ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ имени Н.И. ПИРОГОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

04201460395 -

УСАНОВА Елена Алексеевна

Прогностическое значение изменения секреции активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови при остром деструктивном

панкреатите

14.03.3 - «Патологическая физиология»

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор, академик РАМТН Ю.В. Балякин

Москва 2014

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 6

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 13

1.1. Современные представления о патогенезе острого деструктивного панкреатита 13

1.1.1. Участие полиморфно-ядерных лейкоцитов в патогенезе острого деструктивного панкреатита 17

1.1.2. Механизмы инфицирования и микробиологический пейзаж при остром деструктивном панкреатите 20

1.2. Современные возможности прогнозирования течения острого деструктивного панкреатита 25

1.3. Механизмы регуляции кислородозависимого метаболизма полиморфно¬ядерных лейкоцитов 31

1.4. Методы исследования кислородозависимого метаболизма полиморфно¬ядерных лейкоцитов 36

1.5. Заключение по обзору литературы 41

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 42

2.1. Клиническая характеристика пациентов с острыми деструктивными панкреатитами 44

2.2. Используемые материалы 45

2.3. Методы 46

2.3.1. Метод приготовления бактериальных комплексных антигенов на целлофановом диске 46

2.3.2. Приготовление разведений бактериальных комплексных антигенов 47

2.3.3. Метод выделения полиморфно-ядерных лейкоцитов из цельной венозной крови 49

2.3.4. Метод подсчета полиморфно-ядерных лейкоцитов цельной крови в камере Горяева 50

2.3.5. Метод учета жизнеспособности полиморфно-ядерных

лейкоцитов 51

2.3.6. Определение суммарной секреции активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами методом люминол-зависимой

хемилюминесценции 51

2.3.7. Определение секреции супероксид анион радикала кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами методом люцигенин-зависимой

хемилюминесценции 53

2.3.8. Определение влияния условий инкубации in vitro на полиморфно¬ядерные лейкоциты методами люминол- и люцигенин-зависимой

хемилюминесценции 54

2.3.9. Определение праймирующего влияния комплексных бактериальных антигенов на полиморфно-ядерные лейкоциты методами люминол- и люцигенин-зависимой хемилюминесценции 55

2.3.10. Методы статистической обработки результатов 56

Глава 3. СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ и ОБСУЖДЕНИЕ 57

3.1. Изучение влияния условий инкубации in vitro на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови в норме 57

3.2. Изучение влияния условий инкубации in vitro на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови при остром деструктивном панкреатите 61

3.3. Изучение влияния бактериальных комплексных антигенов на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови в норме 65

3.3.1. Праймирующее влияние комплексного антигена Escherichia coli на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови в норме 66

3.3.2. Праймирующее влияние комплексного антигена Staphylococcus aureus на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови в норме 70

3.3.3. Праймирующее влияние комплексного антигена Klebsiella pneumoniae на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови в норме 75

3.3.4. Праймирующее влияние комплексного антигена Pseudomonas aeruginosa на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови в норме 81

3.4. Изучение влияния бактериальных комплексных антигенов на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови при остром деструктивном панкреатите 86

3.4.1. Изучение влияния комплексного антигена Escherichia coli на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови при остром деструктивном панкреатите 86

3.4.2. Изучение влияния комплексного антигена Staphylococcus aureus на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови при остром деструктивном панкреатите 92

3.4.3. Изучение влияния комплексного антигена Klebsiella pneumoniae на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови при остром деструктивном панкреатите 98

3.4.4. Изучение влияния комплексного антигена Pseudomonas aeruginosa на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови при остром деструктивном панкреатите 104

3.5. Прогностическое значение исследования изменения секреции активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови при остром деструктивном панкреатите 111

3.5.1. Динамическое исследование суммарной секреции активных форм кислорода и секреции супероксид анион радикала кислорода полиморфно¬ядерными лейкоцитами крови больных острым деструктивным

панкреатитом 111

3.5.2. Динамическое исследование праймирующего влияния бактериальных

комплексных антигенов на секрецию активных форм кислорода полиморфно-ядерными лейкоцитами крови больных острым деструктивным

панкреатитом 113

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 120

ВЫВОДЫ 125

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 126

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 127

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 129

ПРИЛОЖЕНИЕ 147

ВЫВОДЫ

 ОтработаныусловияопределениясекрецииактивныхформкислородаполиморфноядернымилейкоцитамивнормеПоказанопраймирующеевлияниеинкубациивтечениеминпри°СнасекрециюактивныхформкислородаполиморфноядернымилейкоцитамиудоноровВыявленочтовыделениеполиморфноядерныхлейкоцитовизцельнойкровиизменяетданноевлияниенасекрециюактивныхформкислородавнормесуммарнаясекрецияактивныхформкислородавыделеннымиполиморфноядернымилейкоцитамидоноровсниженанапосравнениюстаковойвцельнойкровиасекрециясниженана

 Приинфицированномтеченииострогодеструктивногопанкреатитанаблюдаетсяснижениесекрецииактивныхформкислородавтчсекрециипосравнениюспациентамиимеющимиасептическоетечениеострогодеструктивногопанкреатитасуммарнаясекрецияактивныхформкислородасниженанаасекреция“сниженана

 ПриостромдеструктивномпанкреатитевусловияхинкубациисекрецияактивныхформкислородаполиморфноядернымилейкоцитамикровисниженапосравнениюсдонорамиПриинфицированномтеченииострогодеструктивногопанкреатитаснижениесекрецииактивныхформкислородасвязаноснарушениемработывсехкислородозависимыхсистемполиморфноядерныхлейкоцитоввтчсоснижениемактивностиНАДФНоксидазы

 ИсследуемыебактериальныекомплексныеантигеныобладаютпраймирующимвлияниемнасекрециюактивныхформкислородаполиморфноядернымилейкоцитамивнормеиприасептическомтеченииострогодеструктивногопанкреатитаОднимизмеханизмовтакоговлиянияявляетсяактивацияНАДФНоксидазыполиморфноядерныхлейкоцитов

 ПриинфицированномтеченииострогодеструктивногопанкреатитавыявленоснижениесекрецииактивныхформкислородапривоздействиибактериальнымикомплекснымиантигенаминаполиморфноядерныелейкоцитыкровиЯОднимизмеханизмоввыявленногонарушенияявляетсяснижениеактивностиНАДФНоксидазы

 ПоизменениюсекрецииактивныхформкислородаполиморфноядернымилейкоцитамипривоздействиикомплексныхантигеновбактерийвпервыесуткизаболеванияможносудитьотечениипатологическогопроцессаУпациентовсИПвероятностьразвитиягнойныхпроцессоввподжелудочнойжелезесоставляетменееУпациентовсИПследуетожидатьгнойносептическихосложненийострогодеструктивногопанкреатитар