

Изменение цитокинового статуса у детей с острым аппендицитом

С.В. Минаев, В.В. Лескин, С.В. Тимофеев, Ф.В. Доронин, Ю.Н. Болотов

Ставропольская государственная медицинская академия, краевая детская клиническая больница, г. Ставрополь

Острые хирургические заболевания органов брюшной полости занимают одно из ведущих мест в детской хирургии. Благоприятный исход этих заболеваний во многом зависит не только от проведенного хирургического вмешательства, но и от правильного ведения пациентов в послеоперационном периоде. Действие целого ряда факторов приводит к развитию осложнений у больных с хирургической патологией [10, 15]. В этой связи изучение факторов, обеспечивающих восстановление гомеостаза, в том числе и иммунологического, является чрезвычайно актуальным, поскольку появляется возможность не только качественно лечения, но и прогнозирования развития послеоперационных осложнений.

В настоящее время большое внимание уделяется изучению особенностей функции Т- и В- лимфоцитов, а также цитокинам - медиаторам воспаления, участвующим в формировании и регуляции защитных реакций организма [3]. На уровне организма цитокины осуществляют связь между иммунной, нервной, эндокринной, кровяной и другими системами и служат для их вовлечения в организацию и регуляцию защитных реакций [2]. В зависимости от характера воздействия на воспалительный процесс цитокины подразделяют на две большие группы: провоспалительные (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF α , IFN γ) и противовоспалительные (IL-4, IL-10, TGF β) [12].

Цель исследования: определение цитокинового статуса у детей с острым аппендицитом и проведение его коррекции для снижения послеоперационных осложнений.

Изучение цитокинового статуса проводили у 34 больных в возрасте 10-14 лет с острым флегмонозным аппендицитом на базе хирургического отделения Детской краевой клинической

больницы г. Ставрополя. Все больные были разделены на 2 группы: основная группа (18 пациентов) и контрольная группа (16 пациентов). После проведения аппендэктомии все пациенты получали стандартную антибактериальную (гентамицин в дозе 4 мг/кг/сут с метронидазолом - 250 мг x 2 раза в сутки) и противобольную терапию. В основной группе, начиная с конца 1-х суток и на протяжении последующих 4 недель, применяли полиферментную терапию (**Вобэнзим** по 1 драже на 6 кг массы тела 3 раза в сутки). Для определения нормального уровня цитокинов определяли их содержание у 15 здоровых добровольцев в возрасте 14-19 лет (группа сравнения).

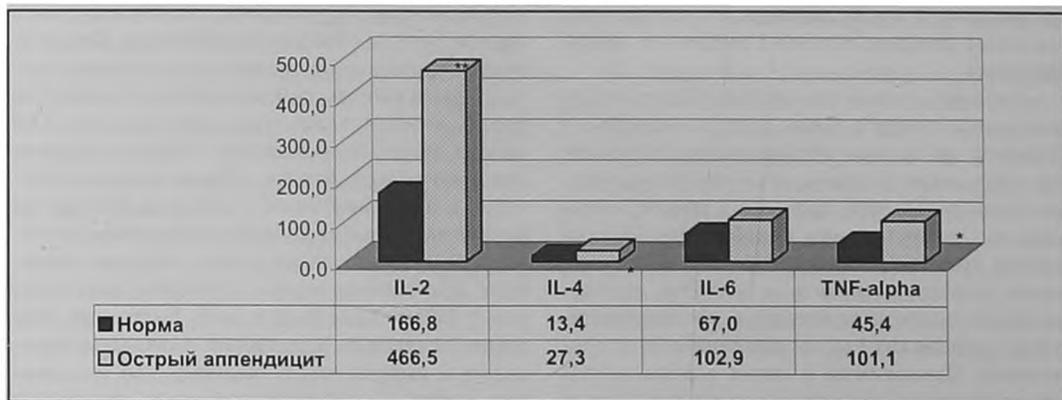
Во всех группах, у каждого пациента, осуществляли забор 5 мл венозной крови из локтевой вены на момент поступления в стационар. Кроме этого, в основной и контрольной группах производили взятие крови через 3 и 7 суток после операции. Количественное определение концентрации фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерлейкинов 2, 4 и 6 (IL-2, IL-4, IL-6) проводили с помощью иммуноферментного метода, для которого использовали наборы реагентов ООО "Протеиновый контур" (г. С-Петербург).

Препарат **Вобэнзим** (Германия) использовали в послеоперационном периоде, начиная с момента восстановления кишечной деятельности, на протяжении 4-х недель по 1 драже на 6 кг массы тела 3 раза в сутки. В состав 1 драже **Вобэнзима** входит: панкреатин 100 мг, бромелаин 45 мг, папин 60 мг, трипсин 24 мг, химотрипсин 1 мг, амилаза 10 мг, липаза 10 мг, рутозид 50 мг (Рег. уд. П №011530/01-1999 МЗ РФ).

Математическая обработка полученных результатов проводилась с использованием методов вариационной статистики. Проверку гипотез о статистической однородности двух выборок производили с помощью критериев Стьюдента и Фишера-Стьюдента.

МИНАЕВ Сергей Викторович - к.м.н., ассистент кафедры детской хирургии Ставропольской государственной медицинской академии.

Рисунок 1. Показатели цитокинового статуса у детей с острым флегмонозным аппендицитом



Примечания. * - достоверность различий показателей между группами ($p < 0,05$);

** - достоверность различий показателей между группами ($p < 0,01$).

В результате проведенного исследования нами было установлено, что в основной группе послеоперационный период ($7 \pm 0,2$ койко-дней) был достоверно короче, чем в контрольной группе - $8,6 \pm 0,4$ койко-дней ($p < 0,05$). Это было связано с более быстрым купированием воспаления как общего, так и местного в группе детей, где использовался полиферментный препарат. При этом в основной группе также раньше нормализовалась температура и купировался болевой синдром ($2 \pm 0,2$ суток и $3,4 \pm 0,4$ суток ($p < 0,05$)) после операции соответственно.

Заживление послеоперационной раны в основной группе происходило быстрее к $6,8 \pm 0,1$ суткам ($p < 0,05$) после аппендэктомии, в то время как в контрольной группе - к $7,9 \pm 0,2$. Течение раневого процесса сопровождалось отеком в области послеоперационной раны, который купировался в 1,5 раза быстрее ($p < 0,05$) в основной группе, чем в контрольной. Применение полиферментной терапии в послеоперационном периоде способствовало отсутствию гиперемии, в то время как в контрольной группе она имела место на протяжении $1,6 \pm 0,1$ суток.

Использование в комплексном послеоперационном лечении ферментной терапии позволило нам сократить длительность антибактериальной терапии в основной группе до $4,5 \pm 0,3$ суток, в то время как в контрольной группе она применялась $6,8 \pm 0,3$ суток ($p < 0,05$).

В основной группе осложнений не отмечалось. В контрольной группе отмечалось развитие поздней спаечной кишечной непроходимости у одного ребенка.

Исследование цитокинового статуса у детей с острым аппендицитом, в сравнении со здоровыми добровольцами, выявило повыше-

ние уровня провоспалительных цитокинов: IL-2 до $466,5 \pm 46,9$ пкг/мл ($p < 0,01$), ФНО- α до $101,1 \pm 17,5$ пкг/мл ($p < 0,05$), IL-6 - до $102,9 \pm 12,1$ пкг/мл (рисунок 1). Что касается противовоспалительных цитокинов, то отмечалось достоверное повышение уровня IL-4 до $27,3 \pm 4,1$ пкг/мл ($p < 0,05$).

Динамика содержания цитокинов в крови показала, что уровень IL-2 на 3-и сутки после операции в основной группе был меньше, чем в контрольной группе ($644,7 \pm 98,9$ пкг/мл и $747 \pm 80,8$ пкг/мл соответственно), и имел тенденцию к возвращению к дооперационным значениям к 7-м суткам.

Уровень IL-6 к 7-м суткам после операции в контрольной группе приближался к дооперационным значениям, а в основной достоверно был снижен ($66,9 \pm 6,4$ пкг/мл и $40,8 \pm 6,2$ пкг/мл соответственно, $p < 0,01$).

ФНО- α к 3-м суткам послеоперационного периода в контрольной группе достоверно повышался до $153,8 \pm 51,8$ пкг/мл ($p < 0,05$) по отношению как к основной группе, так и к дооперационному уровню. К 7-м суткам происходила нормализация уровня ФНО- α в основной группе, в то время как в контрольной этот показатель оставался высоким ($75,9 \pm 42,7$ пкг/мл).

Противовоспалительный цитокин IL-4 повышался в обеих группах, но уже к 7-м суткам после операции в основной группе отмечалось достоверное его повышение до $75,7 \pm 11,4$ пкг/мл ($p < 0,05$), как при сравнении его с контрольной группой, так и по отношению к дооперационному уровню.

У одного больного из контрольной группы в раннем послеоперационном периоде (на 3-и сутки после операции) отмечалось резкое повышение уровня провоспалительных цитоки-

нов (IL-2 до 609 пкг/мл и ФНО- α до 927 пкг/мл) с отсутствием противовоспалительного цитокина IL-4. У этого пациента в последующем развилась поздняя спаечная кишечная непроходимость.

Динамическое исследование состояния цитокинового статуса позволяет определить у пациента не только концентрацию медиаторов воспаления в крови, но и характер течения воспалительного процесса в целом (в сторону его усиления или ослабления). Резкий подъем уровня провоспалительных цитокинов может свидетельствовать о развитии гнойно-воспалительного осложнения в послеоперационном периоде (на стадии доклинических проявлений). Проводимые в связи с этим лечебные мероприятия направлены на коррекцию как местных (со стороны оперативного вмешательства), так и общих проявлений воспалительного процесса.

Низкий уровень противовоспалительных цитокинов в крови и снижение линии их тренда ниже оптимального уровня являются показателем недостаточности иммунного ответа на хирургическое вмешательство, а также маркером нарушения репаративных процессов у пациента. Подобные проявления свидетельствуют о затяжном течении (хронизации) воспалительного процесса. Особую актуальность приобретает данный показатель у больных со спаечным процессом брюшной полости. Для профилактики и лечения адгезивного процесса в брюшной полости патогенетически обоснованным является применение препаратов, направленных на коррекцию недостаточности противовоспалительных цитокинов.

Применение в послеоперационном периоде **Вобэнзима** позволило нормализовать цитокиновый статус больных с острой хирургической патологией за счет снижения уровня провоспалительных (IL-2, IL-6, ФНО- α) и повышения уровня противовоспалительных (IL-4) цитокинов. Использование в лечебном процессе **Вобэнзима** позволило сократить длительность госпитализации больных с острым аппендицитом.

Большинство используемых препаратов в лечении послеоперационных ран, в основном, применяются в виде местного способа лечения. Принципиально новым подходом в лечении и модуляции раневого процесса представляют собой препараты СЭТ. Введенные внутрь комбинированные энзимы частично всасываются в кровь и проявляют системное действие на организм [6]. При этом полиферментные препараты воздействуют на рану дистанционно и оказывают противовоспалительное, противоотечное и иммуномодулирующее действие [5].

В процессе течения воспалительной реакции организма и имеющего место повреждения тканей и сосудов, происходит агрегация тромбоцитов и образование фибрина. Под действием тромбоцитов происходит активация каскада факторов свертывания крови. Образуется тромб и останавливается кровотечение. При этом в месте повреждения образуется комплекс матричных белков, образованный коллагеном и фибронектином, к которым мигрируют фибробласты с иммунокомпетентными клетками [7, 8]. Иммуноциты, в свою очередь, выделяют провоспалительные цитокины (интерферон γ , TNF α , IL-1, IL-2 и IL-6). Благодаря действию последних происходит активация эндотелия и иммуноцитов, находящихся в кровяном русле. В поврежденную ткань проникают нейтрофилы и макрофаги, которые в начальной стадии ответственны за фагоцитоз микроорганизмов, высвобождение цитокинов и лизосомальных ферментов [9, 11]. На этой стадии происходит высвобождение таких ростовых факторов, как TGF β и PDGF. Эти факторы ответственны за образование матричных белков и миграцию фибробластов к месту повреждения, определяя тем самым формирование грануляционной ткани. В зависимости от размеров образованного комплекса матричных белков и величины миграции фибробластов к месту повреждения зависит степень выраженности фиброзных изменений в месте повреждения.

На образующийся экстрацеллюлярный матрикс, кроме ростовых факторов и протеиназ, оказывают воздействие адгезивные молекулы [13, 14]. Последние связывают иммунные и эндотелиальные клетки с матричными белками, а также обеспечивают контакт между клетками, стимулируют их к синтезу и освобождению факторов роста. Благодаря этому происходит дальнейшее образование матричных белков [7].

Входящие в состав **Вобэнзима** бромелаин, трипсин, химотрипсин и папаин, являются регулирующими ферментами в организации раневого матрикса, в том числе и в образовании комплекса матричных белков. Регуляция этого процесса возможна за счет подавления излишнего синтеза факторов роста, в том числе и TGF β [10]. При этом количество синтезируемых внеклеточных матричных белков в месте повреждения брюшины становится достаточным только для протекания физиологического заживления. Происходит восстановление равновесия между факторами роста и эндогенными ферментами. Кроме этого, происходит миграция фибробластов, использующие фибриновую сеть как матрицу для строительства коллагена. Если в ране присутствуют гематомы, некро-

тические ткани, инородные тела и бактерии, то миграция фибробластов задерживается [1]. Комплексное воздействие протеиназ препарата **Вобэнзим** способствует ускорению очищения раны, а также препятствует развитию излишней фиброзной (рубцовой) ткани. Соотношение между образованием и рассасыванием рубцовой ткани - чрезвычайно важный феномен, который определяется равновесием между факторами роста.

Клиническая эффективность полиферментных препаратов у больных в послеоперационном периоде связана также не только со снижением концентрации цитокинов в крови, но и с блокированием реализации их провоспалительного действия на уровне клеток-мишеней. Возможно, что элиминация цитокиновых рецепторов является регуляторным механизмом, противодействующим реализации провоспалительных эффектов цитокинов [4]. Установленное воздействие протеолитических ферментов на цитокиновый профиль можно рассматривать

как возможный фактор супрессии воспалительного компонента у больных с острыми хирургическими заболеваниями органов брюшной полости.

На основании полученных в нашем исследовании данных, оперативное вмешательство, необходимо рассматривать как местный воспалительный процесс, который регулируется иммунорегуляторной системой. Высвобождение клеточных медиаторов и детрита в связи с операционной травмой вызывает общую реакцию иммунной системы. Исследование уровня цитокинов в крови дает возможность целенаправленного проведения лечебно-профилактических мероприятий в послеоперационном периоде.

Использование в послеоперационном периоде полиферментного препарата **Вобэнзим** позволило быстро нормализовать показатели цитокинового статуса у больных с острым аппендицитом. Благодаря этому предотвращалось развитие осложнений после аппендэктомии.

Литература

1. Абаев Ю.К. Раневые процессы у новорожденно-го. // Детская хирургия. - 2004. - №3. - С.43-45.
2. Бельмер С.В., Симбирцев А.С., Головенко О.В. и др. Значение цитокинов в патогенезе воспалительных заболеваний толстой кишки у детей / / РМЖ. - 2003. - Т.11. - № 3 - С. 17-22.
3. Веремеенко К.Н., Коваленко В.Н. Системная энзимотерапия. Теоретические основы, опыт клинического применения. - Киев: "Морион", 2000. - 320с.
4. Мазуров В.И., Лиля А.М., Столов С.В., Кнорринг Г.Ю. Опыт применения системной энзимотерапии при некоторых заболеваниях внутренних органов. // Цитокины и воспаление. - 2002. - Т.1. - №3. - С. 31-37.
5. Минаев С.В. Клинико-экспериментальная оценка динамики заживления ран в детской хирургии. // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. - 2003. -Т.162. -№4. -С. 57-63.
6. Системная энзимотерапия. Современные подходы и перспективы. / Под ред. Мазурова В.И., Лиля А.М. - СПб - 1999. - 224 с.
7. Chegini N., Rong H., Bennett B. et al. Peritoneal fluid cytokine and eicosanoid levels and their relation to the incidence of peritoneal adhesion / / J Soc Gynecol Investig. - 1999. - May-Jun, 6(3). - P. 153-157.
8. Desser L., Rehberger A., Kokron E. et al. Cytokine synthesis in human peripheral blood mononuclear cells after oral administration of polyenzyme preparations // Oncology. - 1993. - Vol. 50, №5. - P. 403-407.
9. Diegelmann R.F., Evans M.C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. / / Front. Biosci. - 2004.- 9, №1. - P. 283-289.
10. Gardner M.L.G., Steffens K.-J. Absorption of orally administered enzymes. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1995, 83 p.
11. Kohyama T., Liu X., Wen F.Q. et al. IL-4 and IL-13 induce chemotaxis of human foreskin fibroblasts, but not human fetal lung fibroblasts. // Inflammation. - 2004. - Vol. 28, №1. - P. 33-37.
12. Lauer D., Muller R., Cott C. et al. Modulation of growth factor binding properties of α_2 -macroglobulin by enzyme therapy. // Cancer Chem. Pharm. 2001; 46: 124 - 130.
13. Muzio M., Bosisio D., Polentarutti N. et al. Differential expression and regulation of toll-like receptors (TLR) in human leukocytes: selective expression of TLR3 in dendritic cells. // J Immunol. - 2000. - Vol. 164. - P. 5998-6004.
14. Stauder H. Evidence that TGF- α should be a therapeutic target in diabetic nephropathy. // Kidney Internat. - 1998. - Vol. 54. - P. 1390-1391.
15. Williams J.E. Use of ELISA to reveal rodent infections in plague surveillance and control programmes // Bull. World Health Organ - 1990. - Vol. 68, N 3. - P. 341-345.