

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ В ДІАГНОСТИЦІ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ПРИ ОПІКОВІЙ ТРАВМІ

В. С. Савчин, Л. Р. Остап'юк, А. С. Волошиновський, Т. С. Малий

Комунальна міська клінічна лікарня № 8, м. Львів

APPLICATION OF METHOD OF FLUORESCENT SPECTROSCOPY IN DIAGNOSIS OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN THE BURN TRAUMA

V. S. Savchyn, L. R. Ostapyuk, A. S. Voloshynovskiy, T. S. Malyi

The Communal City Clinical Hospital N 8, Lviv

Поліорганна недостатність, сепсис, гнійно—септичні ускладнення в поєднанні з ендогенною інтоксикацією гістогенного та мікробного походження є основними причинами летальності хворих, в тому числі дітей, за тяжкої термічної травми. В останні роки ендогенну інтоксикацію як складову критичних станів при опіковій хворобі відносять до концепції синдрому системної запальної відповіді (ССЗВ). Ендогенна інтоксикація — це ланцюг патохімічних, патофізіологічних, біохімічних і патоморфологічних реакцій, що втратили природний контроль і включилися в хибне коло взаємного потенціювання [1].

В стадії опікової токсемії в сироватці крові (СК) хворих накопичується велика кількість токсичних речовин, в детоксикації яких бере участь альбумін. Проте, у зв'язку з значною втратою білка у таких хворих значно знижується рівень альбуміну в СК, що не може бути компенсовано гепатоцитами печінки. При цьому альбумін СК "атакують" також токсини, що зумовлює зменшення в ньому "вакантних місць" зв'язування, його комплексоутворювальної активності та порушення транспортної функції. Це спричиняє зниження сумарної ефективності основних детоксикаційних систем організму [2 — 4]. Тому під час лікування, крім хірургічного втручання та антибактеріальної терапії, важливою його складовою є інфузійна терапія, в тому числі з використанням розчинів альбуміну. На

жаль, більшість існуючих сьогодні методів діагностики гнійно—септичних ускладнень і сепсису дозволяють виявити захворювання в стадії розгорнутих клінічних проявів, що значно погіршує прогноз. Тому актуальними є два аспекти вирішення проблеми сепсису: можливість його ранньої діагностики та оцінка ризику його виникнення у пацієнтів за різних гнійно—запальних захворювань. Адже, успішне вирішення проблеми та застосування своєчасної інтенсивної терапії сприятиме зменшенню летальності більш ніж на 25%. Недоліком такої діагностики сепсису є досить тривалий (2 — 7 діб) період очікування клініко—лабораторних симптомів авансованого захворювання та результатів бактеріологічних досліджень — фактично це час втрачених

терапевтичних можливостей і відтермінування адекватного лікування, що зумовлює, незадовільні результати лікування [5].

В останні десятиліття широко використовують фізичні методи дослідження. ФС — це надзвичайно чутливий метод діагностики різних захворювань. Його основними перевагами є висока чутливість, точність, експресність, простота [6]. ФС використовували для діагностики гнійно—септичних ускладнень та сепсису в хірургічній практиці [7]. Слід зауважити, що зміни спектрів флуоресценції (СФ) СК у більшості пацієнтів при сепсисі відзначали за 24 — 48 год до появи клініко—лабораторних ознак та суттєвих змін соматичного статусу хворих [4]. В попередніх роботах вивчені можливості покращення лікувальної такти-

Реферат

Однією з основних причин летальності при термічній травмі є сепсис і септичний шок. "Золотий стандарт" діагностики, що полягає у виявленні бактеріємії, в цій ситуації недостатньо інформативний. Це зумовило необхідність пошуку нових ефективних методів діагностики септичного стану при термічній травмі. Для вирішення цієї проблеми нами застосований метод флуоресцентної спектроскопії (ФС), раніше успішно використаний для діагностики гнійно—септичних станів і сепсису в хірургічній та акушерсько—гінекологічній практиці.

Ключові слова: опікова травма; сепсис; діагностика; флуоресцентна спектроскопія.

Abstract

Sepsis and septical shock constitute one of principal causes of lethality in a thermal trauma. "Gold standard" of diagnosis, which consists of bacteremia detection, lacks the informativeness in this situation. This have promoted the necessity for search of a new effective diagnostic methods for septic state in thermal trauma. For this problem solving we used the method of fluorescent spectroscopy, which was earlier applied successfully for diagnosis of purulent—septic states and sepsis in surgical and obstetrics—gynecological practice.

Keywords: the burn trauma; sepsis; diagnosis; fluorescent spectroscopy.

ки при опіковій травмі шляхом дослідження впливу сучасних методів місцевого лікування на перебіг клітинної фази запальної реакції у хворих за опікової травми, в тому числі глибоких опіків голови і шиї [5].

З огляду на спільність патогенезу ССЗВ при опіковій травмі та сепсису, незважаючи на їх різні етіологічні чинники, успішний досвід використання ФС для діагностики гнійно—септичних станів [5, 7], ми запропонували використати цей метод в діагностиці гнійно—септичних ускладнень при опіковій травмі.

Мета дослідження: визначення можливості використання ФС для діагностики запальних змін, що передують сепсису, у хворих за опікової травми.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клінічною базою дослідження було опікове відділення, експериментальною базою — лабораторія люмінесценції кафедри експериментальної фізики Львівського національного університету імені Івана Франка. Досліджували проби СК пацієнтів з поверхневими опіками полум'ям та окропом І—ІІА—ІІБ ступеня, в тому числі голови та шиї.

З метою визначення доцільності застосування для діагностики опікової хвороби досліджені 35 проб СК у 8 пацієнтів. Дослідження СК розпочинали після появи загрозливих ознак сепсису і проводили в динаміці з інтервалом 3 — 5 діб. Використовували спектрально—флуоресцентний комплекс, що забезпечував надійне визначення параметрів досліджуваних об'єктів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Збудження зразків СК ультрафіолетовим (УФ) світлом за довжини хвилі 300 нм і менше дає змогу спостерігати свічення наявних в їх структурі білків, зокрема, альбуміну, що зумовлене присутністю в ньому залишку амінокислоти триптофану. СФ СК у пацієнтів при опіковій хворобі — це подібні криві у діапазоні від 300 до 450 нм. Основ-

ними показниками, використаними для аналізу СФ СК, були інтенсивність флуоресценції (I_f) і положення максимуму смуги флуоресценції (λ_{max}). Дослідження ґрунтувались на гіпотезі про появу при гнійно—септичних ускладненнях особливих "бактерійних білків", внаслідок взаємодії мікроорганізмів і продуктів їх життєвого циклу з альбумінами [3, 5]. Оскільки флуоресценція СК зумовлена альбумінами [3], будь—які зміни СФ, зокрема, появу двопікової структури, можна пояснити з точки зору змін структури молекули альбуміну. При синдромі ендогенної інтоксикації в організмі виникають умови для утворення форм альбуміну зі зміненими фізико—хімічними властивостями. Оскільки альбумін здатний до комплексоутворення, частина його молекул зв'язує токсичні продукти метаболізму мікроорганізмів. Ці молекули альбуміну блокуються токсинами, тому їх зв'язувальна здатність щодо фізіологічних ліганд і лікарських засобів зменшується. Таким чином, ефективна концентрація альбуміну зменшується, хоча його загальна концентрація є сталою [3]. Спектрально—флуоресцентні характеристики СК відображають вплив на організм хворих різних чинників (бактеріємії, антибактеріальної та інфузійної терапії). Для поглибленого розуміння впливу лікувальних заходів на СФ СК перед початком використання ФС *in vivo* були проведені експерименти *in vitro*, в яких вивчений вплив бактеріємії та інфузійної терапії на зміну спектрально—флуоресцентних характеристик СК. Також експериментально доведено можливість використання 20% донорського альбуміну як еталону при дослідженні СФ СК хворих. Пацієнти з опіковою травмою розподілені на тих, хто госпіталізований у тяжкому стані і в стані середньої тяжкості. В усіх хворих, поряд з стандартним алгоритмом обстеження, проведено серію досліджень СФ СК в динаміці під час лікування з інтервалом 3—5 діб і перед виписуванням. При цьому проводили постійний моніторинг клінічних показників, результатів

лабораторних досліджень, в тому числі основних біохімічних показників крові. Аналізуючи ці дані та результати СФ СК, коригували лікувальні заходи з метою підвищення їх ефективності.

За даними мікробіологічного дослідження в одного хворого виявлені *Staphylococcus aureus* в концентрації 1×10^5 колонієутворювальних одиниць (КУО/г), *Pseudomonas aeruginosa* 1×10^6 КУО/г, ще в одного — *Pseudomonas aeruginosa* 1×10^8 КУО/г, *Acinetobacter* spp. 1×10^7 КУО/г, *Staphylococcus aureus* 1×10^4 КУО/г. Обом пацієнтам призначене відповідне лікування, в тому числі антибактеріальну та інфузійну терапію: одному — об'ємом 2 — 3 л щодня, в тому числі 20% розчин донорського альбуміну (по 100 мл щодня протягом 8 діб); другому — об'ємом 3 — 5 л щодня, в тому числі 20% розчин донорського альбуміну (по 400 мл і 200 мл протягом 2 діб). Завдяки проведенню інфузійної терапії інтенсивність СФ СК першого хворого не була помітно зниженою ($I_f = 0,88$ ум. од.), що корелювало з результатами дослідження *in vitro*. При цьому не виявлено також помітного зсуву СФ СК в ділянку довгих хвиль, незважаючи на верифікацію у нього кількох збудників. Очевидно, щоденне введення альбуміну дозволило значно покращити функціонування детоксикаційних систем організму, що позитивно вплинуло на спектрально—флуоресцентні показники. Критичним моментом під час моніторингу СФ СК цього хворого було суттєве зниження I_f до 0,35 в.о. та зсув СФ у ділянку довгих хвиль на 9 нм. Ці показники добре корелювали з результатами дослідження СФ СК хворої на сепсис. У подальшому спектрально—флуоресцентні показники СК значно покращилися, незважаючи на припинення антибактеріальної та інфузійної терапії. Вони добре корелювали з клінічними показниками і результатами лабораторних досліджень хворого. Пацієнт виписаний у задовільному стані.

Під час первинного обстеження другого хворого з використанням ФС відзначено зменшення інтенсив-

ності СФ СК до 0,66 в. о. і зсув у ділянці довгих хвиль до 339 нм. На тлі продовження лікування виявлене подальше збільшення інтенсивності флуоресценції ($I_{\text{ф}}=0,99$ ум. од.), що пов'язане з масивною інфузійною терапією. За даними клінічних, лабораторних досліджень змін спектрально—флуоресцентних характеристик СК стан пацієнта покращився, він виписаний.

Ще в одного хворого з опіковою травмою виявлені зміни спектрально—флуоресцентних характеристик СК. За даними мікробіологічного дослідження виявлені два збудники (*Staphylococcus aureus* 5×10^6 КУО/г, *Staphylococcus haemolyticus* 5×10^6 КУО/г). Відзначене суттєве зменшення інтенсивності флуоресценції до 0,53 ум. од., у подальшому стрімке підвищення інтенсивності смуги флуоресценції СК ($I_{\text{ф}}=1,05$ ум. од.), що не можна пояснити абсолютною гіпопротеїнемією, яка зумовлює послаблення концентраційного гасіння флуоресценції, притаманне флуоресценції білків, а транзиторною гіперводемією [4, 5]. Особливої уваги заслуговують результати дослідження в динаміці СФ СК потерпілої з поєднаною травмою тіла, струсом головного мозку, множинними за-

бійно—рваними ранами лобово—тім'яної ділянки, забоєм грудей, забоєм легень, лівобічним гемотораксом, забоєм черевної стінки, травматичним відчленуванням лівої нижньої кінцівки на рівні нижньої третини стегна, шоком III ступеня і сепсисом. Цікаво було вивчити динаміку змін СФ СК цієї хворої і порівняти її з відповідними результатами у хворих при опіковій травмі. За даними мікробіологічного дослідження верифіковані три збудники (*Pseudomonas aeruginosa* 1×10^5 КУО/г, *Staphylococcus aureus* 1×10^4 КУО/г, *Klebsiella pneumoniae* 1×10^4 КУО/г). Відразу призначене лікування, в тому числі антибактеріальна та інфузійна терапія об'ємом 2—3 л щодня, 20% розчин донорського альбуміну (по 100 мл і 260 мл протягом 2 діб). Завдяки проведенню інфузійної терапії у значному об'ємі інтенсивність СФ СК не була знижена ($I_{\text{ф}} = 0,98$ ум. од.), що корелювало з результатами дослідження *in vitro* та дослідження СФ СК хворих з опіками. У міру поступового зменшення об'єму інфузійної терапії інтенсивність флуоресценції зменшилася до 0,76 ум. од. На тлі покращення стану хворої після відміни інфузійної та антибактеріальної терапії

клінічно стан хворої значно покращився, про що свідчили результати дослідження ($I_{\text{ф}}=0,98$ ум. од.).

У хворих за опікової травми середньої тяжкості зміни спектрально—флуоресцентних характеристик СК близькі до таких, характерних для пресептичного стану. Мінімальне зниження інтенсивності СФ СК становило 0,87 ум.од. Цим пацієнтам також проводили інфузійну терапію у значному об'ємі, що частково нівелювало ефект зниження інтенсивності флуоресценції.

Отже, СФ СК є надійним маркером діагностики гнійно—септичних станів при опіковій травмі. Дослідження СФ СК в динаміці допомагає вчасно призначити ефективне лікування, за потреби — коригувати лікувальні заходи та проводити моніторинг стану хворих з метою запобігання сепсису. ФС суттєво доповнює інформацію, отриману за результатами інших методів дослідження, новими знаннями про процеси, що відбуваються в організмі пацієнтів при гнійно—запальних захворюваннях, і щодо можливості надання прогностичної оцінки. При появі клінічних ознак сепсису необхідне негайне призначення ефективного лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Коваленко О. М. Патогенетичне обґрунтування програм хірургічного лікування дітей з поширеними опіками та вплив їх на перебіг ранового процесу: автореф. дис. ... д—ра мед. наук: спец. 14.01.03 — хірургія / О. М. Коваленко. — К., 2012. — 35 с.
2. Флуоресцентна спектроскопія: можливості застосування в медичній практиці / І. Д. Герич, О. В. Булавенко Л. Р. Остап'юк [та ін.]. — Львів: Ліґа—Прес, 2015. — 366 с.
3. Перспективи діагностики сепсису і гнійно—септичних ускладнень: метод флуоресцентної спектроскопії / І. Д. Герич, Л. Р. Остап'юк, В. В. Ващук [та ін.] // Вісн. Укр. мед. стомат. академії. — 2009. — Т. 9, № 1. — С. 248 — 256.
4. Діагностика післяпологових гнійно—септичних ускладнень методом флуоресцентної спектроскопії / О. В. Булавенко, Л. Р. Остап'юк, В. О. Рудь [та ін.] // Здоров'я жінчини. — 2015. — № 4 (100). — С. 63 — 65.
5. Савчин В. С. Особливості репаративних процесів у хворих з глибокими опіками голови та шиї / В. С. Савчин // Арх. клін. та експерим. медицини. — 2014. — Т. 23, № 2. — С. 149 — 152.
6. Моделювання змін сироватки крові при різних захворюваннях та лікувальних заходах / О. В. Булавенко, І. Д. Герич, Л. Р. Остап'юк [та ін.] // Biomed. Biosoc. Anthropol. — 2013. — Vol. 20. — P. 8 — 14.
7. Gerych I. Spectral—fluorescent properties of serum as a reliable marker for early diagnosis of sepsis / I. Gerych, O. Bulavenko, L. Ostapiuk // J. Gynec. Obstet. — 2014. — Vol. 2, N 5. — P. 71 — 74.

