечение больных острым панкреатитом / Б.А. Агаев, Н.А. Мамедова // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2009. - №8. – С.73-76.
3. Афанасьева А.Н. Синдромы эндогенной интоксикации и системного воспалительного ответа: общность и различия / А.Н. Афанасьева, И.Н. Одинцова, В.В. Удут // Анестезиология и реаниматология. – 2007. - №4. – С. 67-71.
4. Балныков С.И. Лечение больных некротическим панкреатитом / С.И. Балныков, Т.Ф. Петренко // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2009. - №10. – С.24-28.
5. Биохимические маркеры системной воспалительной реакции: роль прокальцитонина в диагностике сепсиса / Б.Р. Гельфанд, С.З. Бурневич, Е.Б. Гельфанд и др. // Инфекции в хирургии. – 2007. – Т.5. - №1. – С18-21.
6. Бойко Ю.Г. Актуальные аспекты острого деструктивного панкреатита / Ю.Г. Бойко // Архив патологии. – 1998. - №1. – С.64-66.
7. Бромберг Б.Б. Особенности изменения агрегационной функции тромбоцитов при остром панкреатите / Б.Б. Бромберг, В.Ф.Киричук, В.С. Тарасенко // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2009. – Т.168. - №6. – С.34-36.
8. Варианты лечения панкреонекроза, определяющие выбор оптимальной тактики хирургического лечения / В.С. Савельев, М.И. Филимонов, С.З. Бурневич и др. // Анналы хирургии. – 2006. - №1. – С.40-44.
9. Варианты распространения гнойно-некротического процесса при остром деструктивном панкреатите / В.М. Тимербулатов, Т.И. Мустафин, М.В.

Тимербулатов, А.К. Имаева // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2008. - №4. – С.31-35.

10. Винник Ю.С. Совершенствование дифференциальной диагностики и прогнозирования течения деструктивных форм острого панкреатита / Ю.С. Винник, С.В. Миллер, О.В. Теплякова // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2009. – Т.168. - №6. – С.16-20.

11. Винокуров М.М. Хирургические вмешательства при инфицированных формах панкреонекроза / М.М. Винокуров, В.В. Савельев, В.Г. Аммосов // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2009. - №11. – С.23-26.

12. Галимзянов Ф.В. Диагностика инфицированного панкреонекроза и лечение с применением операций из мини-доступа / Ф.В. Галимзянов // Анналы хирургии. – 2006. – №3. – С.39-42.

13. Гейниц А.В. Лазерное излучение в комплексном лечении острого деструктивного панкреатита / А.В.Гейниц, Н.Т. Гульмурадова, Т.З. Успенская // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2011. - №7. – С.56-61.

14. Гринев М.В. Патогенетические механизмы сепсиса на модели некротизирующего фасциита и тяжелого панкреатита / М.В. Гринев, Б.Б. Бромберг, В.Ф. Киричук // Инфекции в хирургии. – 2011. - №1. – С.20-23.

15. Гусев Е.Ю. Системное воспаление – синдром или нечто большее? / Е.Ю. Гусев, Л.Н. Юрченко // Вестник интенсивной терапии. – 2008. - №2. – С.3-8.

16. Диагностический алгоритм при остром панкреатите тяжелого течения / С.Н. Кононенко, И.А. Павленко, А.С. Миронов и др. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2006. - №9. – С.36-40.

17. Зайнутдинов А.М. Острый деструктивный панкреатит: выбор оптимального метода лечения / А.М. Зайнутдинов // Анналы хирургии. - 2008. - №6. – С.10-13.

18. Заривчацкий М.Ф. Острый панкреатит: Учебное пособие / М.Ф. Заривчацкий, С.А. Блинов – Пермь, ГОУ ВПО «ПГМА им. Ак. Е.А. Вагнера Минздрава России», 2002. – 103с.
19. Затевахин И.И. Тактика лечения панкреонекроза / И.И. Затевахин, М.Ш. Цициашвили // Тезисы докладов. Первый конгресс московских хирургов. «Неотложная специализированная помощь.» – М.: ГЕОС. – 2005. – С.96-97.
20. Значение дисфункции эндотелия в атерогенезе / Е.Н. Воробьёва, Г.И. Шумахер, М.А. Хорева и др. // Проблемы клинической медицины. – 2008. - №5-6(17-18). – С.85-91.
21. Значение мелатонина и его рецепторов в патогенезе острого панкреатита / Д.Ю. Семенов, А.Г. Тоноян, И.А. Степанов и др. // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2009. – Т.168. - №3. – С.107-110.
22. Калинина Н.М. Аутоиммунная патология эндотелия / Н.М. Калинина, Л.Б. Дрыгина, Н.А. Соколян // Медицинская иммунология. – 2004. –Т.6. - №1-2. – С.25-36.
23. Кирсанова А.К. Механизмы нарушения функций эндотелия при септических состояниях / А.К. Кирсанова // Анестезиология и реаниматология. – 2003. - №6. – С. 72-75.
24. Клинико-морфологические аспекты диагностики и лечения хирургического сепсиса / Г.А. Баранов, Ю.П. Грибанов, Е.А. Решетников и др. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2011. - №7. – С.24-30.
25. Ковальчук Л.В. Учение о воспалении в свете новых данных: развитие идей И.И. Мечникова / Л.В. Ковальчук // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2008. - №5. – С.10-15.
26. Козлов В.К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии / В.К. Козлов. – К.: АННА-Т, 2007. – 296с.

27. Коррекция коагулянтной и протеолитической активности фагоцитов у больных панкреонекрозом / Е.А. Цеймах, В.А. Бомбизо, А.Д. Меликсетян // *Анналы хирургии.* – 2010. - №5. – С.52-57.
28. Кукош М.В. Современные серологические маркеры острого панкреатита / М.В. Кукош, М.С. Петров, Н.В. Емельянов // *Нижегородский медицинский журнал.* – 2003. - №3-4. – С.115-120.
29. Лабораторная диагностика синдрома эндотелиальной дисфункции: методические рекомендации / А.В. Туев, В.В. Щёкотов, А.П. Щёктова и др. – Пермь: ГОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера Росздрава, 2009. – 44 с.
30. Литвин А.А. Современные возможности прогнозирования инфекционных осложнений тяжелого острого панкреатита / А.А. Литвин // *Вестник Санкт-Петербургского университета.* – 2009. – Сер.11. - №3. – С.127-134.
31. Лутфарахманов И.И. Сравнительная оценка современных подходов ранней идентификации тяжелого течения острого панкреатита / И.И. Лутфарахманов, И.П. Миронов, В.А. Руднов // *Анестезиология и реаниматология.* – 2007. - №3. – С.51-54.
32. Метельская В.А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова // *Клиническая лабораторная диагностика.* – 2005. - №6. – С.15-18.
33. Миниинвазивные технологии в лечении острого панкреатита / В.В. Дарвин, С.В. Онищенко, А.Я. Ильканич и др. // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* – 2009. - №1. – С.29-32.
34. Миронов А.С. Этиология и патогенез острого панкреатита / А.С. Миронов // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* – 2004. - №8. – С.72-75.
35. Недашковский Э.В. Острый панкреатит / Э.В. Недашковский, С.В. Бобовник, Б.Л. Дуберман. - М.: Гэотар–Медиа, 2009. – 272с.

36. Панкреонекроз / И.И. Затевахин, М.Ш. Цициашвили, М.Д. Бурудова, А.И. Алтунин - М.: 2007. – 224с.
37. Патоморфологические изменения протоковой системы поджелудочной железы при жировом и геморрагическом панкреатите в эксперименте / С.И. Проценко, А.П. Надеев, В.Г. Вискунов, В.Н. Федоренко // Архив патологии. – 2011.- Т.73. - №1. – С.38-40.
38. Петрищев Н.Н. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиоцитов в крови / Н.Н. Петрищев, О.А. Беркович // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001г. - №1. – С. 50-52.
39. Петухов В.А. Эндотоксиновая агрессия и дисфункция эндотелия при синдроме кишечной недостаточности в экстренной хирургии органов брюшной полости: причинно-следственные взаимосвязи / В.А. Петухов, Д.А. Сон, А.В. Миронов // Анналы хирургии. – 2006. - №5.- С.27-33.
40. Протокол комплексного лечения деструктивного панкреатита на ранних стадиях заболевания / Ю.Л. Шевченко, О.Э. Карпов, П.С. Ветшев и др. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2009. - №6. – С.4-9.
41. Протокол обследования и лечения больных острым панкреатитом. Методические рекомендации / О.Э. Карпов, Ю.М. Стойко, М.Н. Замятин, А.Л. Левчук и др.; под общ.ред. Ю.Л. Шевченко – М.: 2008. 22с.
42. Прудков М.И. Эволюция инфицированного панкреонекроза / М.И. Прудков, Ф.В. Галимзянов // Анналы хирургической гепатологии. – 2012. – Т.17. - №2. – С.42-49.
43. Роль кавеол и кавеолинов в патогенезе болезней человека / Е.Н. Воробьева, Г.И. Шумахер, М.А. Хорева, Ю.В. Кореновский // Проблемы клинической медицины. – 2008. - №5-6(17-18). – С.117-124.

44. Савельев В.С. Дисметаболические последствия синдрома кишечной недостаточности в абдоминальной хирургии / В.С.Савельев, В.Г. Лубянский, В.А. Петухов // *Анналы хирургии*. – 2005. - №6. – С39-42.
45. Свистунов Н.Н. О возможности прогнозирования исходов острого панкреатита с тяжелым течением / Н.Н. Свистунов, В.В. Ивлев // *Вестник Санкт-Петербургского университета*. – 2009. – Сер. 11. – Вып. 3. – С.135-142.
46. Семенова А.С. Патогенетическое обоснование выбора параметров системной воспалительной реакции для прогнозирования системных осложнений панкреонекроза: автореф. дис... канд. мед.наук: 14.00.16. / Семенова Анна Сергеевна. – Саратов, 2007. – 20с.
47. Смирнова И.Ю. Влияние полиморфизма гена индуцибельной NO-синтазы на достижение контроля бронхиальной астмы у детей на фоне терапии ингаляционными кортикостероидами /И.Ю. Смирнова, И.В. Петрова, И.А. Деев // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2009. - №4. – С.82-86.
48. Современный взгляд на проблему эндотоксиновой агрессии и дисфункции эндотелия в хирургии / В.А. Петухов, Ж.С. Семенов, А.В. Миронов, Ф.С. Устинов // *Амбулаторная хирургия*. – 2008. –Т.31. - №3. – С.32-44.
49. Сосудистый эндотелиальный фактор роста в клинике внутренних заболеваний и его патогенетическое значение / Т.И. Гавриленко, Н.А. Рыжова, А.Н. Пархоменко // *Український кардіологічний журнал*. – 2011. – №4. – С.87-95.
50. Сравнительный анализ балльной оценки тяжести острого панкреатита / В.М. Тимербулатов, Т.И. Мустафин, М.В. Тимербулатов и др. // *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. – 2008. – Т.167. - №2. – С.79-81.
51. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) в сыворотке крови больных опухолями надпочечников / Т.А. Бритвин, И.А. Казанцева, А.П. Калинин // *Сибирский онкологический журнал*. – 2006. - №3 – С.88-89.

52. Факторы определяющие развитие гнойных осложнений острого панкреатита в реактивной фазе / А.И. Шугаев, И.Н. Гера, С.С. Мосоян и др. // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2009. – Т.168. - №1. – С.54-56.
53. Фейгельман С.С. Почему хирурги не могут победить раневую инфекцию? / С.С. Фейгельман // Медицинский вестник. – 2006. - №25.- С.15-16.
54. Черешнев В.А. Системное воспаление миф или реальность / В.А. Черешнев, Е.Ю. Гусев, Л.Н. Юрченко // Вестник РАН. – 2004. – Т.74. - №3. – С.219-225.
55. Щёктова А.П. Клинико-лабораторные показатели и эндотелиальная дисфункция при заболеваниях печени, их диагностическая, прогностическая значимость и возможности использования для оценки эффективности терапии: автореф. ...докт. мед. наук: 14.01.04 / Щёктова Алевтина Павловна. – Пермь, 2012. – 49с.
56. Эволюция взглядов на хирургическое лечение острого деструктивного панкреатита / Б.С. Брискин, О.Х. Халидов, А.Э. Шебзухов и др. // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2008. – Т.167. - №6. – С.105-109.
57. Abu-Zidan F.M. Severity of acute pancreatitis: a multivariate analysis of oxidative stress markers and modified Glasgow criteria / F.M. Abu-Zidan, M.J. Bonham, J.A. Windsor // Br J Surg. – 2000. – Vol.87. – P.1019–1023.
58. Activation of lung macrophage subpopulations in experimental acute pancreatitis / S. Gea-Sorlí, R. Guillamat, A. Serrano-Mollar et al. // J. Pathol. – 2011. – Vol.223. - №3. – P.417-424.
59. Acute pancreatitis: bench to the bedside / S.J. Pandol, A.K. Saluja, C.W. Imrie, P.A. Banks // Gastroenterology. – 2007. – Vol.132. – P.1127-1151.

60. A prospective, observational study soluble FLT-1 and vascular endothelial growth factor in sepsis / N.I. Shapiro, K. Yano, H. Okada et al. // *Shock*. – 2008. – Vol.29. – P.452-457.
61. Association of extent and infection of pancreatic necrosis with organ failure and death in acute necrotizing pancreatitis / P.K. Garg, K. Madan, G.K. Pande et al. // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2005. – Vol.3. - №2. – P.159-166.
62. A step-up approach or necrosectomy for necrotizing pancreatitis / C. Hjalmar, M.D. van Santvoort, G. Marc et al. // *The new England journal of medicine*. – 2010. – Vol.362. – P.1491-1502.
63. Banks P.A. Practice guidelines in acute pancreatitis / P.A. Banks, M.L. Freeman // *Am. J. Gastroenterology*. – 2006. – Vol.101. – P.2379-2400.
64. Bhatia M. Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome / M. Bhatia, S. Moolchala // *J. Pathology*. – 2004. – Vol.202. - №2. – P.145-156.
65. Carter C.R. Percutaneous necrosectomy and sinus tract endoscopy in the management of infected pancreatic necrosis: an initial experience / C.R. Carter, C.J. McKay, C.W. Imrie et al. // *Ann. Surg.* – 2000. – Vol.232. - P.175–180.
66. Chade A.R. VEGF: potential therapy for renal regeneration / A.R. Chade // *F1000 Reports medicine*. – 2012. – 4:1. – Режим доступа: <http://f1000.com/reports/m/4/1>.
67. Cheung M.T. Surgical intervention in necrotizing pancreatitis - towards lesser and later (perspective) / M.T. Cheung // *Aust. N.Z. J. Surg.* – 2009. – Vol.79. – P.220-221.
68. Chvanov M. Pharmacologically directed cell disposal: labelin damaged as a strategy against acute pancreatitis / M. Chvanov, O.H. Petersen, A.V. Tepikin // *Molecular interventions*. – 2010. – Vol.10. – Is.2. – P.80-85.

69. Classification of acute pancreatitis—2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus / P. A. Banks, T. L. Bollen, C. Dervenis et al. // *Gut*. – 2013. – Vol.62. – P.102-111.
70. Clinical implications for vascular endothelial growth factor in the lung: friend or foe? / A.I. Papaioannou, K. Kostikas, P. Kollia, K.I. Gourgoulianis // *Respiratory Research*. – 2007. - №7:128. – Ружим доступа: 10.1186/1465-9921-7-128.
71. Consensus of primary care in acute pancreatitis in Japan / M. Otsuki, M. Hirota, S. Arata et al. // *World J. Gastroenterology*. – 2006. – Vol.12. – P.3314-3323.
72. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine / R.C. Bone, R.A. Balk, F.B. Cerra et al. // *Chest*. – 1992. – Vol.101. – P.1644-1655.
73. Diagnostic relevance of procalcitonin, IL-6, and sICAM-1 in the prediction of infected necrosis in acute pancreatitis / Y. Mandi, G. Farkas, T. Takacs // *Int. J. Pancreatol.* - 2000. – Vol.28. - №1. – P.41-49.
74. Different profiles of cytokine expression during mild and severe acute pancreatitis / Z. Dambrauskas, N. Giese, A. Gulbinas et al. // *World J. Gastroenterology*. – 2010. – Vol.16. – Is.15. – P.1845-1853.
75. DiMagno M.J. Nitric oxide pathways and evidence-based perturbations in acute pancreatitis / M.J DiMagno // *Pancreatology*. – 2007. - №7. – P403-408.
76. Effect of enteral nutrition and ecoinmunonutrition on bacterial translocation and cytokine production in patients with severe acute pancreatitis / G.Wang, J. Wen, L. Xu et al. // *J. Surg. Res.* – 2013. – Vol.183. - №2. – P.592-597.
77. Effect of interferon- γ on NF- κ B and cytokine IL-18 and IL-27 in acute pancreatitis / H. Meng, J. Gong, L. Fang et al. // *J. Basic Med. Sci.* – 2013. – Vol.13. - №2. – P.114-118.

78. Effect of mesenchymal stem cells on renal injury in rats with severe acute pancreatitis / Z. Chen, F. Lu, H. Fang, H. Huang // *Exp. Biol. Med.* – 2013. – Vol.238. – P.687-695.
79. Effect of ischemic preconditioning on pancreatic regeneration and pancreatic expression of vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor-A in ischemia/reperfusion-induced pancreatitis / A. Dembiński, Z. Warzecha, P. Ceranowicz et al. // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2006. – Vol.57. – P.39-58.
80. Elevated serum creatinine as a marker of pancreatic necrosis in acute pancreatitis / V. Muddana, D.C. Whitcomb, A.Khalid et al. // *Am. J. Gastroenterology.* – 2009. – Vol.104. – P.164-170.
81. Endothelial nitric oxide synthase is protective in the initiation of caerulein-induced acute pancreatitis in mice / M.J. DiMagno, J.A. Williams, Y. Hao et al. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2004. – Vol.287. – P.80-87.
82. Epidemiology of alcohol-related liver and pancreatic disease in the United States / A.L. Yang, S. Vadhavkar, G. Singh, M.V. Omary // *Arch. Intern. Med.* – 2008. – Vol.168. – P.649-656.
83. Epstein F.H. Vascular – Bed – Specific Hemostasis and hypercoagulable status / F.H. Epstein, R.D. Rosenberg, W.C. Aird // *The new England journal of medicine.* – 1999. – Vol.340. - №20. – P.1555-1564.
84. Evidence of wide variation in the surgical management of severe acute pancreatitis: results of a pan-European study / G.C. Beattie, R. Sahorim, I.T. Virlos et al. // *Gastroenterology.* – 2001. – Vol. 120. - №5. – Suppl.1. – P.194.
85. Faster rate of initial fluid resuscitation in severe acute pancreatitis diminishes in-hospital mortality / T.B. Gardner, S.S. Vege, S.T. Chari et al. // *Pancreatology.* – 2009. - №9. – P.770-776.

86. Ferrara N. The biology of VEGF and its receptors / N. Ferrara, H.P. Gerber, J. Le Coutur // *Nat Med.* – 2003. - №9. – P.669-676.
87. Guidelines for the management of acute pancreatitis / J. Toouli, M. Brooke-Smith, C. Bassi et al. // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2002. - №17. – S.15–39.
88. Hemoconcentration is a poor predictor of severity in acute pancreatitis / J.M. Remes-Troche, A. Duarte-Rojo, G. Morales, G. Robles-Diaz // *World J. Gastroenterology.* – 2005. – Vol.11. – P.7018-7023.
89. IAP guidelines for the surgical management of acute pancreatitis / W. Uhl, A. Warshaw, C. Imrie et al. // *Pancreatology.* – 2002. - №2. – P.565–573.
90. Immunohistochemical expression of FGF-2, PDGF-A, VEGF and TGF beta RII in the course of ischemia/reperfusion-induced acute pancreatitis / Z. Warzecha, A. Dembiński, P. Ceranowicz et al. // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2004. – Vol.55. – P.791-810.
91. Improvement of immune dysfunction in patients with severe acute pancreatitis by high-volume hemofiltration: a preliminary report / D. Gong, P. Zhang, D. Ji et al. // *J. Artif. Organs.* – 2010. – Vol.33. - №1. – P.22-29.
92. Incidence and reversibility of organ failure in the course of sterile or infected necrotizing pancreatitis / J. Lee Mee, F. Paye, A. Sauvanet et al // *Arch. Surg.* – 2001. – Vol.136. - №12. – P.1386-1390.
93. Inflammatory cytokines, C reactive protein, and procalcitonin as early predictors of necrosis infection in acute necrotizing pancreatitis / F.C. Riche, B.P. Cholley, M.J. Laisne et al. // *Surgery.* – 2003. – Vol.133. - №3. – P.257-262.
94. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema / Y. Kasahara, R.M. Tuder, L. Taraseviciene-Stewart et al. // *J. Clin. Invest.* – 2000. – Vol.106. – P.1311-1319.

95. Interaction of complement and leukocytes in severe acute pancreatitis: potential for therapeutic intervention / W. Hartwig, M. Klafs, M. Kirschfink et al. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2006. – Vol.291. – G844-850.
96. Intrabdominal hypertension in patients with severe acute pancreatitis / J.J. De Waele, E. Hoste, S.I. Blot et al. // *Crit. Care.* – 2005. - №9. – P.452–457.
97. Lankisch P.G. Treatment of acute pancreatitis: an attempted historical review / P.G. Lankisch // *Pancreatology.* – 2010. - №10. –P.134-141.
98. Nandy. D. Growth factor mediated signaling in pancreatic pathogenesis / D. Nandy, D. Mukhopadhyay // *Cancers.* – 2011. - №3. – P.841-871.
99. Neutrophil depletion - but not prevention of Kupffer cell activation - decreases the severity of cerulein-induced acute pancreatitis / C.M. Pastor, A. Vonlaufen, F. Georgi et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2006. – Vol.12. – P.1219-1224.
100. Organ failure and infection of pancreatic necrosis as determinants of mortality in patients with acute pancreatitis / M.S. Petrov, S. Shanbhag, M. Chakradorty et al. // *Gastroenterology.* – 2010. – Vol.139. – P.813-820.
101. Paulus P. Biomarkers of endothelial dysfunction: can help us deciphering systemic inflammation and sepsis? / P. Paulus, C. Jennewein, K. Zacharowski // *Informa healthcare.* – 2011. – Vol.16. - №1. – P.11-21.
102. Percutaneous catheter drainage in combination with choledochoscope-guided debridement in treatment of peripancreatic infection / L-J. Tang, T. Wang, J-F. Cui et al. // *World J. of Gastroenterology.* – 2010. – Vol.16. – Is.4. – P.513-517.
103. Peroral endoscopic drainage/debridement of walled-off pancreatic necrosis. / G.I. Papachristou, N. Takahashi, P. Chahal et al. // *Ann. Surg.* – 2007. – Vol.245. – P.943–951.
104. Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 levels predict outcomes of pneumonia-related septic shock patients: a prospective observational study

/ K.Y. Yang, K.T. Liu, Y.C. Chen et al. // Crit. Care. – 2011. - №15:R11. – Режим доступа: <http://ccforum.com/content/15/1/R11>.

105. Plasma vascular endothelial growth factor in severe sepsis / M. van der Flier, H.J. van Leeuwen, K.P. van Kessel et al. // Shock. – 2005. – Vol.23. – Is.1. – P.35-38.

106. Platelet activation in acute pancreatitis / J. Osada, U. Wereszczynska-Siemiakowska, A. Dabrowski et al. // Pancreas. – 2012. – Vol.41. - №8. – P.1319-1324.

107. Practical guidelines for acute pancreatitis / R. Pezzilli, A. Zerbi, V. Di Carlo et al. // Pancreatology – 2010. – №10. – P.523-535.

108. Predicting fatal outcome in early phase of severe acute pancreatitis by using novel prognostic models / K.I. Halonen, A.K. Leppaniemi, J.E. Lundin et al. // Pancreatology. – 2003. – Vol.3. - №4. – P.309-315.

109. Prevention effects of ND-07, a novel drug candidate with a potent antioxidative action and anti-inflammatory action, in animal models of severe acute pancreatitis / J.H. Lee, C.S. An, B.S. Yun et al. // Eur. J. Pharmacol. – 2012. – Vol.687. – P.28-38.

110. Protective effects and anti-inflammatory pathways of exogenous calcitonin gene-related peptide in severe necrotizing pancreatitis / L. Schneider, W. Hartwig, T. Flemming et al. // Pancreatology. – 2009. – Vol.9. - №5. – P.662-669.

111. Protective effect of transplanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells on pancreatitis-associated lung injury in rats / L. Wang, X.H. Tu, P. Zhao et al. // Mol. Med. Rep. – 2012. – Vol.6. - №2. – P.287-292.

112. Protective effects of vascular endothelial growth factor on intestinal epithelial apoptosis and bacterial translocation in experimental severe acute pancreatitis / T. Nakajima, T. Ueda, Y. Takeyama et al. // Pancreas. – 2007. – Vol.34. – P.410-416.

113. Rapid hemodilution is associated with increased sepsis and mortality among patients with severe acute pancreatitis / E.Q. Mao, J. Fei, Y.B. Peng // *Chin. Med. J.* – 2010. – Vol.123. – P.1639-1644.
114. Raraty M.G.T. Compartments that cause the real damage in severe acute pancreatitis / M.G.T. Raraty, J.P. Neoptolemos // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2003. – Vol.168. – P.141–142.
115. Resveratrol ameliorates the deleterious effect of severe acute pancreatitis / R.K. Jha, Q. Ma, Z. Lei et al. // *Biochem. Biophys.* – 2012. – Vol.62. - №2. – P.397-402.
116. Risk assessment in acute pancreatitis /R. Mofidi, P.V. Patil, S.A. Suttie, R.W. Parks // *Br. J. Surg.* – 2009. – Vol.96. – P.137–150.
117. Role of heparin on serum VEGF levels and local VEGF contents in reducing the severity of experimental severe acute pancreatitis in rats / S. Li, X. Chen, T. Wu et al. // *Scand. J. Gastroenterol.* – 2012. – Vol.47. - №2. – P.237-244.
118. Role of vascular endothelial growth factor in rats with severe acute pancreatitis / S. Li, X. Chen, M. Zhang et al. // *Nan Fang Yi Da Xue Xue Bao.* – 2011. – Vol.31. - №1.–P.187-189.
119. Sarr M.G. 2012 revision of the Atlanta Classification of acute pancreatitis / M. G. Sarr // *Polskie archiwum medycyny wewnetrznej.* – 2013. – Vol.23. - №3. – P.118-124.
120. Serum levels of mast cell tryptase, vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in patients with acute pancreatitis / P. Mentula, M.L. Kylänpää, E. Kemppainen et al. // *Pancreas.* – 2003. – Vol.27. – P.29-33.
121. Serum macrophage migration inhibitory factor is an early marker of pancreatic necrosis in acute pancreatitis / S.H. Rahman, K.V. Menon, J.H. Holmfield et al. // *Ann. Surg.* – 2007. – Vol.245. – P.282-289.

122. Severe necrotic and septic pancreatitis. Indications to endoscopic, surgical, and nutritional therapy / G. Mangiante, L. Rodella, A. Cerofolini et al. // *G. Chir.* – 2013. – Vol.34. - №9-10. – P.284-287.
123. Shapiro N.I. Sepsis and the broken endothelium / N.I. Shapiro, W.C. Aird // *Critical care.* – 2011.- 15:135. – Режим доступа: <http://ccforum.com/content/15/2/135>.
124. Shibuya M. Structure and function of VEGF / VEGF-receptor system involved in angiogenesis / M. Shibuya // *Cell Struct. Funct.* – 2001. – Vol.26. – P.25-35.
125. Shrivastava P. Essential role of monocytes and macrophages in the progression of acute pancreatitis / P. Shrivastava, M. Bhatia // *World J. of Gastroenterology.* – 2010. – Vol.16. – Is.32. – P.3995-4002.
126. Solanki N.S. Fluid therapy in acute pancreatitis. A systematic review of literature / N.S. Solanki, S.G. Barreto // *J. of the pancreas.* – 2011. – Vol.12. - №2. – P.205-208.
127. Soluble angiogenic factors in patients with acute pancreatitis / L. Espinosa, P.M. Linares, A. Bejerano // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2011. – Vol.45. – №7. – P.630-637.
128. Surgical management of pancreatic necrosis: towards lesser and later / M-T. Cheung, W-H. Li, P.C. Kwok, J.K. Hong // *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.* – 2010. – Vol.17. – P.338-344.
129. Surgical treatment for severe acute pancreatitis: extent and surgical control of necrosis determine outcome / P. Götzinger, T. Sautner, S. Kriwanek et al. // *World J. Surg.* – 2002. – Vol.26. - №4. – P.474-478.
130. Surgical treatment of severe acute pancreatitis: timing of operation is crucial for survival / P. Götzinger, P. Wamser, R. Exner et al. // *Surg. Infect.* – 2003. – Vol.4. - №2. – P.205-211.

131. Tenner S. Initial management of acute pancreatitis: critical issues during the first 72 hours / S. Tenner // *Am. J. Gastroenterology*. – 2004. – Vol.99. – P.2489-2494.
132. The association of endothelial cell signaling, severity of illness, and organ dysfunction in sepsis / N.I. Shapiro, P. Schuetz, K.Yano et al. // *Critical care*. – 2010. – 14:R182. – Режим доступа: 10.1186/сс9290.
133. The Atlanta classification of acute pancreatitis revisited / T.L. Bollen, H.C. van Santvoort, M.G. Besselink et al. // *Br J Surg*. – 2008. – Vol.95. – P.6–21.
134. The dynamics of angiogenic factors and their soluble receptors in relation to organ dysfunction in disseminated intravascular coagulation associated with sepsis / S. Jesmin, T. Wada, S. Gando et al. // *Inflamation*. - 2013. – V.36. – P.186-196.
135. The role of angiogenic factors in predicting clinical outcome in severe bacterial infection in Malawian children / L.A. Mankhambo, D.L. Banda, G. Jeffers et al. // *Crit Care*. – 2010. - №14(3):R91. – Режим доступа: 10.1186/сс9025.
136. Timing and impact of infections in acute pancreatitis / M.G.H. Besselink, H.C. van Santvoort, M.A. Boermeester et al. // *Br. J. Surg*. – 2009. – Vol.96. – P.267-273.
137. Timing of surgical intervention in necrotizing pancreatitis / M.G.H. Besselink, T.J. Verwer, E.J.P. Schoenmaeckers et al. // *Arch Surg*. – 2007. – Vol.142. – P.1194–1201.
138. Uomo G. Classical, minimally invasive necrosectomy or percutaneous drainage in acute necrotizing pancreatitis. Does changing the order of the factors change the result? / G. Uomo // *J. of the pancreas*. – 2010. – Vol.11. - №4. – P.415-417.
139. Vascular specific growth factors and blood vessel formation / G.C. Yanopoulos, S. Davis, N.W. Gale et al. // *Nature*. – 2000. – Vol.407. – P.242-248.

140. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors / G. Neufeld, T. Cohen, S. Gengrinovitch, Z. Poltorak // *The FASEB Journal*. – 1999. – Vol.13. – P.9-22.
141. Vascular endothelial growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase-1 in septic shock patients treated with direct hemoperfusion with polymyxin B-immobilized fiber column / I. Ebihara, K. Hirayama, S. Kaneko // *Ther Apher Dial*. – 2008. - №12. – P.285-91.
142. Vascular endothelial growth factor increases in serum and protects against the organ injuries in severe acute pancreatitis / T. Ueda, Y. Takeyama, T. Yasuda et al. // *J. Surg. Res.* – 2006. – Vol.134. - №2. – P.223-230.
143. Vascular endothelial growth factor in severe sepsis and septic shock / S. Karlsson, V. Pettilä, J. Tenhunen et al. // *Anesthesia and analgesia*. – 2008. – Vol.106. - №6. – P.1820-1826.
144. Vascular endothelial growth factor in the lung / N.F. Voelkel, R.W. Vandivier, R.M. Tuder // *Am. J. Physiol.- Lung Cell. Mol. Physiol.* – 2006. - Vol.290. – P.209-221.
145. Vascular endothelial growth factor is an important determinant of sepsis morbidity and mortality / K.Yano, P.C. Liaw, J.M. Mullington et al. // *J. Exp. Med.* – 2006. – Vol.203. - №6 – P.1447-1458.
146. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen / D.W. Leung, G. Cachianes, W.J. Kuang et al. // *Science*. – 1989. – Vol.246. – P.1306-1309.
147. Vascular endothelial growth factor is increased during the first 48 hours of human septic shock and correlates with vascular permeability / P. Pickkers, T. Sprong, L.V. Eijk et al. // *Shock*. – 2005. – Vol.24. – P.508-512.

148. VEGF levels in the alveolar compartment do not distinguish between ARDS and hydrostatic pulmonary oedema / L.B. Ware, R.J. Kaner, R.G. Crystal et al. // *Eur. Respir.J.* – 2005. – Vol.26 – P.101-105.

149. Zerem E. Comments on the article about the treatment of pancreatic infection / E. Zerem, G. Imamović // *World J. of Gastroenterology.* – 2010. – Vol.16. – Is.18. – P.2321-2322.