

УДК 616.381-002-07-08-035

## ЛІКУВАННЯ ГОСТРОГО ПЕРИТОНІТУ: ПЕРЕХІД ВІД ДОКАЗОВОЇ ДО ПЕРСОНАЛІЗОВАНОЇ МЕДИЦИНИ НА ОСНОВІ ГЕНЕТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Полянський І.Ю., Москалюк В.І., Мороз П.В., Андрієць В.В., Гринчук А.Ф.

Буковинський державний медичний університет, кафедра хірургії № 1, м. Чернівці, Україна,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6520-1143>,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2510-3834>,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7131-8863>,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9448-7945>,

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6636-6855>,

e-mail: [surgery\\_okl@bsmu.edu.ua](mailto:surgery_okl@bsmu.edu.ua)

**Резюме.** У роботі наведені результати лікування 254 хворих на перитоніт з використанням загальноклінічних, біохімічних, імуноферментних, генетичних методів. Доведена залежність між вираженістю проявів запалення, його розповсюдженням та варіантами гену IL1 $\beta$  (-511C/T), що дозволяє прогнозувати перебіг перитоніту. Показано зв'язок між вираженістю парезу кишечника при перитоніті та варіантами гену SLC6A4, який регулює серотонінергічні механізми скоротливої здатності кишечника. Досліджені процеси пероксидного окиснення, антиоксидантного захисту, необмеженого протеолізу, фібринолітичної активності у реалізації системних реакцій при перитоніті, їх індивідуальна варіабельність. З урахуванням індивідуальних особливостей механізмів запального процесу вдосконалено етапи оперативних втручань, схеми медикаментозного лікування та запропоновані методи профілактики різних ускладнень. Такий персоналізований підхід до діагностики, прогнозування перебігу гострого перитоніту, вибору лікувальної тактики, вдосконалення етапів оперативного втручання та медикаментозного впливу на провідні механізми запального процесу дав можливість значно покращити результати лікування.

**Ключові слова:** перитоніт, генетичні дослідження, прогнозування, персоналізована медицина.

**Вступ.** Висока частота ускладнення гострих хірургічних захворювань розвитком перитоніту [2, 4, 11, 13], непрогнозований характер його перебігу, низька ефективність існуючих методів лікування та профілактики ускладнень [4, 10, 11] визначають актуальність проблеми перитоніту, що потребує нових досліджень. Різномісні дослідження патогенезу перитоніту, оцінка тригерних механізмів запальних реакцій при їх трансформації із захисних у пошкоджувальні, що призводять до життєвонебезпечних порушень, дали б можливість прогнозувати індивідуальні особливості його перебігу, обґрунтувати лікувальну тактику. 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 [1, 3, 14].

**Матеріали і методи дослідження.** У дослідження були включені 254 пацієнти 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 рр.) і наказу МОЗ України № 960 від 23.09.2009р.

Вік обстежених пацієнтів коливався від 18 до 84 років і в середньому склав  $55,3 \pm 4,72$  роки. Всім хворим проведене обстеження загальноприйнятими клінічними,

лабораторними, біохімічними та інструментальними методами.

Рівень цитокинів та серотоніну у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу, 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.” (м. Львів) проводили оцінку ферментативної (ФФА), неферментативної (НФА), сумарної фібринолітичної активності (СФА) плазми крові та протеолітичної активності плазми крові (за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену).

Алелі поліморфних ділянок генів IL1 $\beta$  (-511C/T) та SERT 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 („СибЭнзим”, 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 досліджень.** Причинами гострого перитоніту у обстежених пацієнтів були: гострий деструктивний апендицит – у 91 хворого (35,83 %), деструктивний холецистит – у 51 хворого (20,07 %), перфоративна виразка шлунка чи дванадцятипалої кишки – у 62 хворих (24,42 %), кишкова непрохідність – у 31 хворого (12,20 %), гінекологічна патологія - у 19 хворих (7,48 %).

Розповсюдженість запального процесу по очеревинній порожнині визначали за класифікацією І. Ю. Полянського та ін. (2012) [12].

Місцевий перитоніт виявлено у 19 (7,48 %) пацієнтів, дифузний – у 71 (27,95 %), розлитий – у 112 (44,09 %), загальний – у 52 (20,48 %).

Нами виявлено чітку залежність між розповсюдженістю запального процесу по очеревинній порожнині та концентрацією в крові IL1 $\beta$ . У хворих з місцевим та дифузним перитонітом вона коливалась від  $181,05 \pm 0,65$  до  $188,36 \pm 3,57$  пг/мл, а у хворих на розлитий та загальний перитоніт – від  $230,43 \pm 4,81$  до  $242,12 \pm 10,355$  пг/мл ( $p < 0,01$ ). Це є доказом важливої ролі цього цитокину 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 87,32 % пацієнтів, а СТ – у 12,78 %. У пацієнтів з розлитим перитонітом сприятливий СС-варіант зустрічався тільки у 11,61 % випадків, СТ – у 65,18 % випадків, у 23,21 % пацієнтів – ТТ-варіант. При загальному перитоніті СС-варіант не виявлено у жодного з пацієнтів, у 51,92 % мав місце СТ-варіант та у 49,08 % – ТТ-варіант.

Це стало підґрунтям для розробленого [9] способу прогнозування перебігу перитоніту: при наявності у пацієнта СТ-, та, особливо, ТТ-варіанта гену IL1 $\beta$  (-511C/T) прогнозуємо розвиток розповсюдженого перитоніту. У таких хворих лікувальна тактика повинна бути спрямованою на попередження прогресування запального процесу по очеревинній порожнині та його ліквідацію шляхом більш інтенсивної санації очеревинної порожнини та локальним підведенням антицитокінових засобів.

При дослідженні патогенезу перитоніту нами виявлені прояви дисбалансу редокс-системи у бік переваги активності процесів пероксидації, які зростають по мірі розповсюдження запального процесу по очеревинній порожнині. Така ж закономірність характерна для процесів протеолізу – спостерігається зростання протеолізу за азоальбуміном (до низькомолекулярних структур), за азоказеїном (до середньомолекулярних структур). Активується фібринолітична активність в основному за рахунок неферментативного фібринолізу.

Важливою складовою патогенезу перитоніту є розвиток динамічної кишкової непрохідності. Нами виявлено, що відновлення скоротливої здатності кишечника прямо пропорційно залежить від концентрації в крові серотоніну, дія якого на рецептори носить генетично-детермінований характер. Ген SLC6A4 регулює зворотне захоплення серотоніну з синаптичної щілини у везикули пресинаптичної мембрани, звідки надлишок його попадає у кров. Відомі три варіанти генотипу SLC6A4 – SS, LS, LL. При LL-варіанті забезпечуються найвища концентрація серотоніну у везикулах та їх фізіологічна дія. При LS- та SS-варіантах зменшується зворотне захоплення серотоніну, що знижує можливість його дії на постсинаптичні рецептори.

Встановлено, що у хворих, у яких у післяопераційному періоді моторно-евакуаторна функція кишечника відновлювалась на 2-3 добу, LL-варіант генотипу спостерігався у 78,95 % випадків, а LS- та SS-варіанти зустрічались у 5,26 % та 15,79 % відповідно. Хворі тривалими ознаками парезу кишечника мали SS-генотип SLC6A4 у 72 % випадків, LS-генотип – у 20 % випадків і тільки у 8 % випадків зустрічався LL-генотип. Важливо відмітити, що концентрація серотоніну у плазмі крові хворих з LL-генотипом була  $250,74 \pm 21,14$  нг/мл, а при LS- та SS-варіантах – вірогідно нижчою ( $117,78 \pm 11,89$  та  $128,85 \pm 13,44$  нг/мл відповідно;  $p < 0,01$ ) [11]. Це стало підґрунтям для розробленого способу прогнозування виникнення порушень функціонального стану кишечника – при SS- та LS-варіантах гену SLC6A4 слід прогнозувати гіпокінетичні порушення кишечника, зумовлені низькою активністю серотоніну [8], що потребує зміни лікувальної тактики у таких хворих.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Різномісний аналіз клінічних та лабораторних проявів запального процесу свідчить про залежність між його розповсюдженням по очеревинній порожнині та вираженістю механізмів запалення, що мають генетичну детермінованість. Активність прозапальних цитокінів, яка зумовлена варіантами генотипу, визначає вираженість запально-деструктивних процесів та метаболічних порушень.

Дисбаланс редокс-системи, надмірна активація необмеженого протеолізу та фібринолізу є чинниками, що призводять до порушення функціональної активності та життєздатності різних органів і структур.

Генетичні дослідження дають змогу прогнозувати характер перебігу запальної реакції, її вираженість та виникнення різних ускладнень, у першу чергу кишкової непрохідності.

Несприятливий прогноз потребує зміни лікувальної тактики у таких пацієнтів – вона повинна носити превентивний характер, бути направленою на корекцію наявних змін та попередження прогресування запально-деструктивних змін.

Так, у осіб з генетично детермінованими порушеннями цитокінового дисбалансу ефективним є створення умов для тривалого локального підведення антицитокінових препаратів за розробленими методиками. У таких пацієнтів доцільно розширити показання до лапароскопії – запрограмованих повторних санацій очеревинної порожнини.

При прогнозуванні генетично детермінованого дефіциту серотоніну доцільно розширити показання до інтубації кишечника, використовувати локальне підведення до стінки кишки серотонінергічних препаратів за розробленими методиками.

Для підвищення ефективності санації очеревинної порожнини важливо прогнозувати небезпеку розповсюдження запалення. Зашивати операційну рану наглухо у осіб з вірогідно прогнозованим несприятливим варіантом перебігу перитоніту вкрай небезпечно, більш доцільно в таких випадках використати лікувально-діагностичну запрограмовану лапароскопію.

Такий персоналізований підхід до діагностики, прогнозування перебігу гострого перитоніту, вибору лікувальної тактики, вдосконалення оперативного втручання та обґрунтований вибір медикаментозної терапії дозволив знизити летальність до 7,48 %.

Разом з тим, очевидно, тільки планове оперативне лікування хірургічних захворювань, які можуть ускладнитись перитонітом, дасть змогу знизити частоту його виникнення та покращити результати лікування таких хворих.

#### Висновки:

1. Характер та вираженість запального процесу при перитоніті, схильність до розповсюдження, системних порушень зумовлені індивідуальними генетично детермінованими особливостями механізмів запалення.
2. Генетичні дослідження дозволяють прогнозувати перебіг перитоніту та розвиток різних ускладнень, що потребує зміни лікувальної тактики, вдосконалення етапів оперативного втручання, вибору схем медикаментозного лікування.
3. Персоналізований підхід до діагностики, прогнозування перебігу та лікувальної тактики при гострому перитоніті дозволяє значно покращити результати його лікування.

#### References:

1. Shkaruba N., Siikov A., Goreva E. Association of single nucleotide polymorphism in the TNF-a and IL-1b genes with production of proteins by mononuclear cells from healthy donors. Annual EULAR congress, London, United Kingdom 25-28 May, abstract. Ann Rheum Dis. 2011; 70(3):538.
2. Gunasekaran G. Gallbladder perforation: a single center experience of 32 cases. Korean Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery. 2015; 19(1):6-10.
3. Sista F. Systemic inflammation and immune response after laparotomy vs laparoscopy in patients with acute cholecystitis, complicated by peritonitis. World journal of gastrointestinal surgery. 2013;5(4):73-82.
4. Boiko V.V., Yvanova Yu.V. Vlyianyie tsytokynoryentirovannoi terapiyu na chastotu razvytiya hnoino-septycheskykh oslozhneniy u vyzyhuvaemost bolnykh s posleoperatsyonnym perytonytom. Khirurgiia Ukrainy. 2011;2(38). — S. 54 - 59.
5. Polianskyi I.Yu., Maksymiuk V.V., Andriiets V.V., Hrynychuk F.V., vynakhidnyky; Polianskyi I.Yu., patentovlasnyk. Sposib tymchasovoho zakryvannia operatsiinoi

rany dlia vykonannya prohranovanykh sanatsii ocherevynnoi porozhnyy pry rozpovsiudzhennykh formakh hostroho perytonitu. Patent Ukrainy №2001075281. 2002zhovt.15.

6. Polianskyi I.Yu., Hrynychuk F.V., Maksymiuk V.V., vynakhidnyky; Polianskyi I.Yu., patentovlasnyk. Sposib sanatsii ocherevynnoi porozhnyy pry rozpovsiudzhennykh formakh hostroho hniinoho perytonitu. Patent Ukrainy №51921. 2002hrud.16.

7. Polianskyi I.Yu., Moskaliuk I.I., Fediv O.I., Moskaliuk V.I., vynakhidnyky; Polianskyi I.Yu., patentovlasnyk. Sposib prohnouzuvannya vynykennia porushen funktsionalnogo stanu kyshechnyky pry poiednani patolohii. Patent Ukrainy №76483. 2013sich.10.

8. Polianskyi I.Yu., Moskaliuk I.I., Fediv O.I., Moskaliuk V.I., vynakhidnyky; Polianskyi I.Yu., patentovlasnyk. Sposib prohnouzuvannya vynykennia porushen funktsionalnogo stanu kyshechnyky pry poiednani patolohii. Patent Ukrainy №76483. 2013sich.10.

9. Polianskyi I.Yu., Moroz P.V., vynakhidnyky; Polianskyi I.Yu., patentovlasnyk. Sposib prohnouzuvannya vynykennia riznykh form perytonitu u khvorykh z hostroiu khirurhichnoiu patolohiieiu. Patent Ukrainy №93421. 2014ver. 25.

10. Kryvoruchko I.A., Antonova M.S. Khirurhichne likuvannya khvorykh na abdominalnyi sepsys z vykorystanniam sanatsiinykh relaparotomii z urakhuvanniam terminu zakryttia cherevnoi porozhnyy. Klinichna khirurhiia 2015;11(2):16-18.

11. Lyfshyts Yu.Z., Zaichenko P.A., Valetskyi V.L. Laparostomyia v sochetany s vakuum-terapeyi v kompleksnom lecheny vtorychnoho heneralizovannoho perytonyta. Khirurhiia Ukrainy. 2012;2:37 - 40.

12. Polianskyi I.Yu., Hrynychuk F.V., Andriets V.V. Klasyfikatsiia hostroho perytonitu. Klinichna anatomii ta operatyvna khirurhiia. 2012;11(2):68-70.

13. Polianskyi I.Yu., Hrynychuk F.V., Bilookyi V.V. Hostryi perytonit na suchasnomu etapi – problemy, zdobutky i perspektyvy. Klinich. anatomii ta operat. khirurhiia. 2014;13(1(47)):83-8.

14. Khaitovych M.V. Personalizovana medytsyna: suchasnyi stan ta perspektyvy. Ukrainskyi naukovo-medychnyi molodizhnyi zhurnal. 2015;2(88):6-11.

УДК 616.381-002-07-08-035

## ЛЕЧЕНИЕ ОСТРОГО ПЕРИТОНИТА: ПЕРЕХОД ОТ ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ К ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ НА ОСНОВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Полянский И.Ю., Москалюк В.И., Мороз П.В., Андриец В.В., Гринчук А.Ф.

*Буковинский государственный медицинский университет, кафедра хирургии № 1, г. Черновцы, Украина, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6520-1143>, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2510-3834>, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7131-8863>, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9448-7945>, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6636-6855>, e-mail: [surgery\\_okl@bsmu.edu.ua](mailto:surgery_okl@bsmu.edu.ua)*

**Резюме.** Высокая частота возникновения перитонита, непрогнозируемый характер его течения, низкая эффективность существующих методов лечения определяют актуальность этой проблемы. Разносторонние исследования патогенеза перитонита, оценка триггерных механизмов воспалительных реакций позволили бы прогнозировать индивидуальные особенности его течения, обосновать персонализированную лечебную тактику.

**Цель исследования:** улучшить результаты лечения пациентов на острый перитонит путем оценки индиви-

дуальных особенностей механизмов воспаления и выбора на этой основе персонализированных методов лечения.

**Материал и методы исследований.** В исследование включены 254 пациента с признаками острого перитонита, которые обследованы с использованием общеклинических, биохимических, иммуноферментных, генетических методов.

**Результаты исследования.** Установлена зависимость между выраженностью проявлений воспаления, его распространением и вариантами гена IL1 $\beta$  (511C/T), что позволяет прогнозировать течение перитонита. Показана связь между выраженностью пареза кишечника при перитоните и вариантами гена SLC6A4, регулирующего серотонинергические механизмы сократительной способности кишечника. Исследованы процессы перекисного окисления, антиоксидантной защиты, неограниченного протеолиза, фибринолитической активности в реализации системных реакций при перитоните, их индивидуальная вариабельность. С учетом индивидуальных особенностей механизмов воспалительного процесса усовершенствована этапы оперативных вмешательств, схемы медикаментозного лечения, что позволило снизить летальность до 7,48 %.

**Выводы.** Персонализированный подход к диагностике острого перитонита, выбора лечебной тактики, совершенствование этапов оперативного вмешательства и медикаментозного лечения дают возможность значительно улучшить результаты лечения таких больных.

**Ключевые слова:** перитонит, генетические исследования, прогнозирования, персонализированная медицина.

UDC 616.381-002-07-08-035

## TREATMENT OF ACUTE PERITONITIS: CHANGE FROM EVIDENCE TO PERSONALIZED MEDICINE BASED ON GENETIC ASSESSMENT

I.Yu. Polianskyi, V.I. Moskaliuk, P.V. Moroz, V.V. Andriets, A.F. Grynychuk

*Bukowyna State Medical University, Department of Surgery No. 1, Chernivtsi, Ukraine, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6520-1143>, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2510-3834>, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7131-8863>, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9448-7945>, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6636-6855>, e-mail: [surgery\\_okl@bsmu.edu.ua](mailto:surgery_okl@bsmu.edu.ua)*

**Abstract.** The treatment results of 254 patients with peritonitis are presented in the article. The leading mechanisms of inflammatory reaction in peritonitis were studied. It is shown, that the severity of inflammatory-destructive changes in the peritoneum and the spread of inflammatory process in the peritoneal cavity are directly proportional to the concentration of interleukin 1 $\beta$ , which has genetic determination.

**Aim:** To improve the treatment results of patients with acute peritonitis by assessing the individual peculiarities of the inflammation mechanisms and selecting personalized treatment methods.

**Materials and Methods.** All patients were examined with the use of general clinical, biochemical, immunoenzymatic, genetic methods. The age of the examined patients ranged from 18 to 84 years and averaged 55.3  $\pm$  4.72 years old. The level of serum cytokines and serotonin was determined by the immunoassay. The alleles of polymorphic regions of the IL1 $\beta$  (511C/T) and the SLC6A4 genes were studied by genomic DNA isolation from peripheral blood leukocytes with following polymorphic site amplification by polymerase chain reaction. The fragments

were visualized using the UV light emitter and the DNA Molecular Weight Marker of 100-1000 bp.

**Results.** The activity of interleukin 1 $\beta$  in different variants of gene IL1 $\beta$  (511C/T) is determined. It was found that the lowest concentration of interleukin 1 $\beta$  was observed in the CC variant of gene, probably higher in the CT variant and the highest in the case of the TT variant. The structure of gene variants in local (non-encapsulated), general diffuse, subtotal and total peritonitis is determined based on which the prediction method of peritonitis course is developed. In the study of peritonitis pathogenesis, the manifestations of the redox system unbalance were identified with activity changes of the peroxidation processes, which were increased directly proportional to inflammation spread in the peritoneal cavity. The same pattern is characteristic for proteolytic activity – the increase of proteolysis by means of azoalbumin (to low molecular weight structures) and azocasein (to median-molecular structures). The fibrinolytic activity is activated mainly due to nonenzymatic fibrinolysis. The analysis of the causes and mechanisms of peritonitis complicated by dynamic intestinal obstruction shows its dependence on serotonin concentration in the blood. Serotonin low activity causes the development of this complication. The relationship between the severity of intestinal paresis in peritonitis and vari-

ants of SLC6A4 gene, which regulates the serotonergic mechanisms of the intestinal contractility, is shown.

It is effective to create conditions for prolonged local supply of anticytokine drugs by developed techniques in patients with genetically determined disorders of cytokine imbalance. It is advisable for such patients to expand the indications for Open packing of abdomen (laparapertio) as preplanned following sanitation of the peritoneal cavity. It is expedient to expand the indications for intestinal intubation and use local delivery of serotonergic drugs to the intestinal wall according to the developed techniques in the case of predicted serotonin deficiency on the base of genetic determination.

**Conclusions.** Taking into account the individual features of inflammatory process mechanisms the stages of surgical interventions, the treatment schemes and the prevention methods of different complications have been improved. Such personalized approach to diagnosis, prognosis of acute peritonitis and choice of therapeutic tactics with surgical intervention improve and well-grounded selection of medical therapy allowed reducing the mortality down to 7.48%.

**Keywords:** peritonitis, genetic research, prediction, personalized medicine.

Стаття надійшла в редакцію 30.06.2018 р.