В.А. КОСИНЕЦ

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 НА СТРУКТУРНОЕ СОСТОЯНИЕ ТОНКОЙ КИШКИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РАСПРОСТРАНЕННОМ ГНОЙНОМ ПЕРИТОНИТЕ

УО «Витебский государственный медицинский университет»,

Республика Беларусь

Цель. Изучить в эксперименте влияние рекомбинантного интерлейкина-2 на структурные изменения в стенке тонкой кишки при распространенном гнойном перитоните.

Материал и методы. Эксперимент выполнен на 40 кроликах-самцах породы шиншилла, которые были разделены на группы: интактные (n=5); 6-ти часовой перитонит без хирургического лечения (n=5); контрольная (n=15) – хирургическое лечение перитонита; основная (n=15) хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде препарата рекомбинантного интерлейкина-2 – «Ронколейкин». Животным основной группы в послеоперационном периоде в течение 5-ти суток ежедневно два раза в сутки внутривенно капельно вводили препарат «Ронколейкин» из расчета 10 000 МЕ/кг. Морфологические изменения тонкой кишки изучали с помощью световой микроскопии.

Результаты. Выявлены выраженные воспалительно-деструктивные изменения в стенке тонкой кишки уже через 6 часов после инициации перитонита. Нарушение лимфо- и кровообращения, деструкция ворсин слизистой оболочки, дистрофические и некротические изменения в мышечной оболочке указывали на ранние сроки развития энтеральной недостаточности при перитоните. В послеоперационном периоде после лапаротомии, санации брюшной полости и декомпрессии тонкой кишки морфологическая картина нарушений структуры оболочек тонкой кишки не имела четкой тенденции к улучшению.

Заключение. Развитие экспериментального распространенного гнойного перитонита сопровождается выраженными ранними изменениями структуры стенки тонкой кишки, которые могут способствовать нарушению колонизационной резистентности, являться причиной пареза кишечника и его трансформации в резервуар инфекции.

Традиционное лечение перитонита не позволяет в полной мере остановить каскад патологических воспалительных изменений в тонкой кишке, которые продолжают нарастать в послеоперационном периоде.

Внутривенное введение препарата интерлейкина-2 «Ронколейкин» при перитоните оказывает непосредственное влияние на течение воспалительного процесса в тонкой кишке и предотвращает развитие деструктивных процессов в ее тканях. Полученные данные позволяют учитывать это свойство при назначении препарата в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита.

Ключевые слова: распространенный гнойный перитонит, тонкая кишка, структурные изменения, воспаление, иммунная система, интерлейкин-2, ронколейкин

Objectives. To study the effects of recombinant interleukin-2 on structural changes in the small intestine wall in experimental generalized purulent peritonitis.

Methods. The experiment was carried out on 40 male rabbits divided into the following groups: intact (n=5); 6-hour peritonitis without surgical treatment (n=5); control (n=15) – surgical treatment of peritonitis; main (n=15) – surgical treatment of peritonitis with the use of the recombinant interleukin-2 – roncoleukin for postoperative peritonitis. In the postoperative period the main group of animals intravenously injected roncoleukin in a dose of 10 000 IU/kg twice daily within 5-days. Tissue samples of the small intestine were morphologically examined by light microscopy.

Results. The expressed inflammatory and destructive changes in the small intestine wall in 6 hours after induction of peritonitis have been revealed. Disturbances of blood and lymph circulation, destruction of villi of mucous coat, dystrophic and necrotic changes in muscular coat testified to the early terms of enteral insufficiency development in generalized purulent peritonitis. In the postoperative period after laparotomy, sanitation of the abdominal cavity and decompression of the small intestine the morphological picture of pathological disturbances of the structure of the small intestine coats had no accurate tendency to improvement.

Conclusion. Development of experimental generalized purulent peritonitis is accompanied by the expressed early changes of the structure of the small intestine wall leading to the colonization resistance disturbance caused the intestinal paresis and its transformation to the infection reservoir.

Traditional surgery doesn't stop the progressing of the pathological process in the small intestine continuing to expand in the postoperative period.

In case of peritonitis intravenous administration of recombinant interleukin-2 has direct effects on the inflammatory process course in the small intestine and prevents the development of destructive processes in its tissues. The data obtained allow considering this property when administering the drug in treatment of generalized purulent peritonitis.

Keywords: generalized purulent peritonitis, small intestine, structural changes, inflammation, immune system, interleukin-2, roncoleukin

Novosti Khirurgii. 2014 Nov-Dec; Vol 22 (6): 643-648
The effects of interleukin-2 on the small intestine structural state in experimental generalized purulent peritonitis
V.A. Kosinets

Введение

Лечение распространенного гнойного перитонита по-прежнему является одной из важнейших проблем абдоминальной хирургии. Летальность при данном заболевании остается стабильно высокой, варьирует в широком диапазоне и не имеет четкой тенденции к снижению [1, 2].

Перитонит характеризуется выраженными негативными изменениями иммунного гомеостаза, которые усугубляются операционной травмой и наркозом, оказывающими мощное депрессивное воздействие на иммунитет [3, 4]. Важное значение в развитии полиорганной дисфункции отводится синдрому энтеральной недостаточности. Нарушение двигательной функции кишечника приводит к утрате колонизационной резистентности, транслокации микроорганизмов, их токсинов в брюшную полость и системный кровоток, что является причиной эндогенной интоксикации, сепсиса [5]. Статус иммунной системы во многом определяет исход заболевания, при этом выведение пациента из критического состояния с ликвидацией инфекционного агента в организме напрямую коррелирует с нормализацией иммунной функции [3, 6, 7, 8, 9].

Известно, что в активации и пролиферации целого ряда иммунокомпетентных клеток: Т- и В-лимфоцитов, NK-клеток, а также моноцитов участвует интерлейкин-2 [10, 11, 12, 13, 14]. При воспалении данный цитокин может одновременно проявлять противоположные функции, запуская процессы пролиферации Т-клеток, дифференциации Т-хелперов и Th2 эффекторов, оказывая влияние на жизнеспособность и память иммунных клеток [15]. Регуляторная роль интерлейкина-2 также проявляется в активации Fas-индуцированного апоптоза клеток, торможении дифференцировки провоспалительных Th17 клеток [16]. Воздействие интерлейкина-2 на моноциты усиливает свободнорадикальные процессы, активирует перекисное окисление липидов, стимулирует продукцию биологически активных веществ и медиаторов воспаления: свободных радикалов, перекиси водорода, простагландина E_2, тромбоксана B_2, ИНФ-γ и ФНОβ [12, 13, 14].

Таким образом, интерлейкин-2 обладает как про-, так и противовоспалительным действием, принимая участие в формировании адекватной иммунореактивности [10, 12, 13]. Кроме того, интерлейкин-2 и его рекомбинантные препараты способны оказывать позитивное воздействие на процессы регенерации и репарации тканей [17].

Сохранение барьерной функции стенки тонкой кишки как основного препятствия для транслокации патогенной микрофлоры в брюшную полость и кровоток является крайне важным при рапространенном гнойном перитоните. В этой связи представляет интерес изучение влияния экзогенного интерлейкина-2 на структурную целостность кишечника при перитоните.

Цель исследования. Изучить в эксперименте влияние рекомбинантного интерлейкина-2 на структурные изменения в стенке тонкой кишки при распространенном гнойном перитоните.

Материал и методы

Эксперимент выполнен на 40 кроликах-самцах породы шиншилла, массой 2600-3000 г. в Научно-исследовательской лаборатории УО «Витебский государственный университет». Исследования проведены с соблюдением принципов, изложенных в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Животные были разделены на следующие группы: I – интактные (n=5); II – 6-ти часовой распространенный гнойный перитонит без хирургического лечения (n=5); III – контрольная, хирургическое лечение перитонита (n=15); IV – хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде препарата рекомбинантного интерлейкина-2 – «Ронколейкин» (n=15).

Перитонит моделировали путем интраабдоминального введения аэробно-анаэробной взвеси E.coli (штамм 0111 K58 НИ С 130-53) и B. fragilis (штамм 323) из расчета 6 млрд. микробных тел на 1 кг массы кролика. Через 6 часов после введения микроорганизмов в основной и контрольной группах животных с целью лечения перитонита и устранения энтеральной недостаточности выполняли лапаротомию, санацию брюшной полости, декомпрессию тонкой кишки. Животным основной группы в послеоперационном периоде в течение 5-ти суток ежедневно два раза в сутки внутривенно капельно вводили препарат «Ронколейкин» из расчета 10 000 МЕ/кг.

Животных выводили из эксперимента (ле-

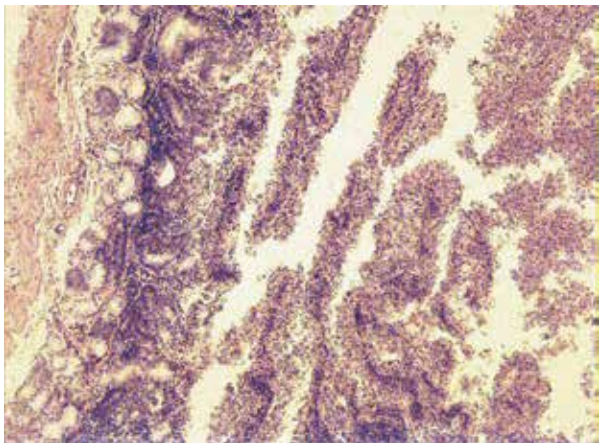


Рис. 1. Морфологическая картина стенки тонкой кишки животных при 6-ти часовом перитоните. Окраска гематоксилином и эозином Ув. ×100.

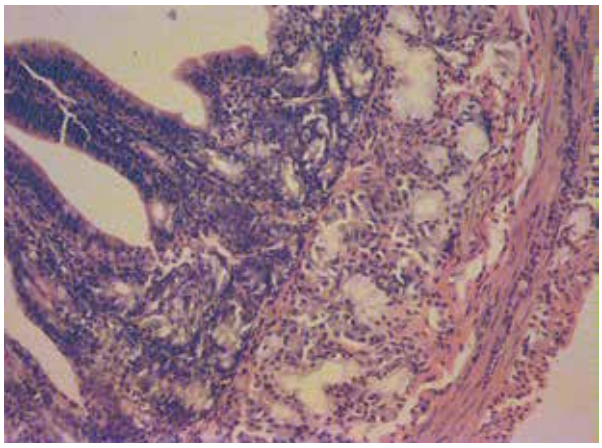


Рис. 2. Морфологическая картина стенки тонкой кишки животных контрольной группы на 1-е сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином Ув. ×100.

тальная доза нембутала) через 6 часов после моделирования перитонита, на 1-е, 3-и и 5-е сутки после операции. Материалом для морфологического исследования служили участки тонкой кишки. Для световой микроскопии материал фиксировали в 10%-ом растворе нейтрального формалина. После стандартной проводки готовили парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилином-эозином и по методу Ван-Гизон. Оценка морфологических изменений проводилась на световом оптическом уровне при увеличении ×100 и ×200.

Результаты

Установлено, что через 6 часов после введения в брюшную полость аэробно-анаэробной взвеси микроорганизмов наблюдались выраженные негативные изменения в стенке тонкой кишки, где отмечалось резкое расстройство лимфо- и кровообращения, полнокровие сосудов и отек, которые сочетались с появлением экссудативного гнойного воспаления во всех оболочках и брыжейке, а также выраженных дистрофических и некротических (с тотальным некрозом ворсин) изменений (рис. 1).

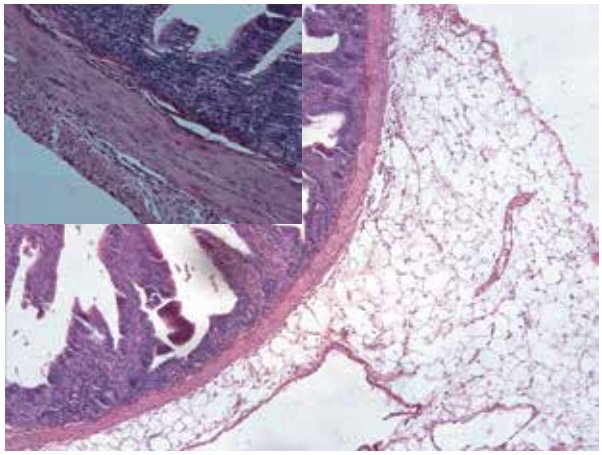
На 1-е сутки послеоперационного периода в контрольной группе отмечался рост выраженности морфологических изменений: наблюдалась диффузная полиморфно-клеточная, с преобладанием нейтрофилов, инфильтрация всех оболочек, разрушение значительной части ворсин, диффузная гиперемия сосудов, очаговые диапедезные кровоизлияния (рис. 2). В эпителии сохранившихся ворсин отмечались дистрофические, вплоть до гидропической дистрофии, изменения. В мышечной оболочке обращали на себя внимание явления цитолиза нейронов ганглиев межмышечного нервного сплетения. В брыжейке кишки отмечалось нарастание явлений экссудативного гнойного воспаления.

На 1-е сутки после операции в основной группе воспалительная инфильтрация с преобладанием нейтрофилов, сопровождаясь гиперемией, затрагивала все оболочки тонкой кишки, в том числе и ворсины слизистой.

В межмышечном нервном сплетении определялись явления кариопикноза в нейроцитах ганглиев и хроматолиз вещества Ниссля (рис. 3).

На 3-и сутки полеоперационного периода во всех оболочках тонкой кишки животных контрольной группы отмечались умеренно выраженные изменения сосудов и диффузная умеренно выраженная полиморфно-клеточная воспалительная инфильтрация, причем по направлению от проксимальных к дистальным

Рис. 3. Морфологическая картина стенки тонкой кишки животных основной группы на 1-е сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином Ув. ×200.



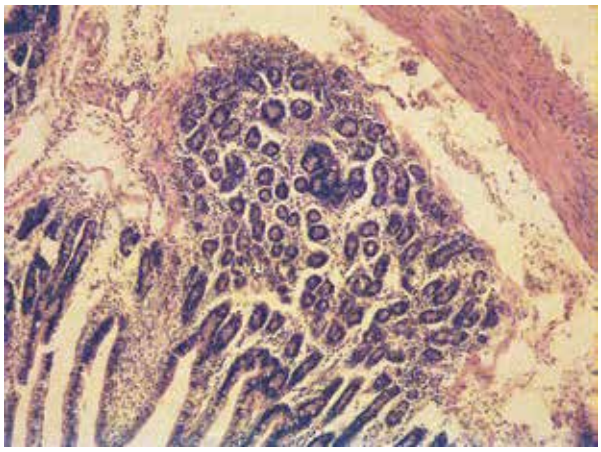


Рис. 4. Морфологическая картина стенки тонкой кишки животных контрольной группы на 3-и сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином Ув. ×100.

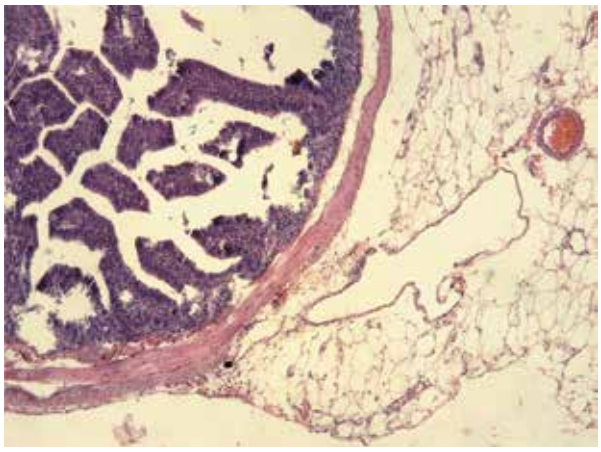


Рис. 5. Морфологическая картина стенки тонкой кишки животных основной группы на 3-и сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином Ув. ×200.

отделам кишки состав инфильтрата менялся от преимущественно лимфо-макрофагального до нейтрофильно-клеточного. В дистальных отделах тонкой кишки наблюдалась также реактивная гиперплазия лимфоидной ткани фолликулов.

В брыжейке в воспалительном инфильтрате преобладали нейтрофилы. В слизистой, мышечной оболочках и элементах нервного сплетения сохранялись дистрофические и частично некробиотические изменения. В мышечной оболочке на фоне отека и диффузной воспалительной инфильтрации определялось набухание миоцитов (рис. 4).

На 3-и сутки послеоперационного периода в основной группе в брыжейке тонкой кишки полнокровие сосудов сочеталось с диффузной от слабой до умеренно выраженной полиморфноклеточной, с большим количеством нейтрофилов, воспалительной инфильтрацией, появлением микроабсцессов (главным образом под мезотелием). В оболочках воспалительный инфильтрат отличался диффузностью распространения и преобладанием клеток лимфоцитарного ряда (рис. 5).

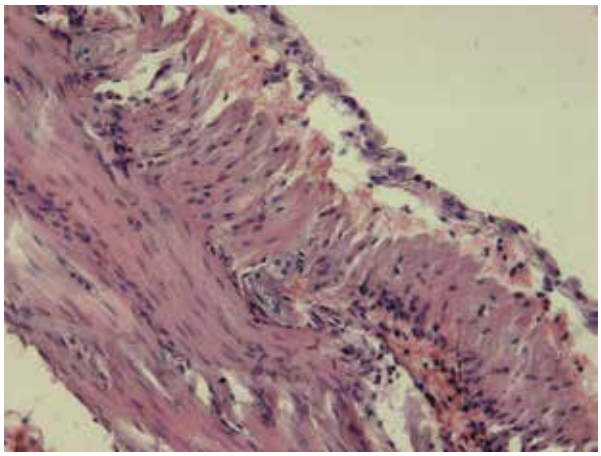
Слизистая оболочка была сохранена, с явлениями гиперплазии лимфоидной ткани на всем протяжении, очаговыми дистрофическими изменениями эпителия желез, полнокровием ворсин. Лишь в отдельных из них определялись некротические изменения апикальной части.

На фоне неравномерного отека подслизистой и мышечной оболочек отмечалось некоторое истончение последней (в большей степени наружного слоя). При этом ганглии межмышечного сплетения выглядели несколько отекшими, с дистрофическими изменениями части клеток (рис. 6).

Участки с воспалительной нейтрофильно-макрофагальной инфильтрацией серозной оболочки, преимущественно брыжеечного края, набуханием мезотелия сочетались с появлением участков ее утолщения за счет фиброзирования.

На 5-е сутки послеоперационного периода характер изменений в тонкой кишке животных контрольной группы был прежним и характеризовался преобладанием процессов альтерации и экссудации. При этом, как и в предыдущие сроки, характер воспалительной инфильтрации в проксимальных и дистальных отделах отличался преобладанием лимфо- макрофагальных элементов в проксимальных и нейтрофилов в дистальных, с образованием единичных абсцессов в подслизистой оболочке. Венозные сосуды всех оболочек были расширены, отек выражен неравномерно: в значительной степени в подслизистой и преимущественно очаговый и слабый в слизистой

Рис. 6. Морфологическая картина стенки тонкой кишки животных основной группы на 3-и сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×200.



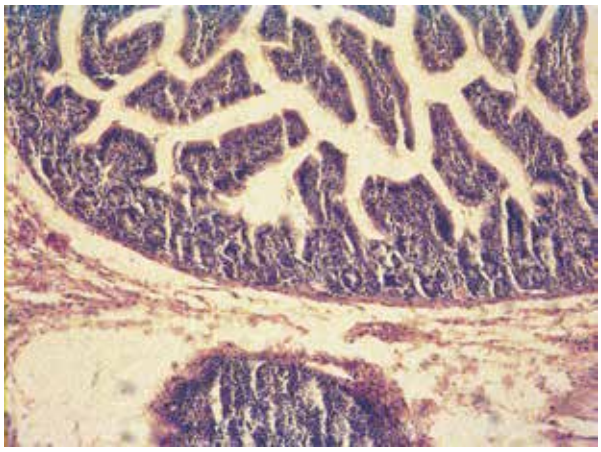


Рис. 7. Морфологическая картина стенки тонкой кишки животных контрольной группы на 5-е сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином Ув. ×100.

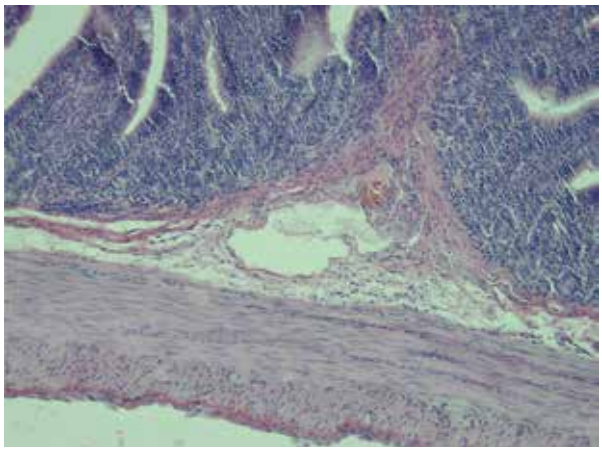


Рис. 8. Морфологическая картина стенки тонкой кишки животных основной группы на 5-е сутки после операции. Окраска гематоксилином и эозином Ув. ×200.

(рис. 7). В ворсинах отмечалась очаговая десквамация эпителия, а также дистрофические изменения части эпителиальных клеток. Мышечная оболочка имела неодинаковую толщину: утолщена со стороны брыжеечного края, истончена – на противоположном, с резкими изменениями ганглиев межмышечного сплетения, вплоть до гибели ганглиоцитов.

В тонкой кишке животных основной группы на 5-е сутки послеоперационного периода отмечалась диффузная, ближе к умеренно выраженной, воспалительная инфильтрация всех оболочек с преобладанием клеток лимфоцитарного ряда. Серозная оболочка выглядела утолщенной за счет фиброзирования и набухания мезотелиоцитов, но эти изменения были более выражены со стороны брыжеечного края. В мышечной оболочке клеточность наружного слоя была повышена за счет лимфогистиоцитарной инфильтрации. Здесь же определялся очаговый периваскулярный фиброз (рис. 8).

Обсуждение

Как показали проведенные исследования, уже на ранних стадиях развития распространенного гнойного перитонита наблюдаются выраженные негативные изменения структуры тонкой кишки, при этом патологический процесс затрагивает все оболочки ее стенки. Нарушение крово- и лимфообращения, экссудативное гнойное воспаление, повреждение ворсин слизистой оболочки создают условия для транслокации микрофлоры кишечника в системный кровоток, а дистрофические и некротические изменения в мышечной оболочке являются предпосылкой к нарушению перистальтики тонкой кишки и ее превращению в резервуар инфекции.

В этой связи снижение уровня воспалительного процесса в кишечнике, восстановление барьерной функции его стенки, препятствие запуску системных патологических изменений в организме имеют принципиально важное значение при лечении распространенного гнойного перитонита. При этом не вызывает сомнений необходимость раннего начала мероприятий, направленных на поддержку и коррекцию функции иммунной системы.

Проведенное исследование показало, что внутривенное введение рекомбинантного интерлейкина-2 «Ронколейкин» в послеоперационном периоде при перитоните оказывает положительное влияние на структуру стенки тонкой кишки, которое, возможно, связано с его способностью влиять на баланс про- и противовоспалительных факторов системы иммунитета.

Применение рекомбинантного интерлейкина-2 в послеоперационном периоде при экспериментальном распространенном гнойном перитоните способствовало снижению воспалительной реакции в кишке, о чем свидетельствовало смещение пула нейтрофилов в сторону клеток лимфоцитарного ряда. Положительным фактором воздействия данного цитокина также являлась сохранность мышечной оболочки тонкой кишки на всем протяжении, что, возможно, позволяло предотвратить развитие глубокого пареза кишечника.

Заключение

Развитие экспериментального распространенного гнойного перитонита сопровождается выраженными ранними изменениями структуры стенки тонкой кишки, которые могут способствовать нарушению колонизационной

резистентности, являться причиной пареза кишечника и его трансформации в резервуар инфекции.

Своевременно начатое хирургическое лечение распространенного гнойного перитонита (лапаротомия, санация брюшной полости, декомпрессия кишечника) не позволяет в полной мере остановить каскад патологических воспалительных изменений в тонкой кишке, которые продолжают нарастать в послеоперационном периоде.

Внутривенное введение препарата рекомбинантного интерлейкина-2 «Ронколейкин» при распространенном гнойном перитоните оказывает непосредственное влияние на течение воспалительного процесса в тонкой кишке и предотвращает развитие деструктивных процессов в ее тканях. Полученные данные позволяют учитывать это свойство при назначении препарата в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита.

Конфликт интересов отсутствует

ЛИТЕРАТУРА

1. Гостищев В. К. Перитонит / В. К. Гостищев, В. П. Сажин, А. Л. Авдовенко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2002. – 238 с.
2. Савельев В. С. Перитонит : практ. рук. / В. С. Савельев, Б. Р. Гельфанд, М. И. Филимонов. М: Литтера, 2006. – 208 с.
3. Гришина Т. И. Клиническое значение нарушения иммунитета при хирургических вмешательствах / Т. И. Гришина // Андрология и генит. хирургия. – 2000. – № 2. – С. 35–38.
4. Ефименко Н. А. Иммунопатогенез и концепция современной иммунотерапии перитонита у пострадавших с тяжлой сочетанной травмой живота / Н. А. Ефименко, В. Е. Розанов, А. И. Болотников. – М. : АВТОГРАФ, 2008. – 302 с.
5. Husebye E. The pathogenesis of gastrointestinal bacterial overgrowth / E. Husebye // Chemotherapy. – 2005. – Vol. 51. – Suppl. 1. – P. 1–22.
6. Cytokine profiles as markers of disease severity in sepsis: a multiplex analysis / F. A. Bozza [et al.] // Crit Care. – 2007. – Vol. 11, N 2. – P. R49.
7. Cytokines and signaling molecules predict clinical outcomes in sepsis / C. D. Fjell [et al.] // PLoS ONE. – 2013 Nov 14. – Vol. 8, N 11. – P. e79207.
8. Plasma cytokine measurements augment prognostic scores as indicators of outcome in patients with severe sepsis / A. Oberholzer [et al.] // Shock. – 2005 Jun. – Vol. 23. – P. 488–93.
9. Wilson P. G. Acute pancreatitis as a model of sepsis / P. G. Wilson, M. Manji, J. P. Neoptolemos // J Antimicrob Chemother. – 1998 Jan. – Vol. 41. – Suppl. A. – P. 51–63.
10. Бубнова Н. А. Обобщенный опыт применения Ронколейкина (рекомбинантного интерлейкина-2) в лечении хирургических заболеваний : пособие для врачей / Н. А. Бубнова, В. Н. Егорова. – СПб. : Альтер Эго, 2010. – 80 с.
11. Егорова В. Н. Ронколейкин. Опыт применения в хирургии и реаниматологии / В. Н. Егорова, А. М. Попович. – СПб. : Альтернатив. полиграфия, 2004. – 48 с.
12. Козлов В. К. Дисфункция иммунной системы в патогенезе сепсиса: возможности диагностики / В. К. Козлов // Цитокины и воспаление. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 15–29.
13. Козлов В. К. Иммунопатогенез и цитокинотерапия хирургического сепсиса / В. К. Козлов // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. – 2002. – Т. 2, № 8. – С. 12–22.
14. Козлов В. К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии / В. К. Козлов. – СПб. : Диалект, 2006. – 304 с.
15. Kosmaczewska A. Low-dose Interleukin-2 therapy: a driver of an imbalance between immune tolerance and autoimmunity / A. Kosmaczewska // Int J Mol Sci. – 2014 Oct 15. – Vol. 15, N 10. – P. 18574–592.
16. Interleukin-2 in the development and control of inflammatory disease / K. K. Hoyer [et al.] // Immunol Rev. – 2008 Dec. – Vol. 226. – P. 19–28.
17. Pretreatment with recombinant human interleukin 2 (rhIL-2) Up-regulates PCNA-positive cells after partial hepatectomy in rat liver / J. Miae [et al.] // Biotechnol Bioproc E. – 2014 Feb. – Vol. 19. – Is. 1. – P. 43–51.

Адрес для корреспонденции

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр-т Фрунзе, д. 27,
УО «Витебский государственный
медицинский университет»,
кафедра госпитальной хирургии
с курсами урологии и детской хирургии,
тел. моб.: + 375 29 624-20-76,
e-mail: vkosinets@yandex.ru,
Косинец Владимир Александрович

Сведения об авторах

Косинец В.А., д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии с курсами урологии и детской хирургии УО «Витебский государственный медицинский университет».

Поступила 5.09.2014 г.