

І. Ю. Полянський, В. І. Москалюк

Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет»
Чернівці, Україна

I. Yu. Polianskyi, V. I. Moskaliuk

Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University»
Chernivtsi, Ukraine

ПЕРСОНАЛІЗОВАНИЙ ПІДХІД ДО ЛІКУВАННЯ ГОСТРОГО ПЕРИТОНІТУ НА ОСНОВІ ГЕНЕТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Personalized approach to acute peritonitis treatment based on genetic studies

Резюме

У роботі наведені результати лікування хворих на перитоніт з використання принципів персоналізованої медицини, яка базується на виборі діагностичних, лікувальних та профілактичних засобів із урахуванням генетичних, фізіологічних, біохімічних та інших особливостей пацієнта.

Мета дослідження. Покращення результатів лікування хворих на перитоніт, зменшення частоти ускладнень.

Матеріали та методи. У 226 пацієнтів з ознаками гострого перитоніту, яким окрім загальноприйнятого комплексного обстеження визначали рівні цитокінів та серотоніну, проводили аналіз алелей поліморфних ділянок генів $IL1\beta$ (-511C/T) та 5-HTTLPR за допомогою полімеразної ланцюгової реакції, оцінювали результати лікування за використанням розроблених алгоритмів.

Результати. У пацієнтів досліджені процеси пероксидації, протеолізу, фібринолізу, показана їх роль у системних порушеннях гомеостазу. Доведено зв'язок між характером запалення, його розповсюдженням та варіантами гену $IL1\beta$ (-511C/T). Показано зв'язок між виникненням післяопераційного парезу кишечника та варіантами гену 5-HTTLPR, який регулює серотонінергічні механізми його скоротливої здатності. На основі виявлених генетично детермінованих індивідуальних особливостей запального процесу розроблено алгоритми персоналізованого підходу до діагностики, прогнозування перебігу перитоніту, вибору лікувальної тактики, вдосконалені етапи оперативного втручання та медикаментозне лікування.

Висновок. Прогнозування перебігу перитоні-

Abstract

The research presents treatment results of patients with peritonitis by using the personalized medicine principles, which are based on the choice of diagnostic, treatment and preventive measures taking in to account genetic, physiological, biochemical and other features of the patient.

Purpose of the study. The treatment results improvement of patients with peritonitis, the reduction of the complications frequency.

Materials and methods. 226 patients with signs of acute peritonitis had complex examination with serum cytokines and serotonin levels determination and analysis of the polymorphic sites alleles of $IL1\beta$ (-511C / T) and 5-HTTLPR genes by polymerase chain reaction evaluated the treatment outcomes using the developed algorithms. The treatment results with the use of developed algorithms were evaluated.

Results. The processes of peroxide oxidation, antioxidant protection, proteolysis, fibrinolytic activity and their role in systemic disorders of homeostasis are shown. The connection between the nature of inflammatory reactions, its distribution in the peritoneal cavity and variants of the $IL1\beta$ gene (-511C/T) was proved. The relationship between the character of intestinal motility disorders in the postoperative period and variants of the 5-HTTLPR gene, which regulates the serotonergic mechanisms of intestinal contractility, is shown. The algorithms for personalized approach to the peritonitis diagnostics, prognosis of and choice of treatment tactics were developed on the basis of the identified genetically determined individual characteristics of the inflammatory process. Advanced stages of surgical intervention were developed.

ту та розвитку різних ускладнень на основі генетичних досліджень дозволяють розробити алгоритми персоналізованої лікувальної тактики, значно покращити результати його лікування.

Ключові слова: перитоніт, генетичні дослідження, IL1 β (-511C/T), 5-HTTLPR, алгоритми діагностики та лікування, персоналізована медицина.

Conclusion. Prediction of the course of peritonitis and the development of various complications based on genetic research allows developing algorithms of personalized therapeutic tactics, significantly improving the results of its treatment.

Keywords: peritonitis, genetic studies, IL1 β (-511C/T), 5-HTTLPR, diagnostics and treatment algorithms, personalized medicine.

ВСТУП

Гострий перитоніт є одним із найважчих ускладнень гострих хірургічних захворювань [1–4]. Непрогнозований характер його перебігу, низька ефективність існуючих методів лікування та профілактики ускладнень визначають актуальність проблеми перитоніту, що потребує нових досліджень [5–7]. Різнопланові дослідження патогенезу перитоніту, комплексна оцінка проявів запальних реакцій, порушень гомеостазу дали б можливість прогнозувати індивідуальні особливості його перебігу, провести корекцію лікувальної тактики, покращити результати лікування.

Досягти цього можливо шляхом використання принципів персоналізованої медицини, яка базується на виборі діагностичних, лікувальних та профілактичних засобів із урахуванням генетичних, фізіологічних, біохімічних та інших особливостей пацієнта [8–10].

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Покращити результати лікування хворих на перитоніт шляхом використання принципів персоналізованої медицини, яка базується на виборі діагностичних, лікувальних та профілактичних засобів із урахуванням генетичних, фізіологічних, біохімічних та інших особливостей пацієнта.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідження були включені 226 пацієнтів з ознаками гострого перитоніту. Дослідження проведені із дотриманням основних положень GCP (1996) Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008) і наказу МОЗ України № 960 від 23.09.2009 року.

Вік обстежених пацієнтів коливався від 18 до 82 років і в середньому склав $54,6 \pm 5,34$ років. Всім хворим проведено обстеження загальноприйнятими клінічними, лабораторними, біохімічними та інструментальними методами.

Рівень цитокінів та серотоніну у сироватці крові визначали методом імуноферментного ана-

лізу, використовуючи реактиви фірми «DRG» (Німеччина).

Досліджували пероксидне окиснення ліпідів, за вмістом малонового альдегіду в плазмі крові (Владимиров Ю. А., Арчаков А. І., 1972); визначали активність глутатіонпероксидази глутатіон-S-трансферази (Мещишен І. Ф., Геруш І. В., 1998).

З використанням реактивів фірми «Danish Ltd» (Львів) проводили оцінку ферментативної (ФФА), неферментативної (НФА), сумарної фібринолітичної активності (СФА) плазми крові та протеолітичної активності плазми крові (за лізісом азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену).

Алелі поліморфних ділянок генів IL1 β (-511C/T) та 5-HTTLPR вивчали шляхом виділення геномної ДНК з лейкоцитів периферичної крові, стабілізованої ЕДТА, як антикоагулянт («Merk®», Німеччина), із наступною ампліфікацією поліморфної ділянки, за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Фрагменти візуалізували за допомогою УФ-випромінювача за наявності маркера молекулярних мас 100–1000 bp («СибЕнзим», Росія).

Статистична обробка результатів досліджень проводилася із використанням електронних таблиць Microsoft® Office Excel (build 11. 5612.5703) та програми для статистичної обробки Statgraphics Plus 5.1 Enterprise edition (©Statistical Graphics corp. 2001).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Причинами гострого перитоніту у обстежених пацієнтів були: гострий деструктивний апендицит – у 87 хворих (38,50%), деструктивний холецистит – у 46 хворих (20,35%), перфоративна виразка шлунку чи дванадцятипалої кишки – у 54 хворих (23,89%), кишкова непрохідність – у 27 хворого (11,95%), гінекологічна патологія – у 12 хворих (5,31%).

Розповсюдженість запального процесу по очеревинній порожнині визначали, за класифікацією І. Ю. Полянського та співавт [11].

Місцевий перитоніт виявлено у 15 (6,64%) пацієнтів, дифузний – у 68 (30,09%), розлитий – у 94 (41,59%), загальний – у 49 (21,68%).

Нами виявлено чітку залежність між розповсюдженістю запального процесу по очеревинній порожнині та концентрацією в крові IL1 β .

У хворих із місцевим перитонітом вона склала $181,05 \pm 0,65$ пг/мл; із дифузним – $184,12 \pm 3,71$ пг/мл; із розлитим – $234,26 \pm 3,74$ пг/мл, із загальним – $248,41 \pm 8,56$ пг/мл. Це є доказом важливої ролі цього цитокіну у прогресуванні запального процесу по очеревинній порожнині.

Відомо, що секреція $IL1\beta$ залежить від варіантів поліморфізму гену $IL1\beta$ (-511C/T) [1]. Виявлено, що найнижча його концентрація спостерігалася при СС-варіанті, вірогідно вища – при СТ-варіанті та найвища – при ТТ-варіанті генотипу. При цьому у всіх хворих з місцевим перитонітом нами виявлено СС-варіант $IL1\beta$ (-511C/T), у хворих з дифузним перитонітом СС-варіант зустрічався у 56(82,35%) пацієнтів, а СТ – у 12 (17,75%). У пацієнтів з розлитим перитонітом, сприятливий СС-варіант зустрічався тільки у 12 (12,77%) випадків, СТ – у 53 (56,38%) випадків, ТТ- варіант – у 29 (30,85%) пацієнтів. При загальному перитоніті СС-варіант не виявлено у жодного з пацієнтів, у 26 пацієнтів (53,06%) мав місце СТ-варіант та у 23 пацієнтів (46,94%) – ТТ-варіант.

Це стало підґрунтям для розробленого способу прогнозування перебігу перитоніту: при наявності у пацієнта СТ-, та особливо, ТТ-варіанта гену $IL1\beta$ (-511C/T) прогнозуємо розвиток розповсюдженого перитоніту [12].

Лікувальна тактика таких хворих повинна бути змінена і спрямована на попередження прогресування запального процесу по очеревинній порожнині та його ліквідацію шляхом більш адекватної санації очеревинної порожнини, створення умов для тривалого локального підведення антицитокінових препаратів за розробленими методиками [13, 14]. Доцільно у таких пацієнтів розширити показання до лапароскопії – запрограмованих повторних санацій очеревинної порожнини [15, 16].

При дослідженні патогенезу перитоніту нами виявлені прояви дисбалансу редокс-системи у бік переваги активності процесів пероксидації, які прямопропорційно зростали по мірі розповсюдження запального процесу по очеревинній порожнині. Така ж закономірність характерна для процесів протеолізу. Має місце зростання протеолізу, за азоальбуміном (до низькомолекулярних структур), за азоказеїном (до середньомолекулярних структур). Ці механізми лежать в основі прогресуючого ендотоксикозу.

Дисбаланс системи гемостазу, зумовлений проявами гіперкоагуляції на тлі виснаження протизгортальної системи та надмірної активації не ферментативної фібринолітичної активності сприяє розвитку ДВЗ синдрому, який є важливим чинником поліорганної недостатності.

Одним із ускладнень гострого перитоніту є розвиток динамічної кишкової непрохідності. Нами виявлено, що відновлення скоротливої здатності кишечника після оперативних втру-

чань прямопропорційно залежить від концентрації в крові серотоніну, дія якого на рецептори носить генетично-детермінований характер. Ген 5-HTTLPR, який знаходиться на 17 хромосомі, регулює зворотне захоплення серотоніну з синаптичної щілини у везикули пресинаптичної мембрани, звідки надлишок його попадає в кров. Відомі три варіанти генотипу 5-HTTLPR – SS, LS, LL. При LL варіанті забезпечуються найвища концентрація серотоніну у везикулах та їх фізіологічна дія на стінку кишки. При LS та SS варіантах зворотне захоплення серотоніну виражене менше, що знижує можливість його дії на постсинаптичні рецептори [17].

Нами, у 112 пацієнтів, проведена порівняльна оцінка рівня серотоніну у плазмі крові з варіантами поліморфізму гену 5-HTTLPR. Пацієнти були розподілені на дві групи. Перша група – 54 хворих, у яких у післяопераційному періоді моторно-евакуаторна функція кишечника відновлювалась на 2–3 добу. Концентрація серотоніну у плазмі крові цих хворих склала $238,18 \pm 2,036$ нг/мл. Генетичними дослідженнями виявлено, що у переважній більшості обстежених пацієнтів (44 хворих; 81,5%) зустрічався LL-варіант генотипу. SL – варіант виявлено у 4 пацієнтів (7,4%), а SS-варіант – у 6 хворих (11,1%).

Другу групу склали 58 пацієнтів з тривалими проявами післяопераційного парезу кишечника. Встановлено, що рівень серотоніну у них був вірогідно нижчим за аналогічний показник у першій групі ($131,24 \pm 16,36$ нг/мл; $p < 0,001$).

У переважній більшості пацієнтів зустрічався SS-генотип 5-HTTLPR (45 хворих; 77,6%), SL-генотип – у 7 хворих (12,1%), а LL-варіант генотипу виявлено тільки у 6 пацієнтів (10,3%).

Це свідчать, що саме SL та SS варіанти генотипу асоціюються з післяопераційним парезом кишечника, що стало підґрунтям для розробленого нами способу прогнозування порушенням моторно-евакуаторної функції кишечника у післяопераційному періоді та змін лікувальної тактики у таких пацієнтів [18]. Вона полягала у розширенні показань до інтубації кишечника та формування стом, використання методів локального підведення до стінки кишки серотонінергічних препаратів [19]. Така персоналізована лікувальна тактика дозволила значно знизити частоту виникнення цього ускладнення, ефективно відновлювати скоротливу здатність кишечника.

Запропонований персоналізований підхід до діагностики, прогнозування перебігу гострого перитоніту, вибору лікувальної тактики, вдосконалення етапів оперативного втручання та обґрунтований вибір медикаментозної терапії дозволив знизити летальність до 7,97%.

Разом з тим, очевидно, що вирішення проблеми гострого перитоніту лежить у площині профілактики його виникнення. Планове оперативне лікуван-

ня хірургічних захворювань, які можуть ускладнитись перитонітом, дасть змогу знизити частоту його виникнення, а рання діагностика, прогнозування перебігу та адекватна хірургічна тактика дозволять покращити результати лікування таких хворих.

ВИСНОВКИ

1. Характер та вираженість запального процесу при перитоніті, схильність до розповсюдження, системних порушень, у першу чергу, поліорганної недостатності, зумовлені індиві-

дуальними генетично детермінованими особливостями механізмів запалення.

2. Розробка способів прогнозування перебігу перитоніту та розвитку різних ускладнень на основі генетичних досліджень дозволяють змінювати лікувальну тактику, обсяг оперативного втручання, схем пері- та післяопераційного медикаментозного лікування.

3. Персоналізований підхід до діагностики, прогнозування перебігу та вибору лікувальної тактики при гострому перитоніті дає змогу покращити результати його лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Kryvoruchko IA, Antonova MS. Clinical treatment patients of abdominal sepsis using sanation relaparotomy, considering the period of the abdominal cavity closure. *Klinichna khirurgiya*. 2015; 11 (2):16–18.

2. Dzyubanovskyy IY, Mihenko BO. The system antioxidant activity dynamics in patients with acute peritonitis disseminated. *Klinichna ta eksperimentalna patolohiya*. 2007; 6 (3): 38–40.

3. LyfshytsYZ, Zaychenko PA, Valetskyy VL et al. Laporostomy combined with vacuum therapy in the complex treatment of secondary generalized peritonitis. *Khirurgiya Ukrainy*. 2012; 2: 37–40.

4. Boyko VV, Yvanova YV. The effect of cytokine oriented therapy on the incidence of purulent-septic complications and the survival of patients with postoperative peritonitis. *Khirurgiya Ukrainy*. 2011; 2 (38): 54–59.

5. Kılıç E1, Uğur M, Yetim İ, Temiz M. Effects of temporary abdominal closure methods on mortality and morbidity in patients with open abdomen. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2018; 24 (4): 321–326. DOI: 10.5505/tjtes.2017.95038.

6. Tolonen M, Mentula P, Sallinen V et al. Open abdomen with vacuum-assisted wound closure and mesh-mediated fascial traction in patients with complicated diffuse secondary peritonitis: A single-center 8-year experience. *Trauma Acute Care Surg*. 201; 82 (6): 1100–1105. DOI: 10.1097/TA.0000000000001452.

7. Utiyama EM, Pflug AR, Damous SH, Rodrigues AC Jr, Montero EF, Birolini CA. Temporary abdominal closure with zipper-mesh device for management of intra-abdominal sepsis. *Rev Col Bras Cir*. 201; 42 (1): 18–24.

8. Galli EG, Taietti C, Borghi M. Personalization of automated peritoneal dialysis treatment using a computer modeling system. *Adv Perit Dial*. 2011; 27: 90–96.

9. Jannasch O, Meyer F, Fuellert A et al. Vacuum-assisted closure (VAC) for postoperative

secondary peritonitis: Effect on bacterial load as well as local and systemic cytokine response (initial results). *Pol Przegl Chir*. 2018; 90 (5): 27–35. DOI: 10.5604/01.3001.0012.1751.

10. Barnett RE, Keskey RC, Rao JM et al. Poor outcome in bacterial peritonitis is associated with dysregulated microRNAs and an increased inflammatory response. *Surgery*. 2013; 154 (3): 521–527. DOI: 10.1016/j.surg.2013.06.048.

11. Polianskyi IY, Grynchuk FV, Andriyets VV et al. Acute peritonitis classification. *Klinichna anatomiya ta operatyvna khirurgiya*. 2012; 11 (2): 68–70.

12. Moroz PV, Polianskyi IY. Predicting method occurrence of different forms of peritonitis in acute surgical pathology patients. Patent Ukrainy 93421. 2014 ver. 25.

13. Maksymyuk VV, Polianskyi IY, Moskaliuk VI, Moroz PV Peritoneosorption method for the treatment of common forms of acute peritonitis. Patent Ukrainy 93434. 2014 ver. 25.

14. Andriyets VV, Moskaliuk VI, Polianskyi IY, Moroz PV. Method of treating acute peritonitis. Patent Ukrainy 117630. 2017 cher. 26.

15. Polianskyi IY, Hrynchuk FV, Maksymyuk VV. The sanation method of the peritoneal cavity with common forms of acute purulent peritonitis. Patent Ukrainy 51921. 2002 hru. 16.

16. Polianskyi IY, Maksymyuk VV, Andriyets VV, Hrynchuk FV. The temporary closure method of the operation wound to perform programmed sanation of the abdominal cavity at purulent peritonitis common forms. Patent Ukrainy 50931. 2002 hru. 15.

17. Moskaliuk VI. Genetic trigger neurohumoral messengers of postoperative intestinal paresis, its value in prediction, prevention and treatment. *Evrrika: Meditsynskiye nauki*. 2016; 1: 14–19.

18. Polyanskyi I Yu, Moskaliuk II, Fediv OI, Moskaliuk VI. Predicting method for the onset of violations of the functional state of the intestine

with combined pathology. Patent Ukrayiny 76483. 2013 sich. 10.

19. Polianskyi IY, Moskaliuk VI, Moskaliuk II, Andriyets' VV. Complex restoration method

of motor-evacuation function of the intestine in postoperative motion of dynamic intestinal obstruction. Patent Ukrayiny 126856. 2018 lyp. 10.

Стаття надійшла до редакції 02.04.2019