Возможности использования летучих жирных кислот в ранней диагностике инфицированного панкреонекроза

Д.м.н. А.К. ГАГУА, И.М. ИВАНЕНКОВ, к.м.н. П.Ю. ВОРОБЬЁВ

Кафедра факультетской хирургии и урологии Ивановской государственной медицинской академии

Opportunities for volatile fatty acids using in early diagnostics of infected pancreonecrosis

MD A.K. GAGUA, I.M. IVANENKOV, PHD P.YU. VOROB'EV

Chair of Faculty Surgery and Urology of Ivanovo State Medical Academy

Изучены результаты лечения 108 больных панкреонекрозом (ПН). Для своевременной диагностики инфицированного ПН дополнительно использован метод газожидкостной хроматографии с определением в крови концентрации летучих жирных кислот (ЛЖК), являющихся токсичными метаболитами микроорганизмов. Выявлены статистически достоверные пороговые значения ЛЖК, позволяющие своевременно диагностировать начальную фазу инфицирования ПН, а также характер микрофлоры. Проведенными исследованиями определены закономерности изменений показателей ЛЖК в зависимости от выраженности инфекционного процесса в поджелудочной железе (ПЖ) и забрюшинной клетчатке.

Ключевые слова: инфицированный панкреонекроз, летучие жирные кислоты, диагностика, лечение.

It was analyzed the treatment results of 108 patients with pancreonecrosis (PN). Gas-liquid chromatography with definition of blood concentration of volatile fatty acids (VFA) was used additionally for timely diagnostics of infected pancreonecrosis. Volatile fatty acids are toxic metabolites of microorganisms. Statistically significant threshold values of VFA were revealed. These values allow to diagnose timely early phase of PN infection and the nature of the microflora. It was defined changes of VFA depending on the severity of infectious process in pancreas and retroperitoneal fiber.

Key words: infected pancreonecrosis, volatile fatty acids, diagnostics, treatment.

Введение

Острый панкреатит (ОП) остается сложной проблемой неотложной хирургии. Прежде всего это объясняется продолжающимся увеличением заболеваемости и существенно не снижающимися показателями летальности [2, 5, 9, 10]. В настоящее время четко выделено фазовое течение ОП [7—9]. Существующие многочисленные критерии, индексы и шкалы тяжести, а также маркеры острой фазы повреждения, особенно в сочетании с инструментальными методиками, дают возможность определить тяжесть процесса в первой фазе ОП. Однако используемые современные способы и методики лишь опосредованно характеризуют процесс в поджелудочной железе (ПЖ), протекающий в конкретное время течения ОП.

К важным критериям тяжести ОП отнесены некрозы ПЖ, а также парапанкреатической клетчатки. Инфицированный панкреонекроз (ИПН) является наиболее ранней по срокам возникновения формой панкреатической инфекции. Исследования по оценке результатов консервативного лечения и ранней диагностике инфицирования очагов ПН для выбора оптимальной хирургической тактики остаются актуальными, поэтому необходимость разработки новых дифференциально-диагностических подходов при ПН не вызывает сомнений.

В качестве экспресс-метода диагностики инфекции все большее распространение получает газожидкостная хроматография [6]. С помощью этого метода определяют концентрацию и спектр летучих жирных кислот (ЛЖК), являющихся токсичными метаболитами (маркерами) микрофлоры. ЛЖК образуются в результате сбраживания моносахаридов бактериями. Известно, что уксусная кислота продуцируется в основном аэробной, а пропионовая и масляная кислоты — анаэробной микрофлорой. Образование изовалериановой кислоты связано с разрушением полипептидов анаэробными бактериями, обладающими протеолитической активностью [6]. Хроматографический метод отличается от традиционного бактериологического исследования высокой точностью и чувствительностью, а главное — быстротой получения результата. Изучение содержания ЛЖК и других токсичных метаболитов в био-

© Коллектив авторов, 2014

153012 Иваново, Шереметьевский пр., д. 8

птатах ПЖ и периферической крови с использованием метода газовой хроматографии с масс-спектрометрией, позволило доказать роль анаэробной неклостридиальной инфекции в развитии ИПН [3]. Однако в периферической крови была изучена лишь общая концентрация ЛЖК, являющихся метаболитами только анаэробных микроорганизмов. При этом не было определено значение отдельных ЛЖК, являющихся метаболитами не только анаэробной, но и аэробной микрофлоры, которая также принимает активное участие в инфицировании очагов ПН [4].

Цель нашей работы — оценка информативности показателей ЛЖК в своевременной диагностике инфицированных форм ПН для выбора оптимальной лечебной тактики.

Материал и методы

Работа основана на результатах обследования и лечения 108 больных ПН, находившихся в хирургическом отделении Ивановской областной клинической больницы в период с 2009 по 2014 г. Возраст больных варьировал от 21 года до 84 лет и в среднем составил 44,9±2,1 года. Мужчин было 86 (79,6%) и женщин — 22 (20,4%). Причины возникновения ПН: прием алкоголя — у 72 (66,6%) больных, желчнокаменная болезнь — у 20 (18,5%), травма железы — у 4 (3,7%), осложнение ЭРХПГ с ЭПСТ — у 2 (1,9%), не установлены — у 10 (9,3%) больных. В работе использовали Международную классификацию ОП (Атланта, 1992 г.) с учетом пересмотренных и дополнительных критериев, предложенных на конгрессе Международной ассоциации панкреатологов в Индии (Кочин, 2011 г.) [8]. Диагноз ПН устанавливали на основании клинических и лабораторных данных, а также результатов лучевых методов исследования: УЗИ, МСКТ, МРТ. Степень тяжести состояния пациентов оценивали по интегральным шкалам Glasgow (Imrie, 1984 г.) и APACHE-II (1984 г.). Выполняли бактериологическое исследование содержимого острых жидкостных скоплений и биопсийного материала. Всем больным проводили интенсивное консервативное лечение, эффективность которого оценивали на основании клинико-лабораторных данных, а также инструментальных методик обследования.

После установления диагноза ПН пациентам производили забор венозной крови в объеме 0,5 мл. Затем на фоне лечения, в среднем через 3 дня и в зависимости от состояния больного, проводили повторные исследования крови. Подготовка образцов включает добавление к указанному количеству крови 1 капли 10% серной кислоты. Газожидкостную хроматографию для количественного определения уксусной, пропионовой, масляной и изовалериановой кислот выполняли на стеклянной колонке длиною 1,0 м (диаметром 3 мм) заполненной сорбентом «Порапак» Q (США) и ортофосфорнорной кислотой, в изотермическом режиме при температуре 200 °С. Использовали хроматограф МОЗХ модель 3700 с пламенно-ионизационным детектором и газом-носителем гелием. Идентификацию и количественное определение уксусной, пропионовой, масляной и изовалериановой кислот осуществляли с помощью аналитических стандартов [1].

На основании выполненных исследований и результатах проводимого лечения выделены две группы пациентов. В 1-ю группу включены 56 больных со стерильным ПН (СПН), которым в основном проводили интенсивное консервативное лечение. 2-ю группу составили 52 пациента с ИПН. В зависимости от локализации и объема поражения ПЖ, а также забрюшинной клетчатки в стадию инфицирования им выполняли различные оперативные вмешательства.

Полученные в ходе исследования данные обработаны статистически на компьютере с использованием программы Microsoft Excel из комплекта Microsoft Office 2010 и программы Statistica 6.1. Рассчитывали среднюю арифметическую (*M*), ошибку средней (*m*). Количественные параметры сравнивали, используя *t*-критерий достоверности Стьюдента. Для установления взаимосвязей между изучаемыми показателями рассчитывали коэффициент парной корреляции (*r*).

Результаты и обсуждение

В результате обследования у пациентов обеих групп диагностирован различной степени распространенности ПН. При оценке тяжести состояния и результатов лучевых методов исследования, а также содержания ЛЖК до начала инфицирования, различия между исследуемыми группами в основном отсутствовали. У большинства больных техническая невозможность выполнения диагностической чрескожной пункции для бактериологического исследования в первой фазе ПН, как правило, объяснялась выраженным преобладанием некротического компонента над жидкостным или отсутствием ультразвукового «окна». Различия между группами становились более выраженными по мере развития инфекционных осложнений **(табл. 1)**.

В ходе исследования было выявлено статистически достоверное различие средних значений ЛЖК при стерильной и инфицированной формах ПН **(табл. 2)**.

У 39 (69,6%) пациентов 1-й группы на фоне проводимого интенсивного лечения общее состояние постепенно улучшалось и сопровождалось снижением показателей ЛЖК. У остальных 17 (30,4%) больных, несмотря на проводимое лечение, существенного улучшения состояния не наблюдалось.

Таблица 1. **Лабораторные и интегральные показатели при ПН**

Форма панкреонекроза	Лейкоциты, $\cdot 10^9$/л	Лейкоцитарный индекс интоксикации (Я.Я. Кальф-Калиф, 1941 г.), усл. ед.	С-реактивный белок, мг/л	Тяжесть состояния по шкале APACHE-II, баллы
Стерильная	18,4±1,92	5,58±0,96	104±13	6,7±0,6
Инфицированная	25,3±2,49	11,47±1,42	231±41	9,9±0,6
p	<0,05	<0,001	<0,01	<0,001

Таблица 2. **Средние значения ЛЖК (в моль/л) при СПН и ИПН**

Форма панкреонекроза	Кислота			
	уксусная	пропионовая	масляная	изовалериановая
Стерильная	0,049±0,007	0,0055±0,0005	0,0022±0,0002	0,00012±0,00002
Инфицированная	0,425±0,031	0,0255±0,0039	0,0038±0,0003	0,00026±0,00005
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01

Таблица 3. **Спектр микрофлоры при ИПН**

Микрофлора	Частота выявления	
	абс.	%
Escherichia coli	13	25,0
Pseudomonas aeruginosa	8	15,4
Staphylococcus aureus	7	13,5
Enterococcus faecalis	6	11,5
Klebsiella pneumoniae	6	11,5
Streptococcus spp.	4	7,7
Proteus vulgaris	3	5,8
Citrobacter freundi	1	1,9
Ассоциации аэробов	10	19,2
Bacteroides spp.	16	30,8
Peptococcus	5	9,6
Peptostreptococcus	4	7,7
Другие анаэробы	4	7,7

При этом показатели ЛЖК не снижались. Во время контрольной МСКТ были диагностированы различные осложнения: острое жидкостное скопление больших размеров в забрюшинном пространстве — 7 (12,5%) больных, нарастающий ферментативный перитонит — 6 (10,7%), острый калькулезный холецистит — 4 (7,2%) больных. Этим больным были проведены минимально инвазивные вмешательства: чрескожная пункция острого жидкостного скопления под контролем УЗИ (7 больных), видеолапароскопическая санация и дренирование брюшной полости (6), лапароскопическая холецистэктомия и наружное дренирование общего желчного протока (4). По мере улучшения общего состояния у пациентов отмечалось снижение показателей ЛЖК. Летальный исход в этой группе наступил у 2 (3,6%) больных. Причинами смерти были разрыв аневризмы грудного отдела аорты у одного и острая печеночно-почечная недостаточность у другого.

У 52 пациентов 2-й группы на основании комплексного обследования диагностирован ИПН. У всех из них концентрация уксусной кислоты была больше 0,11 ммоль/л. По данным бактериологического исследования пункционного и биопсийного материалов выявлена аэробная и анаэробная флора **(табл. 3)**. При этом в 25 (48,1%) наблюдениях преобладала аэробно-анаэробная ассоциация микроорганизмов. Наличие только аэробной флоры установлено в 23 (44,2%), анаэробной — в 4 (7,7%) наблюдениях.

У 29 (55,8%) человек с выявленной анаэробной флорой установлено также значительное повышение концентрации любой из этих кислот: пропионовая — более 0,0095 ммоль/л, масляная — более 0,0035 ммоль/л, изовалериановая — более 0,0003 ммоль/л. Это соответствовало активному развитию анаэробной неклостридиальной инфекции в очагах деструкции, что требовало использования одного из вариантов открытого оперативного вмешательства.

Во 2-й группе диагностированы следующие осложнения: панкреатогенный абсцесс — у 8 (15,4%) больных, парапанкреатическая флегмона — у 16 (30,8%), паракольная флегмона — у 14 (26,9%), тазовая флегмона забрюшинной клетчатки — у 14 (26,9%) больных. Выявлена прямая корреляция между концентрацией уксусной кислоты и степенью распространенности ИП (r=0,98; p<0,01).

Минимальное повышение концентрации уксусной кислоты отмечалось у пациентов с панкреатогенным абсцессом, максимальное — у больных с распространенной забрюшинной флегмоной **(табл. 4)**. Подобной закономерности с пропионовой, масляной и изовалериановой кислотами не установлено. Это объясняется тем, что уксусная кислота является общим метаболитом аэробной и анаэробной флоры.

В зависимости от вида и распространенности инфекционного процесса диапазон оперативных вмешательств, в соответствии с общепринятой в последние годы хирургической тактикой, варьировал от чрескожных пункционно-дренирующих манипуляций до обширных открытых операций. При левостороннем поражении забрюшинной клетчатки в

Таблица 4. **Концентрация уксусной кислоты (в ммоль/л) при гнойных осложнениях ИПН**

Осложнения ИПН	Среднее значение ($M \pm m$)	Диапазон значений
Панкреатогенный абсцесс	0,20±0,026	0,11—0,25
Парапанкреатическая флегмона	0,33±0,018	0,26—0,40
Паракольная флегмона	0,44±0,011	0,41—0,55
Тазовая флегмона	0,61±0,034	Более 0,55

зависимости от распространенности процесса некрсеквестрэктомию выполняли из различных доступов: путем люмботомии — 11 (21,2%), путем поперечной лапаротомии в эпигастральной области в сочетании с люмботомией или забрюшинного подхода в левой подвздошной области — у 21 (40,4%) больного. При правостороннем парапанкреатите использовали срединную лапаротомию, дополненную люмботомией — 12 (23,1%). После санации полости дренировали широкими дренажами и дренажем-тампоном типа Пенроуз. Для повторных санаций чаще использовали забрюшинные доступы. При панкреатогенном абсцессе проводили чрескожное дренирование под контролем УЗИ у 6 (11,5%) больных, при его неэффективности или технической невозможности открытым вмешательством у 2 (3,8%) больных.

У 29 (55,8%) пациентов на фоне комплексного лечения, включающего этапные открытые и минимально инвазивные санации, отмечалось улучшение общего состояния и постепенное снижение показателей ЛЖК. В 11 (21,1%) наблюдениях существенного улучшения состояния на фоне лечения не отмечалось, что сопровождалось повышением уровня ЛЖК. В этих наблюдениях диагностированы несанированные гнойные очаги, что потребовало дополнительного вмешательства. В последующем на фоне адекватной санации постепенно наступило выздоровление с нормализацией показателей ЛЖК. В 12 (23,1%) случаях, несмотря на интенсивное комплексное лечение, состояние больных прогрессивно ухудшалось с развитием абдоминального сепсиса, полиорганной недостаточности и летального исхода. Нарастающая тяжесть их состояния сопровождалась постоянным повышением показателей ЛЖК.

Сравнительный анализ клинической картины, УЗИ и МСКТ, а также морфологических и бактериологических исследований с результатами определения ЛЖК показал их соответствие во всех наблюдениях. Проведенные исследования выявили закономерности изменений показателей ЛЖК в зависимости от выраженности инфекционного процесса в ПЖ и забрюшинной клетчатке при ПН.

Таким образом, проанализировав клинические проявления, данные инструментальных методик, а также морфологические изменения, мы пришли к выводу, что повышение концентрации летучих жирных кислот является одним из признаков трансформации панкреонекроза в инфицированную форму. Выработанные критерии позволяют своевременно диагностировать и прогнозировать инфекционные осложнения при панкреонекрозе, выбирать оптимальную хирургическую тактику и осуществлять контроль за проводимым лечением.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Акайзин Э.С., Булыгина В.В.* Новые возможности экспресс-диагностики возбудителей гнойной инфекции и быстрой оценки эффективности лечения. Клин лаб диагностика 1999; 6: 45—47.
2. *Бенсман В.М., Савченко Ю.Л., Голиков И.В., Чайкин В.В.* Выбор тактических решений в хирургии крупноочагового панкреонекроза. Хирургия 2013; 4: 38—42.
3. *Буткевич А.Ц., Чадаев А.П., Истратов В.Г., Хизриев Э.А.* Газовая хроматография в диагностике и прогнозе течения деструктивного панкреатита. Клин мед 2007; 3: 43—46.
4. *Гельфанд Б.Р., Бурневич С.З., Цыденжапов Е.Ц. и др.* Тактика антибактериальной профилактики и терапии при панкреонекрозе. Материалы 9-го Всероссийского съезда хирургов. Волгоград 2000; 33—34.
5. *Дюжева Т.Г., Джус Е.В., Шефер А.В., Ахаладзе Г.Г., Чевокин А.Ю., Котовский А.Е.* Конфигурация некроза поджелудочной железы и дифференцированное лечение острого панкреатита. Анналы хир гепатол 2013; 18: 1: 92—102.
6. *Минушкин О.Н., Ардацкая М.Д.* Возможности и перспективы изучения короткоцепочечных жирных кислот при патологии желудочно-кишечного тракта на примере заболеваний кишечника и органов гепатобилиарной системы. Клин лаб диагностика 2004; 2: 19—20, 31—36.
7. *Banks P.A., Bollen T.L., Dervenis C., Gooszen H.G., Johnson C.D., Sarr M.G., Tsiotos G.G., Vege S.S.* Acute Pancreatitis Classification Working Group. Classification of acute pancreatitis — 2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. Gut 2013; 62: 1: 102—111.
8. *Dellinger E.P., Forsmark C.E., Layer P., Levy P., Maravi-Poma E., Petrov M.S., Shimosegava T., Siriwardena A.K., Uomo G., Whitcomb D.C., Windsor J.A.* Determinant based classification of acute pancreatitis severity: an international multidisciplinary consultation. Ann Surg 2012; 256: 6: 875—880.
9. *Freeman M.L., Werner J., van Santvoort H.C., Baron T.H., Besselink M.G., Windsor J.A., Horvath K.D., van Sonnenberg E., Bollen T.L., Vege S.S.* Interventions for Necrotizing Pancreatiti. Summary of Multidisciplinary Consensus Conference. Pancreas 2012; 41: 8: 1176—1194.
10. *Garg P.K., Sharma M., Madan K., Sahni P., Banerjee D., Goyal R.* Primary conservative treatment results in mortality comparable to surgery in patients with infected pancreatic necrosis. Clin Gastroenterol Hepatol 2010; 8: 12: 1089—1094.

Поступила 20.01.14